

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTOSAN ESASLI YENİLEBİLİR FİLMLE KAPLANMIŞ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) FİLETOLARININ
RAF ÖMRÜ VE KALİTESİ ÜZERİNE YÜKSEK HİDROSTATİK
BASINÇ İŞLEMİNİN ETKİSİ**

Sinem SİPAHİOĞLU

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Ali GÜNLÜ**

**II. Danışman
Prof. Dr. Hami ALPAS**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2013**

© 2013 [Sinem SİPAHİOĞLU]

TEZ ONAYI

Sinem SİPAHİOĞLU tarafından hazırlanan" Kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplanmış gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss walbaum*) filetolarının raf ömrü ve kalitesi üzerine yüksek hidrostatik basınç işleminin etkisi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Ali GÜNLÜ
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Abdullah Diler
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr.Şengül Bilgin
Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Mehmet Cengiz KAYACAN

.....

.....

.....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Sinem SİPAHİOĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Yenilebilir Film Teknolojisi	4
2.2. Yüksek Hidrostatik Basınç İşlemi.....	10
2.3. Ölüm Sonrası Balık Proteinlerde Oluşan Değişimler.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Balık Örneklerinin Hazırlanması.....	24
3.2. Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması	24
3.3. Örneklerin Kaplanması	26
3.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanması.....	27
3.5. Örneklerin Depolanması.....	28
3.6. Deneme Planı	28
3.7. Akış Şeması	29
3.8. Kalite Kontrol Analizleri.....	30
3.8.1. Nem analizi.....	30
3.8.2. pH analizi.....	30
3.8.3. Mikrobiyolojik analizler.....	30
3.8.4. Thiobarbitürik asit indeks (TBA-i) değerinin belirlenmesi.....	31
3.8.5. Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) değeri.....	31
3.8.6. Kas Proteinlerindeki değişimlerin tespiti.....	32
3.8.6.1. Sarkoplazmik ve miyofibrilar kas proteinlerinin ekstraksiyonu	32
3.8.6.2. Toplam mikro protein tayini.....	33
3.8.6.3. Elektroforetik analizler (SDS-PAGE)	34
3.9. İstatistiksel Analizler.....	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	38
4.1. Nem Analiz Sonuçları.....	38
4.2. pH Analiz Sonuçları.....	39
4.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	40
4.4. Thiobarbitürik Asit İndeks (TBA-i) Değeri Sonuçları.....	41
4.5. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analiz Sonuçları.....	42
4.6. Elektroforetik Analiz Sonuçları.....	44
4.6.1. Miyofibrilar kas proteinleri.....	44
4.6.2. Sarkoplazmik kas proteinleri.....	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	54
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ	73

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KİTOSAN ESASLI YENİLEBİLİR FİLMLE KAPLANMIŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) FİLETOLARININ RAF ÖMRÜ VE KALİTESİ ÜZERİNE YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ İŞLEMİNİN ETKİSİ

Sinem SİPAHİOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. AliGÜNLÜ

II. Danışman: Prof. Dr. Hami ALPAS

Bu çalışmada; taze gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) filetolarının 4°C’de depolama sırasında kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplama, vakumda paketlenme ve yüksek basınç uygulama sonucunda kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Vakumda paketlenmiş (K), vakumda paketlenildikten sonra yüksek basınç uygulanmış (YB), kitosan esaslı filmle sarıldıktan sonra vakumda paketlenmiş (KFK) ve kitosan esaslı filmle sarılıp vakumda paketlenildikten sonra yüksek basınç uygulanmış (YB+KFK) örneklerde 4’er günlük aralıklarla kimyasal (Nem, pH, Toplam uçucu bazik azot, Thiobarbiturik asit indeksi) ve mikrobiyolojik (Toplam mezofilik ve psikrofilik mikroorganizma) raf ömrü analizleri yapılmıştır. Alabalık filetolarının kimyasal ve mikrobiyolojik raf ömrü analiz sonuçlarına göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında YB grubu örneklerde 4 günlük, kitosan esaslı filmle sarma işlemi sonrası 8 günlük ve her iki yöntemin birlikte kullanılması sonucunda 24 günlük bir raf ömrü artışı sağlanmıştır. Ayrıca, soğuk depolama sırasında gökkuşağı alabalığı kas proteinlerindeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla yapılan SDS PAGE ve dansitometrik analizler sonucunda, sarkoplazmik ve miyofibrillar proteinlerin major bantlarında yüksek basınç ve kitosan filmle sarma sonucunda küçük değişimlerin olduğu, en önemli değişimin miyofibrillar proteinlerde 200 kDa (kuvvetli miyozin zinciri)’da ve 31, 4 kDa’daki proteinlerin yoğunluğunda azalma şeklinde yüksek basınç uygulanmış iki grupta (YB ve YB+KFK) tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, yüksek basınç ve kitosan esaslı filmle kaplama işlemi, alabalık filetolarında soğukta depolama sırasında kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan koruyucu etkiye sahip olduğu, en etkili koruyuculuğun ise her iki yöntemin birlikte kullanılması sonucunda elde edildiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı Alabalığı, Kitosan, Yenilebilir Film, Yüksek Hidrostatik Basınç, Raf Ömrü

2013, 73 Sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECT OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE PROCESSING ON QUALITY AND SHELF LIFE OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) FILLETS WRAPPING WITH CHITOSAN-BASED EDIBLE FILMS

Sinem SİPAHİOĞLU

Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Fishing and Fish Processing Technology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ali GÜNLÜ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Hami ALPAS

In this study the rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*) were stored at 4°C. During this process the chitosan based edible film wrapping, vacuum packing and the application of high pressure as a result of chemical reaction and the quality of microbiological are designed to determine the changes. Only vacuum packed (K), after the high pressure applied into the vacuum packaged (YB), chitosan film after it's packaged in the vacum (KFK) and chitosan films wrapped up then packaged into a vacuum applied to the high pressure, the chitosan-based films wrapped up and then packaged into the vacuum package apply it also with high pressure (YB+KFK) 4 days of samples of chemical (moisture, pH, total volatile basic nitrogen, Thiobarbituric acid index) and microbiological (total mesophilic and psychrophilic microorganisms) shelf life were analyzed. According to the analysis of chemical and microbiological shelf life of trout fillets, YB group compared with the control group samples 4 days, chitosan-based film winding, chitosan based film winding after 8 days and after the co-administration of 24 days the two methods is increased shelf life.

Also, during cold storage changes in rainbow trout muscle proteins in order to determine the SDS PAGE and densitometric analysis of sarcoplasmic and myofibrillar proteins, the major bands of high pressure, and that small change as a result of chitosan-based film wrapping, the most important change are the myofibrillar proteins of 200 kDa (strong chain of myosin) and the 31, 4 kDa 'high pressure applied in the form of a reduction in the intensity of the two groups of proteins (YB and YB + KFK) have been identified.

As a results, high pressure and chitosan-based film processing, trout fillets during cold storage and microbiologically they have protective effects, the effective use of protection is obtained with those two methods.

Keywords: Rainbow trout, Chitosan, Edible film, High presure, Shelf life.

2013, 73 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, yardımcı olan değerli Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Ali GÜNLÜ' ye en derin teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada ODTÜ Gıda Mühendisliği Non Termal Laboratuvarı'nda yüksek basınç ünitesini kullanma olanağı veren ve destekleyen Sayın Danışman Hocam Prof.Dr. Hami ALPAS' a teşekkür ederim. Ayrıca ODTÜ laboratuvar çalışmalarında yardımı ve desteğinden dolayı Tuğçe ŞENTÜRK' e teşekkürlerimi sunarım.

ESÜF Gıda Laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı Ebru KOYUN, Tuğba AKDENİZ, Arş. Göv. İsmail Yüksel GENÇ, Rahime YILMAZ ve beni hiç yalnız bırakmayan kardeşim H. Sanem SİPAHİOĞLU' na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. İngilizce çevirisinde yardımcı olan kuzenim Eray GÜNER' e teşekkür ederim. Ayrıca emeği geçen ESÜF öğrencilerine teşekkür ederim.

2107-YL-10 No'lu Proje ile maddi desteklerinden dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın başından bugüne kadar bana en çok inanan, destekleyen, her koşulda yanımda olan, Sevgili Annem Gülay SİPAHİOĞLU' na ve Babam Sami S. SİPAHİOĞLU' na en içten şükranlarımı sunuyorum.

Sinem SİPAHİOĞLU
ISPARTA, 2013

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Yüksek Hidrostatik Basıncın etkisi	11
Şekil 2.2. Yüksek hidrostatik basınç işlevi.....	11
Şekil 3.1. Kitosan kaplama solüsyonunun eldesi.....	24
Şekil 3.2. Kaplama solüsyonundaki hava kabarcıklarının uzaklaştırılması .	25
Şekil 3.3. Kaplama solüsyonunun strafor tabaklara dökülmesi.....	25
Şekil 3.4. Kuru havalı sterilizatörde filmlerin kurutulması.....	26
Şekil 3.5. Elde edilmiş yenilebilir kaplama filmi.....	26
Şekil 3.6. Balık filetolarının kitosan yenilebilir film ile kaplanması.....	26
Şekil 3.7. Yüksek hidrostatik basınç ünitesi ürün koyma aşaması	27
Şekil 3.8. Akış şeması	29
Şekil 4.1. Nem analizi sonuçları.....	38
Şekil 4.2. pH analiz sonuçları.....	39
Şekil 4.3. Toplam mezofilik mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları..	40
Şekil 4.4. Toplam Psikrofilik Mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları	41
Şekil 4.5. TBA-i sonuçları.....	42
Şekil 4.6. TVB-N analiz sonuçları (mg/100g kasta).....	43
Şekil 4.7. SDS PAGE analizi ve dansitometrik analiz sonucunda taze (K) örnekte belirlenen miyofibrilar kas proteinleri.....	44
Şekil 4.8. Kontrol grubu (K) örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	45
Şekil 4.9. YB grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	46
Şekil 4.10. KFK grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	47
Şekil 4.11. YB+KFK grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	48
Şekil 4.12. SDS PAGE analizi ve dansitometrik analiz sonucunda taze (K) örnekte belirlenen sarkoplazmik kas proteinleri.....	49
Şekil 4.13. Kontrol grubu (K) örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	50
Şekil 4.14. YB grubu örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	51
Şekil 4.15. KFK örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları.....	52
Şekil 4.16. YB+KFK grubu örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Deneme planı.....	28
Çizelge 3.2. Standart eğrinin eldesinde kullanılan protein miktarları.....	33
Çizelge 3.3. SDS PAGE’de kullanılan markırın protein içeriği.....	35
Çizelge 4.1. Nem analizi sonuçları.....	38
Çizelge 4.2. pH analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.3. Toplam mezofilik mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları.....	40
Çizelge 4.4. Toplam Psikrofilik Mikroorganizma sayısı (log cfu/g)..... sonuçları.....	41
Çizelge 4.5. TBA-i sonuçları.....	42
Çizelge 4.6. TVB-N analiz sonuçları (mg/100g kasta).....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

K	Vakumda paketlenmiş taze örnekler
KFK	Kitosan filmle sarılmış ve vakum paketlenmiş örnekler
Kob/log	Koloni oluşturan birim / gram
TBA-i	Tiyobarbitürik asit indeks değeri
TVB-N	Toplam uçucu bazik azot değeri
YB	Vakum paketlenmiş ve yüksek basınç uygulanmış örnekler
YB+KFK	Kitosan filmle sarılmış, vakum paketlenmiş ve yüksek basınç uygulanmış örnekler
YHB	Yüksek Hidrostatik Basınç
TBA	Tiyobarbütik asit
mPa	Megapascal
mM	Milimolar
kDa	Kilodalton
TMM	Toplam mezofilik mikroorganizma sayısı
TPA	Toplam Psikrofilik Mikroorganizma sayısı

1. GİRİŞ

Son yıllarda tüketiciler tarafından en fazla tercih edilen gıda olarak balık eti besin değeri ve et kalitesi bakımından öne çıkmıştır. Balık etinin ölüm sonrası biyokimyasal reaksiyonların etkisi altında olması ve mikrobiyolojik bozulmasının hızlı gerçekleşmesi nedeniyle gıda güvenirliliği yani tazeliği önemlidir. Balıkların raf ömrü buzdolabı şartlarında; kimyasal, mikrobiyolojik ve enzimatik bozulma tepkimeleriyle sınırlıdır (Muşabak, 2008; Bolat, 2009).

Tarihsel gelişimde su ürünlerinin muhafazalarının uzun olması için tuzlama, kurutma, dumanlama, marinasyon gibi işleme teknikleri ve sterilizasyon gibi yüksek sıcaklık uygulamaları kullanılmıştır. Fakat bu uygulamaların taze gıdanın yapısal özelliğini bozduğu görülmüştür. Soğukta buz içinde muhafaza yöntemi ise balık türüne ve muhafaza sıcaklığına göre değişim gösterir ve raf ömrü kısadır (Üretener, 2009).

Balıkların besleyici değerlerini, güvenirliliğini ve duyu kalitesini korumak balık muhafazasının amacıdır. Bu amaç doğrultusunda yapılması gereken; mikroorganizma gelişimini kontrol etmek, arzu edilmeyen fiziksel, biyolojik, kimyasal değişimleri azaltmak ya da kontaminasyonu engellemektir. Bu da kimyasal, biyolojik ve fiziksel yöntemlerle gerçekleştirilebilir (Muşabak, 2008; Bolat, 2009).

Yiyeceklerin yüksek kaliteli, uzun ömürlü, taze kalabilmesi için bazı saklama yöntemleri geliştirilmiştir. Bu saklama yöntemlerini geliştirmek için gıdalardaki bozulma belirtileri olan mikrobiyal artış, renk değişimleri ve oksidatif bozulmalar üzerinde çalışılmıştır. Günümüzde özellikle et imalatı için mikrobiyal kontaminasyonu düşürmek, raf ömrünü, işlenmiş yiyeceklerin kalite ve güvenliklerini düzenlemek için antimikrobiyal ajanlar olan yenebilir filmler ile kaplama, gittikçe artan aktif bir paketleme işlemi olarak yer almaktadır. Doğal ajanlar olan nisin, lizozom ve kitosan ile olan çalışmalar sonucunda kitosan biyolojik olarak parçalanabilen, toksit olmayan ve genellikle güvenilir olarak tanınmış, USFDA (GRAS) tarafından uygun bulunmuştur (Yingyuad vd., 2006).

Akbaba (2006)'ya göre balık eti gibi çabuk bozulan gıdaların kalitesini sürdürerek uzun süreli raf ömrü için kullanılacak metotlardan biri 'kitosan' maddesiyle balığın kaplanmasıdır. Yenilebilir film ve kaplamalar; bir gıdanın yüzeyi üzerine oluşturulmuş ince tabakalı, gıda ile birlikte yenilebilen, sentetik olmayıp doğal kaynaklardan elde edilen gıdaları korumak ve raf ömürlerini uzatmak için kullanılan maddelerdir. Uygun şekilde hazırlandığı takdirde yenilebilir filmler fonksiyonel bir ambalajın sahip olabileceği tüm görevleri yerine getirebildiği için ticari ambalajlama materyallerine alternatif olarak geliştirilmiştir (Dursun ve Erkan, 2009).

Yenilebilir filmlerin üretiminde; kullanılan hammaddeler güvenirliği kabul edilmiş (GRAS) olmalı, mikrobiyal bozulmayı uzun depolama zarfı boyunca engellemeli ya da azaltmalı, kontrollü ürün solunuma müsait olmalı, yapısal bütünlük sağlamalı, gıda katkı maddelerini birleştirici olmalı, mekanik işlemeyi geliştirmelidir (Krochta ve DeMulder Johnston, 1997).

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması gıda işleme sanayinde yeni uygulanmaya başlanan ambalajlı veya ambalajsız olarak, basınç ortamında sıvı kullanılan, gıdalara 100–1000 MPa basıncın altında sıkıştırılmasıyla mikrobiyal gelişimin engelleyerek gıdanın raf ömrünü artırılmasının sağlandığı bir teknolojidir. Gıdalarda yüksek hidrostatik basınç arzu edilmeyen sıcaklık etkilerini azaltan, termal olmayan, patojen ve saprofit mikroorganizmaların inaktivasyonu özelliğine sahip bir gıda muhafaza yöntemidir (Arıcı, 2006).

Basınç işleminin oda sıcaklığında uygulanması, kovalent bağları ve küçük molekülleri fazla etkilememesinden dolayı tat, aroma, vitaminler, pigmentler, fenoller ve diğer benzer bileşenler üzerinde önemli değişikliklere neden olmamakta, bundan dolayı da gıdanın doğal görünümü ve lezzeti korunmuş olmaktadır (zl, 2006; Kaletunç, 2009).

Yüksek sıvı basınç işlemi, enzimatik karışımlar, ısıl işlemler, doğal antimikrobiyal ve antioksidan maddelerle birlikte kullanılabilir. Böylece

yöntemin etkinliği artmakta ve avantajlı hale gelmektedir (Bragagnolo vd. 2006).

Bu çalışmanın amacı, yüksek vizkoziteye sahip kitosan esaslı yenilebilir filmler ile sarılmış gökkuşağı alabalığı filetolarının, vakum paketlenme sonrası yüksek hidrostatik basınç işleminin uygulanması sonucu raf ömrü ve kalitesindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca taze su ürünlerinin muhafazasında kullanılan plastik türevli kaplama materyallerinin yerine, çevre ile dost doğal bir kaplama materyalinin kullanabilirliği araştırılmıştır

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Yenilebilir Film Teknolojisi

Balık muhafazasının amacı; balıkların besleyici değeri, duyusal kalitesi ve güvenilirliği ile ilgili arzu edilmeyen değişimleri önlemektir. Bu da balıktaki mikroorganizma gelişimini kontrol etmek, istenmeyen fiziksel, kimyasal ve fizyolojik değişimleri azaltmak veya kontaminasyonu önlemek esasına dayanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle gerçekleştirilebilir (Muşabak, 2008). Son yıllarda tüketicilerin sağlığına zarar veren koruyucu ürünlerden kaçınmak ve gıdaların raf ömrünü uzatmak için güvenilir metotlar geliştirilmektedir (Ouattara vd., 2000). Güvenilir, yüksek kalitede ve uzun ömürlü gıdalara olan talep mümkün olduğu kadar gıda maddelerinin doğallığını ve tazeliğini muhafaza eden koruyucu ürünlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Guilbert vd., 1997).

Yenilebilir film ve kaplamalar; gıdaları korumak, raf ömürlerini uzatmak amacıyla bir gıdanın yüzeyi üzerinde oluşturulmuş ince tabakalı, gıdayla birlikte yenilebilen, sentetik olmayıp doğal kaynaklardan elde edilen maddelerdir. Yenilebilir filmler uygun şekilde hazırlandığı takdirde fonksiyonel bir ambalajın sahip olabileceği tüm işlevleri yerine getirebilir. Tarımsal kökenli bu ambalajlar, cam, teneke, polimer gibi ticari ambalajlama materyallerine alternatif olarak geliştirilmiştir. Bu tekniğin en önemli işlevlerinden birisi su buharı geçişine karşı gösterdikleri dirençtir. Bu sayede gıda maddelerinin depolanmaları sırasında oluşan ağırlık kayıpları azaltılabilmektedir. Yenilebilir ambalajlarla kaplanmış et ürünlerindeki yağların oksidasyonu engellendiğinden acılaşmamış, tazeliğini korumuş et ürünlerini market raflarında bulabilmek olasıdır. Kısaca bu ambalajlar, suyun yanı sıra aroma bileşikleri, pigmentler, kararma tepkimelerini durduran iyonlar ve vitaminler gibi maddelerin ürünlerin içinde tutulmasını sağlamaktadır. Ama daha da önemlisi yenilebilir film ve kaplamalar, plastiklerle yapılan gıda ambalajlamanın önemli sorunlarından olan kanserojen riskini taşımamakta ve atık sorunu da oluşturmamaktadır (Akbaba, 2006).

Yenilebilir film ve kaplamalar, tüketim sırasında olumsuz etki yaratmamak için mümkün olduğunca kokusuz, tatsız, renksiz, saydam, berrak olmalı, gıda maddesi ile uyum göstermelidir. Filmler genellikle aşınmaya dayanıklı ve esnek olmalıdır. Farklı fonksiyonel ihtiyaçları (nem bariyeri, gaz bariyeri, su ve lipitte çözünürlük, renk ve görünüş, mekanik özellikler, vb.) karşılayabilmelidirler (Kandemir, 2006). Ayrıca filmlerin yüzey görünümünün iyileştirilmesi ve yapışkanlığının da azaltılması gerekmektedir. Hidrokolloid yapıda olan filmler genellikle lipid veya mumlardan üretilen aynı özellikteki filmlerden daha doğal yapıdadır. Ayrıca, yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılmak üzere arzu edilen duyusal kalite değerlerine sahip maddelerden de yararlanılabilir. Bu şekilde üretilen yenilebilir filmler gıdanın renk, lezzet, asitlik, tatlılık ve tuzluluk gibi gıda değerlerinin korunabilmesine yardımcı olmaktadır (Sarioğlu, 2005). Film ve kaplamalar oluşum şekilleri ve gıdalara uygulamalarına göre farklılık gösterirler. Yenilebilir kaplamalar, gıda üzerine bir fırça ile sürülerek, püskürtülerek, ürünü solüsyona daldırarak veya solüsyonu ürün üzerine akıtarak oluşturulur (Cuq vd., 1995).

Yenilebilir film ve kaplamalar nem, oksijen, karbondioksit, aroma ve yağlara karşı bariyer sağlayan bileşikler içerebilirler. Antimikrobiyaller, antioksidanlar ve aroma bileşenlerinin ilavesiyle gıdanın mekanik ve biyolojik özelliklerini iyileştirebilirler. Yenilebilir filmlerin mekanik özelliklerini arttırmak için film formülasyonlarında gliserin, etilen glikol, sorbitol, mannitol ve polietilen glikol gibi çeşitli plastikleştiriciler kullanılmaktadır. Bu katkı maddeleri genelde düşük molekül ağırlığına sahip küçük moleküllerdir ve polimerlere uygun kaynama sıcaklıklarına sahiptirler. Plastikleştiriciler paketlenme sanayinde önemli olan film kırılgenliğini düşürmekte ve filmin esnekliğini de arttırmaktadırlar (Garcia vd., 2000). Yenilebilir bir filmin üretimi için şu koşulların mutlaka sağlanması gerekmektedir (Appendini ve Hotchkiss, 2002). Kullanılan ham maddeler genellikle güvenilirliği kabul edilmiş (GRAS) olmalı, yavaş, fakat kontrollü ürün solunumuna izin vermeli, yapısal bütünlük sağlamalı ve mekanik işlemeyi geliştirmeli, gıda katkı maddelerini birleştirici görev yapmalı ve mikrobiyal bozulmayı uzun depolama süreleri boyunca engellemeli veya azaltmalıdır (Krochta ve DeMulder Johnston, 1997).

Yenilebilir filmlerin önemli işlevlerinden biri gaz veya daha da sık olarak su buharı için bariyer olarak kullanılabilmeleridir. Su buharı geçirgenliği yenilebilir filmlerin en önemli ve en çok çalışılan bariyer özelliğidir. Gıdalardaki nem seviyeleri, tazeliği korumak, mikrobiyolojik gelişimi kontrol altında tutmak, ağız dolgunluğu ve görünüm sağlamak için önemlidir. Yenilebilir filmler nem kaybını ya da nemliliği önleyen su aktivitesini kontrol altına almaktadırlar (Krochta ve DeMulder Johnston, 1997).

Kitin, omurgasızların iskeletinin ana yapısal bileşiğidir ve selülozdan sonra ikinci önemli biyopolimerdir. Kitosan, kitinden deasetile edilir ve kitinin tersine asidik solüsyonda çözünebilir (Shahidi vd., 2002). Son yıllarda da, endüstriyel uygulamalarda büyük potansiyel sağlamasından dolayı kitin ve deasetile formu olan kitosana olan ilgi artmaktadır (No ve Meyers, 1995). Kaplama materyali olarak birçok kimyasal madde kullanılabilmektedir. Bu maddelerin ortak özelliği suyu geçirmeleri fakat oksijeni geçirme özelliklerinin olmamasıdır. Diğer istenilen özellikler ise antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye, bağlayıcı ve tekstürü düzenleyici yapıya sahip olmalarıdır (Borderías vd., 2005). Kitosan gıdalarda antimikrobiyal aktiviteye (Cuero, 1999), tekstürü düzenleyici (Benjakul vd., 2003), bağlayıcı (No vd., 2000) ve antioksidan özelliğe (Kamil vd., 2002) sahip olmasından dolayı bu gibi kullanımlar için oldukça uygundur.

1907 yılından 2005 yılına kadar kitin ve kitosan ile ilgili 22600 adet çeşitli araştırma sonuçlarının yayınlandığı özellikle son 40 yılda yapılan bilimsel araştırma yayınlarının sayısına bakıldığında üzerinde en fazla araştırmanın yapıldığı konuların başında gelmektedir (Khor, 2002). Bu yayınların öncelikli olarak kitosanın çok çeşitli gıda ürünlerinin kalitesini koruduğu raf ömrünü uzattığı ve yenilebilir bir film olması üzerinedir. Diğer araştırmalar bu özelliklerinin geliştirilmesi, kitosanın elde edilmesi ile ilgili geliştirilen metotlar, kimyasal ve fiziksel özellikleri, moleküler ağırlığına ve deasetilasyon derecelerindeki değişimlerin koruyuculuk etkisi üzerine etkileri, endüstriyel açıdan elde edilme maliyetleri ve ekonomik konuları, farklı muhafaza teknikleri ile birleştirilerek koruyuculuk etkisinin ve raf ömrünün artırılması ve

antibakteriyel ve antifungal özellikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır (No vd., 2007).

Cho vd. (1998), ezme balık örneklerinin doğal gıda koruyucu olarak %0,3 hidrolize kitosan içermesiyle raf ömrünün 15 °C'de 6 gün, 20 °C'de 4 gün ve 30 °C'de 2 gün uzadığını, Ahn ve Lee (1992), hafif tuzlanmış ve kurutulmuş uskumru balıklarının kalitesi üzerine kitosan filmlerin etkisini araştırmış, 5 °C'de 20 günlük depolama süresince TVB-N, TBA, TMA ve peroksit değerlerini kontrol grubundan daha düşük tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, kitosan filmlerin hafif tuzlanmış ve kurutulmuş uskumruların kaplanması ve kalitesinin korunmasında etkili bir metot olduğu belirtilmiştir.

Jeon vd. (2002), üç farklı viskoziteye (360, 57, and 14 cP) sahip kitosan solüsyonunun, taze morina (*Gadus morhua*) ve ringa (*Clupea harengus*) balıklarının buzdolabı şartlarında (4 °C) raf ömrü üzerine etkileri başlıklı çalışmalarında; her iki balık türünde de kitosan ile kaplanmış filetoların yağ oksidasyonu, kimyasal bozulma ve mikroorganizmaların gelişiminin kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığını ve yenilebilir bir film olarak kitosanın su ürünlerinin raf ömrünü uzattığını belirtmişlerdir.

Tsai vd. (2002), %1 lik kitosan solüsyonuna daldırılarak kaplanan salmon filetolarının raf ömrünün 5. günden 9. güne arttığını, Sathivel (2005), kitosan ile kaplanmış pembe salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) filetolarında kontrol grubuna göre %50 daha az nem kaybının olduğunu ve yağ oksidasyonunu geciktirdiğini, pembe salmonların yüzeyine uygulanan kitosan kaplamanın filetonun yüzeyi ile çevresi arasında oksijen geçişini sınırlayan bir tabaka olarak görev yaptığını belirtmişlerdir.

Gua-jane vd. (2002), kitosanın antimikrobiyal aktivitesi üzerine hazırlama yöntemlerinin ve deasetile derecesinin etkisini araştırmışlardır. Kimyasal (CH-kitin) ve mikrobiyal yöntemlerle hazırlanan kitin (MO-kitin) yengeç kabuğundan elde edilmiştir. CH- kitin ve MO-kitin %47-53 seviyesinde düşük, %74-46 seviyesinde orta ve %95-97 seviyesinde yüksek deasetile derecesinde

çeşitli kitosan ürünlerinden deasetile edilmiştir. Kitinin deasetile değeri arttıkça antimikrobiyal aktivite artmış ve mantarlardan ziyade bakterilere karşı etkili olmuştur. Sonuç olarak yüksek deasetile derecesine sahip kitosan balık filetoalarını çeşitli bakterilere karşı korumuş ve raf ömrünü uzatmıştır.

Nicholas (2003), farklı molekül ağırlıklı ve %1'lik hazırlanan kitosan solüsyonuna daldırılarak kaplanan Atlantik salmon filetoalarının ve kitosan ilave edilen salmon artıklarının raf ömrü ve mikrobiyolojik analizlerini 4°C'de 2 hafta süre ile araştırmıştır. Depolamanın 1. gününde bakteri yükleri oldukça düşük, kontrol grubunun depolamanın 6. günü sınır değerleri aştığı, 10. günden itibaren yüksek molekül ağırlıklı kitosan solüsyonu dışında diğer deneme gruplarının bakteri yükü sınır değerlerin üzerinde tespit edilmiştir. Depolama süresince TVB-N değerleri arasındaki farklar önemsiz bulunmuş ve bütün gruplarda oransal olarak düşük olup 14,4 ile 23,4 mg N/100g arasında tespit etmiştir. pH değerleri bütün gruplarda denemenin başlangıcında artmış, 6. günde azalmış ve 10. ile 13. günde ise tekrar artmıştır.

Lopez-caballero vd. (2004), tarafından yapılan çalışmada toz halindeki kitosan ve jelatin formuna getirilmiş kitosanın morina balığı köftelerine muamelesinin renk ölçümleriyle, mekanik ölçülerle (sertlik, elastikiyet, mukavemet ve yapışkanlık), biyokimyasal belirleyicilerle (TVB-N ve TBARS) ve mikrobiyolojik analizlerle koruyucu etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Köftelere toz halinde karıştırılan kitosan mekanik değerlerde bir artışa sebep olurken, jelatin formunda kullanılan kitosanın ise köftenin elastikiyetini artırdığı belirlenmiştir. Kaplama materyali olarak kullanılan kitosanın antimikrobiyal etkisi ve TVB-N değerleri üzerine önemli bir etkisi belirlenememiştir. Sonuç olarak kitosan uygulanmasının balık muhafaza yöntemlerine bir alternatif olarak düşünülebileceği belirtilmiştir.

Lopez-Caballero vd. (2005), tarafından yapılan çalışmada balık köftesinin yüzeyinin jelatin katkılı kitosan ile kaplanması sonucu bozulmayı geciktirdiğini ancak toz halinde eklendiğinde serbest amino gruplarının varlığı ve nötr pH' da

kitosanın zayıf çözünürlüğe sahip olmasından dolayı bozulmayı engelleyemediğini belirtmişlerdir.

Sathivel vd. (2005), üç ay boyunca derin dondurucuda saklanmış pembe salmon filetoları kalitesi üzerine yenilebilir film halinde uygulanan dil balığı protein unu, pembe salmon protein unu, soya proteini konsantresi, yumurta albumini ve kitosanın etkilerini değerlendirmişlerdir. Kitosan ve soya proteini konsantresinin lipid oksidasyonunu geciktirdiği belirlenmiştir.

Gomez-Esteca vd. (2007), soğuk dumanlanmış sardalyaların (*Sardina pilchardus*) raf ömrünü uzatmak için yüksek basınç (300 MPa/20°C/15 dk) ve keklikotu ekstraktı veya biberiye ya da kitosan eklenerek zenginleştirilen jelatin bazlı fonksiyonel yenilebilir filmler tek başına ya da kombinasyon halinde uygulanmıştır. Jelatin-kitosan filmi mikrobiyal gelişmeyi azaltmada en etkili olmuştur. Yüksek basınç ve yenilebilir film kombinasyonu hem oksidasyonu önleme hem de mikrobiyal gelişmeyi inhibe etme açısından en iyi sonucu göstermiştir.

Kyung vd. (2007), salmon balıklarında farklı moleküler ağırlıklara sahip (30, 60 ve 90 kDa) kitosanların antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Genel olarak bakıldığında salmonda bütün molekül ağırlıklarındaki kitosanlar antioksidatif faaliyet gösterdiği bildirilmiştir. Kitosan ilavesi 7 günlük depolama süresinde lipid oksidasyonunu düşürmüş ve TBARS seviyelerinin kontrol gruplarından daha düşük olduğu gözlenmiştir. 15. güne kadar %0,2'lik ve %0,5'lik konsantrasyondaki kitosan ilavesinin TBARS değerlerini %75 ve %45 oranında azalttığı, sonraki dönemde ise %1 konsantrasyondaki kitosan ilavesinin TBARS seviyesini %32 azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak çeşitli molekül ağırlığındaki ve %0,2, %0,5 ve %1,0 konsantrasyonlarındaki kitosan ilavesinin lipid oksidasyonunu düşürdüğü bildirilmiştir.

Fan vd. (2009), %2 kitosan solüsyonu ile kaplanan gümüşü sazanların -3°C' de 30 günlük depolama süresince raf ömrü ve kalitesi üzerine yapılan çalışmada, kontrol grubu ile kitosan kaplanmış örnekler mikrobiyolojik (TVC), kimyasal

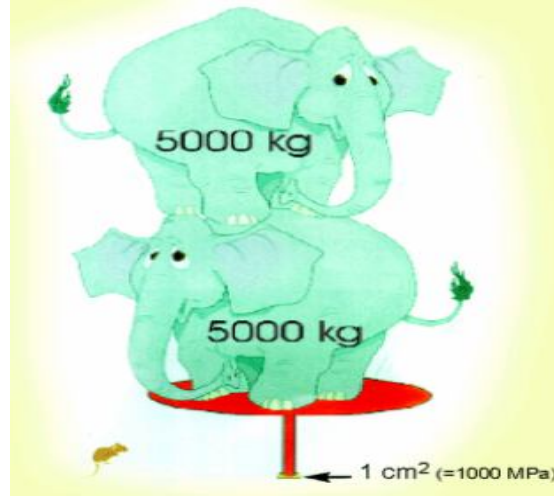
(pH, TBA, TVB-N, K-değeri) ve duyusal nitelikleri bakımından incelenmiştir. Kontrol grubuyla kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analiz sonuçlarına göre, depolama süresince karşılaştırıldığında raf ömrünün arttığı ve kalite olarak iyi durumda olduğu tespit edilmiştir.

Bolat vd., (2009), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının bir ay boyunca $4\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de depolama zarfında kalitesi, raf ömrü, yağ asiti ve kolesterol içeriğindeki farklılaşmalar araştırılmıştır. Çalışmada gökkuşağı alabalığının taze ve dumanlanmış filetoları, iki farklı metot olarak tatlı su yengeç kitosanı ve ticari yengeç kitosanı ile kaplanmıştır. Beş günlük periyotlarla mikrobiyolojik, kimyasal ve duyusal olarak analizler yapılmıştır. Yapılan bu analizler ışığında, taze ve dumanlanmış kitosan kaplamalı örneklerin kalitesinin korunduğu ve raf ömrünün arttığı belirtilmiştir.

Günlü ve Koyun (2012) deniz levreği filetolarını kitosanla kapladıktan sonra vakumda paketlenmiş ve buzdolabı şartlarında raf ömrü sona erece kadar depolanmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, mikrobiyolojik, TVB-N ve TMA-N değerlerine bakıldığı zaman kitosanla kaplanmış ve vakumda paketlenmiş filetoların raf ömrü yaklaşık 20 gün kadar uzadığı tespit edilmiştir.

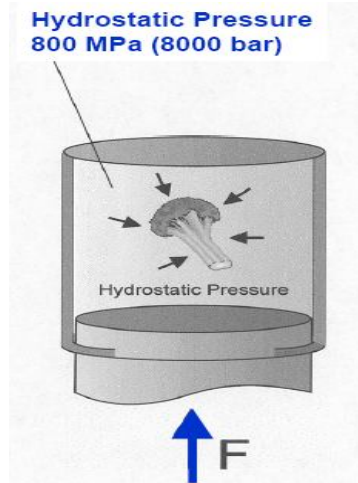
2.2. Yüksek Hidrostatik Basınç İşlemi

Katı veya sıvı gıdaların ambalajlı veya ambalajsız 100 – 1000 MPa basıncın etkisinde bırakılmasına yüksek hidrostatik basınç veya ultra yüksek basınç işlemi denir (Arıcı, 2006). Yüksek basınç işlemi sırasında 1000 MPa'lık basıncın etkisini anlatmak için 10000 kg lık ağırlığın aynı anda 1 cm²'lik alana yaptığı etkiye eşit olmasıyla açıklanabilir (Özlü, 2006).



Şekil 2. 1. Yüksek hidrostatik basıncın etkisi (Moraru, 2008)

Yüksek Hidrostatik Basınç işleminin temel prensibi ürünü çevreleyen sıvıya uygulanan kuvvetle sıvının sıkıştırılması ilkesine dayanmaktadır (Mañas ve Pagán 2005). Basınç uygulanacak ürünün ambalajlı olup olmaması, basıncın ürünün tamamına eşit ve ani olarak ulaşmasını etkilememektedir. Basınç ortamında sıvı kullanıldığından Yüksek basınç işlemi gıdanın kompozisyonuna, şekline ve büyüklüğüne bağlı olmadan gıdanın tüm kütlesine eşit ve ani olarak yapılmaktadır (Hogan vd., 2005).



Şekil 2.2. Yüksek hidrostatik basınç işlevi (Moraru, 2008)

Yüksek basınç uygulamasında, basıncın gıdaya iletilmesinde sıvı olarak özel hidrolik yağlar, hidrokarbonlar ve su kullanılabilir (Cheftel ve Culioli, 1997). Fakat hacim azalması, gazlara oranla daha az ve ucuz olmasından dolayı su daha çok tercih edilmektedir (Şanal ve Çalimli, 2000). Yüksek basınç

işleminde, basınçlama sıvısı olarak yağ kullanıldığı zaman gıdaların geçirgen olmayan materyal ile ambalajlanmış olması gerekmektedir. Basınçlama sıvısına; FDA (Food and Drug Administration) ve USDA (United States Department of Agriculture) onaylı yağlayıcılar, antikorozyon ajanlar ve antimikrobiyal maddeler de eklenebilir (FDA, 2000).

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, mikrobiyal gelişimin engellenmesi ve raf ömrünün artırılması için sebze ürünlerinde, meyve suyu ve meşrubat sanayisinde, et ürünlerinde, kabuklularda ve balıklarda kullanılmaktadır. Ayrıca renk, tat ve vitaminlerin korunması için sebze ürünlerinde, meyve suyu ve meşrubat sanayisinde de kullanıldığı bildirilmiştir. Diğer fonksiyonel uygulamaları ise pirincin alerjik karakterinin düşürülmesi, greyfurt suyunun acılığının azaltılmasında, katkı maddesi kullanılmadan et ürünlerinin güvenliğinin arttırılmasında, kabuklu deniz ürünlerinin etlerinin çıkartılmasında (Moraru, 2008), dondurulmuş etlerin çözündürülmesinde, çikolatanın sertleştirilmesinde, nişastanın ve proteinlerin jelatinizasyonunda, etlerin gevrekliğin fazlalaşmasında, dondurma ve tavlama işlemlerinde kullanılmaktadır (Özcan ve Obuz, 2006).

Yüksek hidrostatik basıncın proteinler üzerine etkisi, molekül yapısı büyüklüğüne ve ortam bileşimine bağlıdır (pH, iyonik güç, ve ısı). Normal şartlarda, sekonder yapı sadece çok yüksek basınç işlemlerinden etkilenirken, ana yapı basınçtan etkilenmemektedir. 100 MPa basınç altında tersiyer ve kuarterner yapılar değişim göstermektedir. Bu değişimler, endojen et enzimlerinin faaliyetlerini de değiştirebilir (Ensoy ve Coşar, 2006).

Kovalent ve kovalent olmayan bağları etkileyen ısı uygulamaların aksine, oda sıcaklığında Yüksek Basınç Uygulamaları sadece nispeten zayıf kimyasal bağları (hidrojen, hidrofobik ve iyonik bağlar) kırmaktadır (Hendrickx vd. 1998).

Hendrickx vd. (1998) ve Ko vd. (2006), genellikle oda sıcaklığında uygulanan düşük basınçlarda (100–300 MPa) protein yapısında dönüşümlü değişimler

görüldüğünü, 300 MPa üzerindeki basınçlarda geri dönüşümsüz protein denatürasyonuna sebep olduğunu bildirmişlerdir (Öz ve Kaya, 2006).

Hsu ve Ko (2001), tilapia kaslarından eksrakten edilen myosinin 500 atm basınçta denatüre olduğunu, 1000 atm basınçta myosinin agregasyona uğradığını ve çözünmez yapı oluşturmaya başladığını, 1500 atm üzeri basınç uygulamalarında ise myosinin çökerek jel oluşturduğunu belirtmiştir.

Hugas vd. (2002)'a göre, yüksek hidrostatik basıncın mikroorganizmalar üzerine etkisi; hidrojen bağlarının kırılmasıyla hücre zarı geçirgenliği artmakta, hücre içi bileşenleri parçalanmakta, hücrede enerji üreten reaksiyonlar inhibisyona uğramakta, hücre gelişmesi için gerekli enzimler inaktive olmakta ve gelişme için gerekli olan pH aralığı daralmaktadır.

Büyükcan vd., (2007) tarafından yüksek sıvı basınç uygulamasının karides ve midyelerde mikrobiyolojik kalite üzerine etkisinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada en iyi sonuç; Karidesler (*Parapenaeus longirostris*) için 250 MPa, 50°C 10 dakika, midyeler (*Venus gallina*) için ise 220 MPa, 50 °C ve 10 dakikada olduğu bildirilmiştir. Böylece her iki üründe de mikroorganizmaların tamamen inaktive edildiği saptanmıştır.

Hurdato vd., (2001a), yaptıkları çalışmada, ahtapot kol etlerine farklı sıcaklık ve basınç uygulanması sonucunda tüm deneme gruplarında toplam bakteri, *Enterobacteriaceae*, *S.aureus* ve laktik asit bakteri koloni sayılarında azalışlar tespit edilmiştir. Toplam bakteri ve *S. aureus* bakımından en etkili sıcaklık 40°C, basınç ise 400MPa olarak tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada, ahtapot kaslarına farklı sıcaklık ve basınç uygulanması ve +3°C'de depolama sonucunda tüm deneme gruplarında, toplam bakteri sayısı, laktik asit bakteri sayısının ve TVB-N içeriğinde, kontrol grubuna göre önemli azalışlar tespit edilmiştir. En iyi sonuçlar 40°C ve 400 MPa basınçta tespit edilmiştir (Hurdato vd., 2001b).

Chevalier vd., (2001), 4°C'de 15-30 dk 100-200 MPa arasında basınç uyguladıkları kalkan balığı filetolarında lipid oksidasyonunun basınç seviyesi ve süresinden etkilendiğini, özellikle de oksidasyonun 180 MPa basınçtan itibaren önemli oranda arttığını belirtmişlerdir.

Angsupanich ve Ledward, (1998), YHB uygulanmış (20 dk.) vakum paketlenmiş morina balığının TBA içeriğinde (4°C) depolamaya bağlı değişimler incelemiştir. Kontrol grubuna kıyasla 200 MPa'lık basınç uygulanan balıkların başlangıç TBA sayısında çok az, fakat 400 MPa üzerindeki basınçlarda lipid oksidasyonunun metal iyonların serbest kalması nedeniyle artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Alpas (2000), sıcaklık, pH ve bakteriosinlerin yüksek hidrostatik basınç işlemi sırasında peptonlu su ve gıda sistemleri içindeki seçilmiş gıda patojenlerinin yaşamlarına etkisini incelemiştir. Çalışma sonunda YHB (345 MPa, 50 °C, 5 dk) işleminin yüksek asitli gıdalarda ve ancak bakteriosinlerle birlikte kullanıldığında düşük asitli gıdalarda, çalışılan patojen suşları için, yüksek oranda mikrobiyel yıkıma sebep olduğu bildirilmiştir.

Amanatidou vd., (2000), taze Atlantik salmonunun raf ömründe YHB ve modifiye atmosfer uygulamasının etkisi incelenmiştir. 20 g'lık vakum paketlerde kontrol grubu 5°C de 100–150–200 MPa da 10, 30, 60 dk yüksek basınç uygulamasına uğratılmıştır. Uygulama sonucu 5°C de 10 dk 150 MPa lık grubun mikrobiyal yüke ve renge en etkili olduğu belirtilmiştir.

Lopez-Caballero vd.,(2000), karideslerde kararma olayına karşı vakumda paketlenme ve Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının birlikte etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak kararmayı engellemede kimyasal maddeler kadar yüksek basıncın etkili olmadığını fakat tazelik uzatmada, lekelenmeyi önlemede yararlı olduğu ve mikrobiyal sayısının önemli ölçüde azalttığını belirtmiştir.

Hsu ve Ko, (2001), tilapia kaslarından ekstrakte edilen myosinin 500 atm basınçta denatüre olduğunu, 1000 atm basınçta myosinin agregasyona

uğradığını ve çözünmez yapı oluşturmaya başladığını, 1500 atm üzeri basınç uygulamalarında ise myosinin çökerek jel oluşturduğunu belirtmiştir.

Hurtado vd, (2002), vakumda paketlenen sonra 7 ve 40 °C'de 5 dakika 400MPa'da basınca maruz bırakıldıktan sonra 40 ve 60 °C'de farklı sürelerde inkübasyon sonucu ahtapot kaslarının Miyosin (MHC) bandında değişim olmadığı ve miyofibrillar proteinlerdeki yüksek basınç sonucunda oluşan denatürasyonlar nedeniyle otolizin azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar depolama sırasında ahtapot kaslarında görülen yumuşamanın önüne geçmede YHB etkili bir şekilde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Paarup vd. ,(2002), kalamarın (*Todaropsis eblanae*) vakum paketlenerek 15 dk da 150–200–300–400 MPa Yüksek Sıvı Basıncı uygulanarak 4°C depolanmasıyla duyuşal, kimyasal ve bakteriyolojik değişimlerini araştırmışlardır. Çalışmada olumlu sonuçların çıktığı belirtilmiştir.

Zahra, (2004) tarafından ton balığına 20°C'de 15 ve 30 dak. 150–220 MPa yüksek basınç uygulamasıyla balıktaki proteaz aktivitesi, histamin oluşumu, renk ve tekstür üzerine etkisini araştırmıştır. Raf ömrünün artmasında en iyi sonucun 220 MPa basınç seviyesinde 30 dak tutularak alındığı bildirilmiştir. Lakshmanan vd.,(2005), soğuk tütöleme yapılmış somon balığına 300 MPa'lık bir basınç uygulaması ile myosinin çok az etkilendiğı ve buzdolabı şartlarında 18 günlük depolama sonucunda bu etkinin kaybolduğı da belirlenmiştir.

Sequeira-Munoz vd.,(2006), sazan filetolarında düşük sıcaklıkta yüksek basınç uygulamasının (4°C'de 100-140-180 ve 200 MPa 15-20 dakika) sonucunda, basınç seviyesi ve süresinin artırılmasına paralel olarak TBARS değeriinin ve serbest yağ asitlerinin oluşumunun arttığı bildirilmiştir.

Gomez-Estaca vd., (2007), soğuk dumanlanmış sardalyaların (*Sardina pilchardus*) raf ömrünü uzatmak için yüksek basınç (300 MPa/20°C/15 dk) ve keklikotu ekstraktı veya biberiye ya da kitosan eklenerek zenginleştirilen jelatin bazlı fonksiyonel yenilebilir filmler tek başına ya da kombinasyon halinde

uygulanmıştır. Yüksek basınç ve yenilebilir film kombinasyonu mikrobiyal gelişimi, TVB-N ve TBA değerini önemli oranda düşürmüştür.

Yagız vd., (2007), gökkuşağı alabalığı ve lambuka balığının yüksek hidrostatik basınç uygulanarak soğukta depolanmasıyla kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Derisiz filetolarının 150, 300, 450 ve 600 MPa basınçta 15 dakika uygulanıp 4 °C de saklanarak analizleri yapılmıştır. Optimum yüksek hidrostatik basınç koşulları, lipid oksidasyonu, mikrobiyal yük ve renk değişimlerine göre gökkuşağı alabalığı için 300 MPa, mahi mahi için 450 MPa olarak tespit edilmiştir.

Üretener (2009), tekir ve çipura balıklarının fileto edilmiş hali ile 3, 7, 15 ve 25°C sıcaklıklarda 5 ile 10 dakikada 220, 250 ve 330 MPa basınç kombinasyonu ile Yüksek hidrostatik basınç uygulanmıştır. Renk, TMA-N ve TBA gibi parametrelere göre en iyi yüksek hidrostatik basınç kombinasyonu ve daha sonra buzdolabında depolama sırasındaki kalite değişimleri araştırılmıştır. Bu uygulama sonunda tekir için en iyi 3 °C/5dk/330MPa - 25°C/5dk/220MPa; çipura için 3 °C/5dk/250MPa - 15°C/5dk/250MPa kombinasyonları olduğu belirtilmiştir.

Erkan vd.,(2010a) Çipura balığının (*Sparus aurata*) yüksek hidrostatik basınç işleminde farklı sıcaklık, zaman ve basınç etkisinde (3, 7, 15 ve 25°C/ 5 -10 dk / 220, 250 ve 330 MPa) kalitesi ve raf ömrü incelenmiştir. Buzdolabı şartlarında depolanan örneklerin genel kabul edilen duyuşal ve mikrobiyolojik verilerine göre yüksek hidrostatik basınç uygulanmamış çipuranın raf ömrü 15 gün, Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış çipura balığının raf ömrü ise 18 gün olarak belirtilmiştir. Yüksek hidrostatik basınç da en iyi kombinasyonlar ise 3 °C/ 5 dk/ 250 MPa ve 15°C/ 5 dk/250 MPa olarak belirlenmiştir.

Erkan vd., (2010b), Tekir balığının (*Mullus surmelutus*) farklı sıcaklık, zaman ve Yüksek hidrostatik basınç işleminin (220, 250 ve 330 MPa / 3, 7, 15 ve 25 °C / 5 ve 10 dakika) raf ömrü ve kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Raf ömrünü

artırmak için en uygun yüksek hidrostatik basınç uygulaması 220MPa,5 dakikada, 25 °C ve 330MPa, 5 dakika, 3 °C olarak tespit edilmiştir.

Erkan vd., (2010c), gökkuşağı alabalığı 220, 250 ve 330MPa / 7, 15 ve 25 °C / 5 ve 10 dakika Yüksek hidrostatik basınç uygulanarak fizikokimyasal kalite değişimlerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada elde edilen en uygun kombinasyonlar 220 MPa, 7-15-25 °C, 5-10 dakika ve 250 MPa, 7-15 °C, 5 dakika olarak belirtilmiştir.

Ortea, (2010), çiftlik salmon balığının (*Oncorhynchus kisutch*) Yüksek hidrostatik basınç işleminden sonra hidroliz, bozulma ve kimyasal bileşenlerin birikimi olaylarını incelemiştir. Üç farklı Yüksek hidrostatik basınç (135 MPa-30s; 170 MPa-30s; 200 MPa-30s) uygulaması yapılarak 20 gün soğukta depolanmıştır. Uygulama yapılan örneklerle karşılaştırma yapılması için bir grup örneğe hiçbir uygulama yapılmamıştır. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması (0. gün) serbest yağ asitlerinin (FFA) artmasına sebep olmuştur. Aksine 200 MPa-30s uygulamasında mikrobiyal aktivite inhibisyonunun bir sonucu olarak 15-20 gün depolamada FFA üzerinde inhibitör etkisi olduğu gözlenmiştir.

Erkan vd., (2011a) tarafından, farklı derece ve sürelerde yüksek hidrostatik basınç (220, 250 ve 330 MPa/ 3, 7, 15 ve 25 °C/5 ve 10 dk) uygulamanın, soğuk dumanlanmış somon balığının kalitesi ve raf ömrü üzerine etkisi çalışılmıştır. Renk, TBA ve TMA değerlerindeki değişimlere göre en uygun kombinasyonlar (220-250 MPa, 3 °C ,5 dk; 330 MPa, 15 °C, 5 dk. ve 250 MPa, 25 °C, 10 dk) belirlenmiştir. İkinci aşamada 250 MPa, 3 °C, 5 dk; 250 MPa, 25 °C,10 dk Yüksek hidrostatik basınç işlemi uygulanarak ve 2 °C depolayarak duysal, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Çıkan sonuçlar kontrol örnekleriyle karşılaştığında Yüksek hidrostatik basınca uğramış ürünlerin raf ömrünün 2 hafta (6 haftadan 8 haftaya) arttığı belirtilmiştir.

Erkan vd., (2011b), karagöz istavrit balığına (*Trachurus trachurus*) 220, 250 ve 330 MPa basınç / 5 ve 10 dakika / 7, 15 ve 25 °C sıcaklıkta Yüksek hidrostatik basınç uygulanarak renk değişimi, Tiyobarbiturik Asit (TBA-i), Trimetilamin

Azot (TMA-N) ve serbest aminoasit içeriğine göre en uygun yüksek hidrostatik basınç kombinasyonu araştırılmıştır. Yüksek hidrostatik basınç işlemine maruz kalan karagöz istavrit balığının basınç uygulanmamış örneklerle göre TBA-i ve TMA değerleri değişmeden kalmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre en iyi yüksek hidrostatik basınç uygulama 250 MPa, 7-15 °C, 5 dakika; 220 MPa, 15-25 °C, 5 dakika; 250 MPa, 15 °C, 10 dakika; 330 MPa, 25 °C, 10 dakika olarak belirlenmiştir.

Karim vd., (2011), taze ringa balığı ve mezigit balığına vakumlandıktan sonra Yüksek hidrostatik basınç (200, 250 ve 300 MPa / 10 °C / 1 ve 3 dakika) işlemi uygulanmıştır. YHB uygulanmayan örnekler de kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Örnekler 14 gün boyunca 2 °C'de buz içinde muhafaza edilmiştir. Bu süre zarfında mikrobiyal kalite değişimi, TVBN ve TMA değerleri incelenmiştir. Ringa ve mezigit balıkları için çeşitli bozulma göstergeleri dikkate alındığı zaman 200 MPa, 3 dakika yüksek hidrostatik basınç işleminin buz içinde yaklaşık 13 gün raf ömrüne ulaştırdığı bulunmuştur.

Şentürk, (2011), uskumru (*Scomber scombrus*) ve barbun (*Mullus barbatus*) balıklarının filetolarına 5, 10, 15 °C'de 5 ve 15 dakika boyunca 200, 300, 400 MPa basınçlar uygulanmıştır. Trimetilamin Azot (TMA-N), yağ oksidasyonu stabilitesi (TBA değeri) ve renk değişimlerine göre en iyi yüksek hidrostatik basınç kombinasyonu araştırılmıştır. Uskumru için en iyi 200 MPa, 15 °C, 5 dk ve 400 MPa, 5 °C, 5 dk; barbun için en iyi 200 MPa, 15 °C, 5 dk olarak saptanmıştır. Çalışmanın ikinci safhasında en iyi Yüksek hidrostatik basınç şartlarında işlem görmüş balıklar 4°C sıcaklığa konularak raf ömrü süreleri renk, duyuşal özellikler (görüntü ve koku), pH, TMA-N, TBA, Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N), Histamin ve Toplam Mezofilik Aerobik Sayısı (TMAS) ölçümleri yapılarak incelenmiştir. Analizler sonucunda basınca uğramamış uskumru filetolarının raf ömrünün 7 gün olurken, 200 ve 400 MPa basınca uğramış örneklerin raf ömrü 17 ve 19 güne ulaşmıştır. Barbun balığı filetolarında ise 200 MPa basıncın raf ömrünü 7 günden 10 güne yükselttiği bildirilmiştir.

2.3. Ölüm Sonrası Balık Proteinlerde Oluşan Değişimler

Balık kasları, sarkoplazmik (suda çözünebilen), miyofibrilar (yapısal) ve bağ doku (konnektif) proteinleri olmak üzere üç temel protein grubundan oluşmaktadır (Love, 1997; Gökoğlu, 2002). Bağ doku proteinleri (kallojen) sarkoplazmik ve miyofibrilar proteinlerin ayrılmasından sonra kalan proteinlerdir. Kastaki bağ doku proteinlerinin miktarı balığın türüne, beslenme rejimine ve olgunluk durumuna göre değişmekte olup genellikle balık proteinlerinin % 3 - 10'nu oluşturmaktadır (Huss, 1995; Love, 1997; Gökoğlu, 2002; Delbarre-Ladrat vd., 2006).

Sarkoplazmik proteinler (miyoalbumin, globulin ve enzimler) balık türüne göre değişmekle birlikte kasların toplam protein içeriğinin %25-35'ini oluşturmaktadır. Oksijen depo ve taşıma proteini olan miyoglobulin kırmızı kas bölümlerinin ana bileşeni olup beyaz kaslarda yalnız iz miktarda bulunmaktadır. Sarkoplazmik proteinler düşük molekül ağırlıklı (40-60 kDa), su ya da nötral tuz çözeltilerinde özütlenabilen, uygun elektrik yükünden dolayı elektroforez yöntemi ile kolayca ayrılabilen proteinlerdir. Elektroforetik ve izoelektrik odaklama (focusing) teknikleri ile balık türlerinin tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Huss, 1995; Love, 1997; Mackie vd., 2000; Gökoğlu, 2002).

Su ürünlerinin kaslarında en fazla bulunan miyofibrilar (yapısal) proteinler miyosin, aktin, tropomiyosin ve aktomiyosindir. Toplam protein içeriğinin %60 - 80'ini yapısal proteinler oluşturur (Huss, 1995; Delbarre-Ladrat vd., 2006). Miyosin balık kasında en fazla bulunan miyofibrilar protein olup toplam miktarın %50-60'ı kadarını oluşturmaktadır. Miktar bakımından ikinci sırayı da aktin almakta, kaslardaki toplam miyofibrilar proteinlerin %15 - 30'unu teşkil etmektedir. Miyofibrilar proteinlerin birçoğu güçlü tuz çözeltilerinde ayrılabilen, sarkoplazmik ve miyofibrilar proteinler ısıyla kolayca denatüre olmaktadır (Love, 1997; Gökoğlu, 2002).

Tazelik, balık kalitesinin belirlenmesinde en önemli ölçüt olup, bu konuda güvenilir metotların geliştirilmesi çok uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Tazelik

kaybı ve sonucunda oluşan bozulma, mikrobiyal, fizyolojik, kimyasal ve biyokimyasal süreçlerin birbirleri ile etkileşimleri sonucunda oluşmaktadır. Hidrolitik tepkimeler sonucunda oluşan bozulmanın birinci adımını endojen enzimler hızlandırmaktadır. Bu enzimler bakteriyel çoğalma için gerekli olan besleyici maddelerin oluşmasını sağlamaktadır. Hidrolitik tepkimeler içerisinde proteolizis özellikle incelenmesi gereken bir olaydır. Çünkü bu olayın, soğuk depolama sırasında balık kaslarında oluşan yapısal (tekstürel) değişimlerin olası nedeni olduğu düşünülmektedir (Verrez-Bagnis vd., 2001).

Ünlüsayın vd., (2001) tarafından sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı, sudak ve yılan balığı kas proteinlerinde sıcak dumanlama sonrası değişimler belirlenmiş, üç türde de proteinlerin büyük bir bölümünün dumanlama sıcaklığındaki artış nedeniyle denatüre olduğu tespit edilmiştir.

Balık tazeliğinin göstergesi olarak kullanılabilecek özel peptit ve proteinlerin tanımlanması için soğukta depolanmış kültür deniz levreklerinin (*D. labrax*) proteinlerindeki değişimler SDS-PAGE ile çalışılmış, 96 saatlik depolama sonucunda miyofibrilar proteinlerden ve 100 kDa'dan daha büyük molekül ağırlıklı proteinlerden oluşan toplam protein özütünde birbirinden farklı hiç bir değişimin olmadığı belirlenmiş, her iki özütte de 16 kDa molekül ağırlığında ki protein bandının depolamaya bağlı olarak düzenli bir şekilde gözden kaybolduğu (bozulmanın %94'ü 96 saat sonra ortaya çıkmıştır) saptanmıştır. Bu bandın amino asit içeriği belirlenmiş fakat bilinen bir protein olmadığı bulunmuş, bu değişimin deniz levreğinin bozulmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Verrez-Bagnis vd., 2001).

Lung ve Nielsen, (2001) tarafından salmon (*S. salar*) kaslarındaki proteolizis üzerine depolama süresi ve dumanlama işleminin etkilerinin belirlendiği bir çalışmada, miyofibrilar proteinlerin SDS PAGE analizlerine göre taze örneklerin depolanması sonucunda dört yeni protein bandının oluştuğu bulunmuş, bazı bantların yoğunluğunda artış, 32 kDa (tropomiyosin)'da ki bant yoğunluğunda ise azalış saptanmış, bu değişimlerin miyofibrilar proteinlerdeki proteolitik bozulmaya işaret ettiği bildirilmiştir. Miyosin bandında çok küçük bir azalış

belirlenmiş, bu değişime %10-20 Tris-Glisin jel ile yapılan SDS PAGE analizlerinde görülemeyen nebulin ve titin gibi yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin değişiminden kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüş, aktin bandında ise herhangi bir değişimin olmadığı saptanmıştır (Şekil 2.4). Soğuk dumanlama işlemi sonucunda miyosin bandında yüksek derecede azalmalar tespit edilmiş, iki yeni bant meydana gelmiş, 25 ve 70 kDa'da ki bantlar hariç diğer protein bantlarının yoğunluğunda artışlar görülmüş, oluşan bu değişimlerin tuzlama sonucu oluşan proteinlerdeki denatürasyondan da kaynaklanmış olabileceği ve dumanlama işleminin salmon kaslarındaki büyük peptitlerin parçalanarak yeniden düzenlenmesini artırdığı bildirilmiştir (Lung ve Nielsen, 2001).

Tuzlama işlemi sonucunda morina (*Gadus morhua*) balığının miyofibrilar proteinlerindeki değişimlerin elektroforetik yöntemle belirlendiği bir çalışmada, taze morina kaslarında 190 kDa'da kuvvetli miyosin zinciri, 45,6 kDa'da aktin ve 18-25 kDa aralığında da zayıf miyosin zinciri saptanmış, tuzlama ve depolama sonucunda kuvvetli miyosin zinciri ve aktinin yoğunluğunun azaldığı, bu azalışa paralel olarak proteinlerin denatürasyon özelliği nedeniyle miyosin molekülünün kuvvetli (130-140 kDa) ve zayıf (80 kDa) meromiyosin olmak üzere küçük alt parçalara ayrıldığı, aktinin ise miyosinden daha az etkilendiği belirlenmiştir (Thorarinsdottir vd., 2002).

Ladrat vd., (2003) tarafından deniz levreği (*D. labrax*) beyaz kaslarının miyofibrilar ve sarkoplazmik proteinleri belirlenmiş, SDS-PAGE analiz sonuçlarına göre; sarkoplazmik özütte 13 ve miyofibrilar özütte 14 ana protein bandı belirlenmiştir. Sarkoplazmik özütte 41-39 kDa arasında belirlenen geniş bantın Nakagawa vd., (1988) tarafından tanımlanmış olan kreatin kinaz ve aldolazın birleşmesiyle oluştuğu bildirilen bant, 36 kDa'ki bantın gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz ve 13 kDa ile 12 kDa'ki bantların ise parvalbumin olduğu bildirilmiştir (Ladrat vd., 2003). Miyofibrilar özütte güçlü miyosin zinciri yaklaşık 200 kDa'da, desmin 53 kDa'da, aktin 42 kDa'da, tropomiyosin yaklaşık 34 kDa'da ve troponin T 32 kDa'da belirlenmiş, protein bantlarına katepsin B, D ve L'nin bozucu etkisinin olduğu saptanmıştır (Ladrat vd., 2003).

Benzer bir çalışmada ise Hultman vd., (2004) tarafından farklı sıcaklıklarda soğuk dumanlanmış salmonların tuzda çözünebilen protein içeriğindeki değişimler SDS-PAGE kullanılarak belirlenmiş, 21,5 °C'de soğuk dumanlanmış salmonlarda diğer örneklerden farklı olarak 150 ve 170 kDa molekül ağırlığında iki bant saptanmış, dumanlama sıcaklığının 29 °C'ye çıkarılmasının miyosin zincirlerinin ve 20,1 kDa'daki protein bandının yoğunluğunda azalmaya neden olduğu, 21 °C'de dumanlanmış örneklerde görülen 150 ve 170 kDa'da görülen bantların ortaya çıkmadığı saptanmıştır. Soğuk dumanlama sonrası 7 gün depolanmış örneklerde de miyosin zincirlerinde azalmalar belirlenmiş, bu durumun, miyosin ve aktin miyofibrillar proteinlerini azaltma özelliği bilinen katepsin aktivitesinden kaynaklanabileceği ve soğuk dumanlama işleminin salmon kaslarındaki proteolitik aktiviteyi artırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (Hultman vd., 2004).

Chéret vd., (2006) tarafından deniz levreği (*D. labrax*) kaslarından elde edilen sarkoplazmik özütte 12, miyofibrillar özütte ise 8 temel protein bandı belirlenmiş, 200, 105, 42, 36 ve 34 kDa'daki protein bantlarının sırasıyla miyosin, α -aktinin, aktin, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz ve tropomiyosinin olduğu, 32 kDa'daki bantın katepsin B ve L tarafından tropomiyosinin bozulmasıyla oluştuğu bildirilmiştir.

Michalczyk ve Surówka (2007) tarafından, gravad gökkuşağı alabalığının hazırlanması ve depolanması sırasındaki protein fraksiyonlarındaki değişimler incelenmiştir. Taze gökkuşağı alabalığı kaslarında yapılan elektroforetik (SDS PAGE) analizler sonucunda 30 protein bandı izole edilmiştir. İlgili literatürlerdeki (Jasra vd., 2001; Lin ve Park, 1996; Ünlüsayın vd., 2001) verilere dayanarak, 215 kDa'daki bandın güçlü miyosin zinciri, 180 kDa'da M protein, 148 kDa'da C protein, 102 ve 107 kDa'da α -aktinin, 42,7 kDa'da aktin, 39,5 kDa'da β -tropomiyosin, 37,9 kDa'da troponin T, 35,6 kDa'da α -tropomiyosin ve 35 ile 17,6 kDa arasındaki bantların ise zayıf miyosin zinciri olduğu bildirilmiştir.

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kas proteinleri üzerine buzda depolama ve pişirme işleminin etkilerinin çalışıldığı bir araştırmada, elektroforetik protein örneklerinde önemli değişikliklerin olmadığı, ölüm sonrası düşük molekül ağırlıklı bir kaç peptidin oluşmasına neden olan sınırlı bir proteolizisin gerçekleştiği belirlenmiştir (Bauchart vd., 2007)

Godiksen vd., (2009) tarafından gökkuşağı alabalığının tekstürü ile katepsin B, L ve D'nin dağılımı arasındaki ilişki çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, alabalık kaslarında 31 miyofibrilar ve 26 sarkoplazmik kas fraksiyonu belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Balık Örneklerinin Hazırlanması

Araştırmada bölge su ürünleri yetiştiricilerinden temin edilen, ortalama ağırlığı 250–300 g olan 50 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Balıkların buzla soğutulmuş su bulunan tanklarda bekletilerek hızla ölmeleri sağlanmıştır. Balıklar strafor kutulara yerleştirildikten sonra üzerlerine poşet içerisinde kuru buz uygulayarak aynı gün Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Gıda Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvarda örneklerin iç organları uzaklaştırılıp derisiz filetoları çıkarılmış ve filetolar eşit ağırlıkta (yaklaşık 5 g) olacak şekilde kenarlarından kesilerek düzgün dikdörtgenler haline getirilmiştir.

3.2. Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması

Araştırmada kitosan esaslı yenilebilir biyofilm eldesinde yengeç kabuklarından üretilen orta vizkoziteye sahip ticari kitosan kullanılmıştır. Biyofilmlerin eldesinde 1,5 g kitosan tartılmış ve üzerine 100ml %1'lik asetik asit ilave edilmiştir. Kitosanın asetik asit içerisinde tamamen çözünmesi için çözelti 40°'de manyetik karıştırıcı üzerinde 30 dak. karıştırılmış, ardından plastikleştirici olarak 1,5g gliserol ilave edilmiş, tekrar manyetik karıştırıcıda aynı sıcaklık ve sürede karıştırma işlemine devam edilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Kitosan kaplama solüsyonunun eldesi

Elde edilen yenilebilir film solüsyonunda oluşan hava kabarcıklarının uzaklaştırılması amacıyla çözelti buhner hunisine aktarılmış ve vakum pompasıyla çözelti içindeki hava kabarcıkları uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kaplama solüsyonundaki hava kabarcıklarının uzaklaştırılması

Film solüsyonundan 100 ml alınarak strafor tabaklar içerisine dökülmüş (Şekil 3.3) film eldesi için 40°C'lik kuru havalı sterilizatörde 8 saat tutulduktan sonra (Şekil 3.4.) oda sıcaklığında soğutulmuş ve pens yardımıyla kaplama filmler tabaklar içerisinden çıkarılmıştır (Şekil 3.5.).



Şekil 3.3. Kaplama solüsyonunun strafor tabaklara dökülmesi



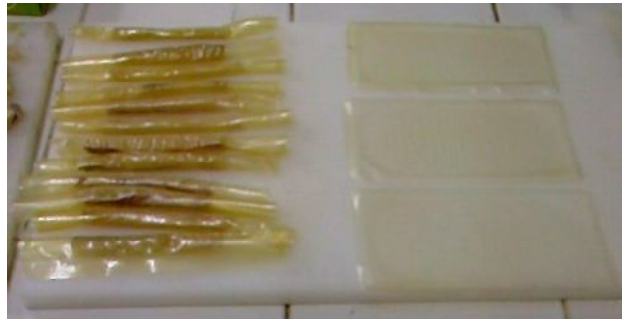
Şekil 3.4. Kuru havalı sterilizatörde filmlerin kurutulması



Şekil 3.5. Elde edilmiş yenilebilir kaplama filmi

3.3. Örneklerin Kaplanması

Daha önceden küçük parçalar halinde kesilmiş olan filetolar, ayrı ayrı yenilebilir kitosan filmler ile sarılmış, biofilmlerin uçları sıkıca sıkıştırılmış (Şekil 3.6.) ve vakum poşetlerine yerleştirilerek vakum işlemine tabi tutulmuştur.

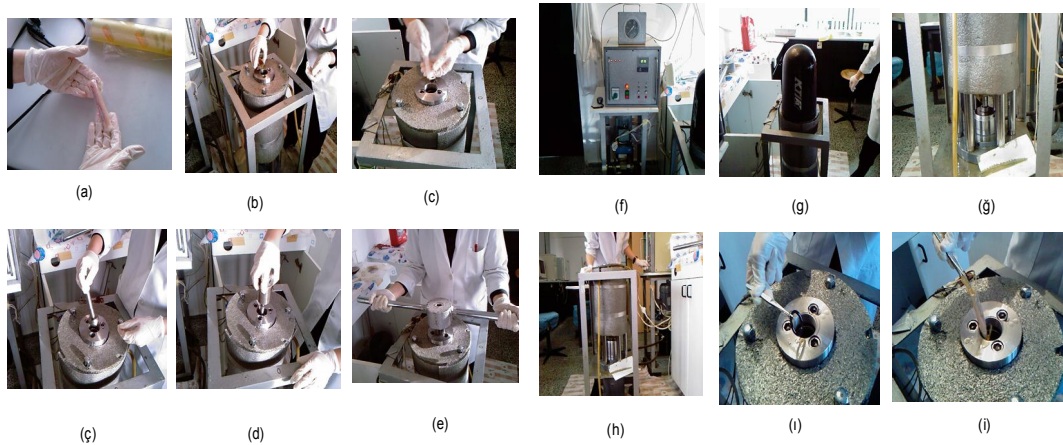


Şekil 3.6. Balık filetolarının kitosan yenilebilir film ile kaplanması

3.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulanması

Kullanılan Yüksek Hidrostatik Basınç makinesinin donanımı, silindir olarak tasarlanmıştır, kapalı uçlarda tutmaya yarayacak şekilde iki ucu kapalı bir basınç bölgesini ve ısı kontrol cihazını kapsamaktadır. Basınç uygulanan bölge, sıcak galvanizli karbon çeliğinden kurulmuştur. Pistonu ise Orta Doğu Teknik Üniversitesi Elektrik ve Elektronik Bölümünde gerekli hacimde yapıp krom kaplanarak serleştirilmiş ayrıca ayna perdahı ile cilalanmıştır (çelik-tipi ısı ile işlenmiş özel K). Hücreyi çevreleyen bir elektrikli ısıtma sistemi ile basınç vermeden önce kullanılan sıvı istenilen sıcaklığa kadar ısıtılmaktadır (Üretener, 2009).

Yenilebilir filmlerle kaplanıp vakumlanan filetolar streç filmle iyice sarıldıktan sonra starofor kutularda kuru buz ile muhafaza edilerek ODTÜ laboraturına getirildi. ODTÜ Gıda Mühendisliğinde bulunan Yüksek Hidrostatik Basınç Ünitesinde 220 MPa basınç altında 15°C'de 5 dak. yüksek basınç işlemi uygulanmıştır. Yüksek Hidrostatik Basınç ünitesinin ürün alma kapasitesi 30cm³, en fazla çıkabildiği basınç 500 MPa'dır. Basınç ünitesinde basınç iletiminde sıvı olarak motorin yağı kullanılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Yüksek hidrostatik basınç ünitesi ürün koyma aşaması. a. Ürünün streç film ile sarılması, b. Makineye motor yağı konulması, c. Ürünün yerleştirilmesi, ç. İnce milin takılması, d. Kalın milin takılması, e. Çarkın döndürülmesi f. Piston sisteminin ayarlanması, g. Sistemin çalıştırılması, g. Piston hareketleri, h. Basıncın düşürülmesi, ı. Contanın çıkarılması, i. Ürünün çıkarılması

3.5. Örneklerin Depolanması

Kitosan esaslı biofilmlerle kaplandıktan sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanmış filetolara raf ömrü ve diğer kalite analizlerinin yapılabilmesi için $+4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'lik soğutuculara yerleştirilip 4'er günlük aralıklarla analizleri yapılmıştır.

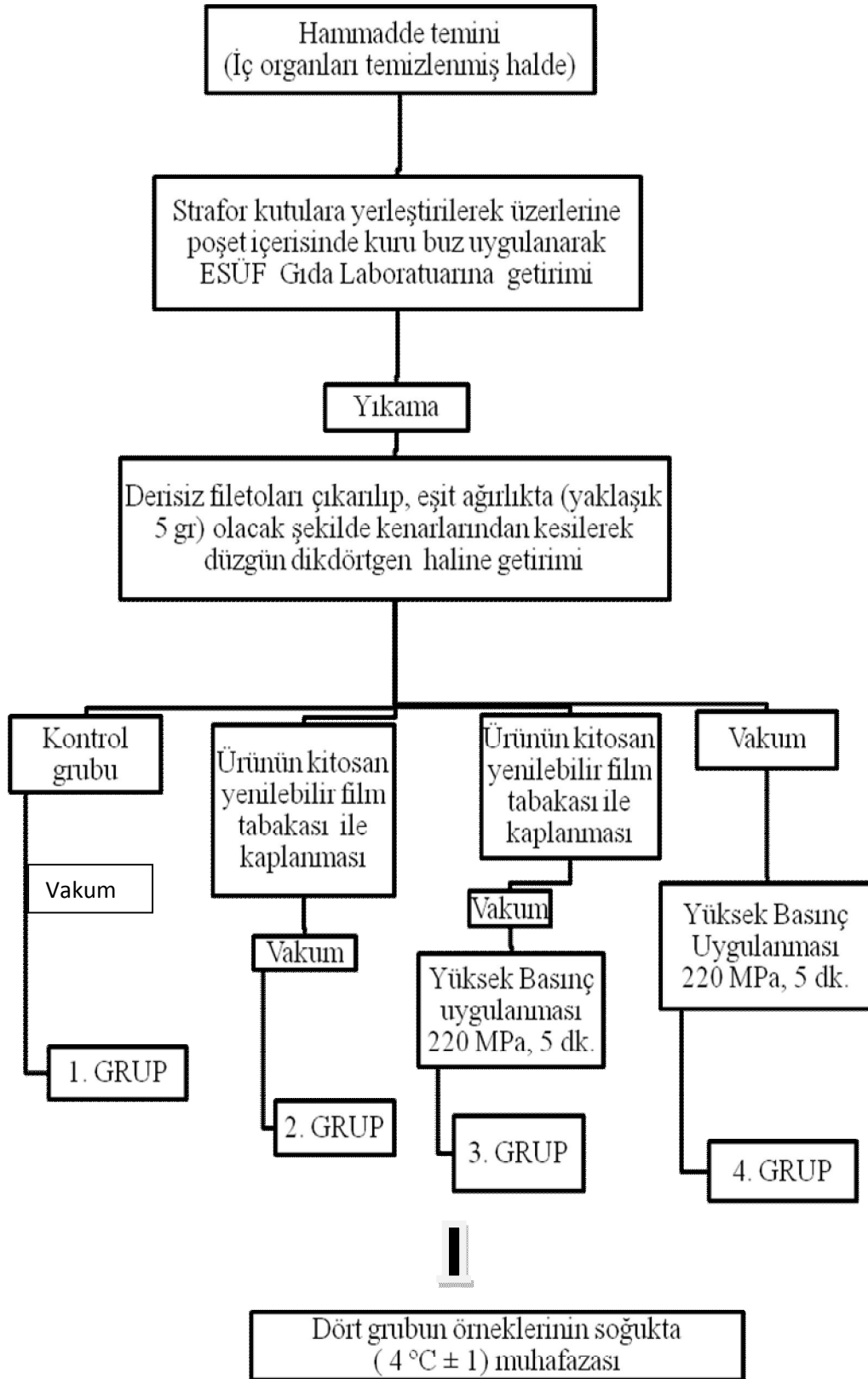
3.6. Deneme Planı

Çalışmada kullanılacak olan gökkuşağı alabalığı filetoları örnekleri farklı dört gruba ayrılmıştır. Deneme planı Çizelge 3' de belirtilmiştir.

Çizelge 3. Deneme planı

GRUPLAR		KOD
1	Kontrol (Vakum)	K
2	Yüksek Basınç + Vakum	YB
3	Kitosan Kaplama + Vakum	KFK
4	Yüksek Basınç + Kitosan Kaplama + Vakum	YB+KFK

3. 7. Akış Şeması



Şekil 3.8. Akış şeması

3.8. Kalite Kontrol Analizleri

3.8.1. Nem analizi

Tüm gruplardaki balık filetolarının; nem analizi END MX-50 otomatik nem tayin cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.8.2. pH analizi

Küçük parçalar haline getirilmiş örneklerden 3 tekrarlı olarak 5'er gram alınarak üzerine 45 ml saf su ilave edilip karışımın blendırda (Waring Blender, USA) 1 dakika homojenizasyonu sonrası pH metre (WTW 330i, Almanya) ile pH değerleri ölçülmüştür. pH metre ölçüm yapılmadan önce 4,00 ve 7,00'lık tampon çözeltileri ile kalibre edilmiştir.

3.8.3. Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizlerde; aseptik koşullarda steril pens, bisturi ve makas yardımı ile alınan 25 g örnek, 225 ml steril edilmiş buffer pepton water ile stomacher (Back mikser 400, Fransa) kullanarak homojenize edilip 10^{-6} 'ya kadar dilusyon sıvıları hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik ekimler dökme plak yöntemine göre yapılmıştır. Toplam Mezofilik Mikroorganizma Sayısı (TMA) Plate Count Agar (PCA) kullanılarak $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saatlik inkubasyon sonunda, Toplam Psikrofilik Mikroorganizma Sayısı (TPA) PCA kullanılarak $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 günlük inkubasyon sonunda, Koliform Sayısı Violet Red Bile Agar (VRB) kullanılarak $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saatlik inkubasyon sonunda ve Maya-Küf sayısı da Yeasty Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGC) kullanılarak $22\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 4 günlük inkubasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı ile belirlenmiştir (Anonim, 1979; Anonymous, 1994; Refai, 1979; Arslan vd., 1997; ICMSF, 1978; Baumgart vd. 1993;Varlık vd., 1993).

3.8.4. Thiobarbitürik asit indeks (TBA-i) değerin belirlenmesi

Thiobarbiturik asit indeks (TBA-i) değerin belirlenmesinde Erkan ve Özden (2007) tarafından verilen kolorimetrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Hassas terazi ile 2 g örnek tartılıp üzerine % 0,1'lik 100 µl BHT (etanol de 1g/L) ve %5'lik 25 ml TCA eklenerek Ultra-Turrax ile orta devirde karıştırılarak parçalara ayrılması sağlanmıştır. Karışım Whatman No 1 filtre kâğıdından süzölmüş, süzöntüden 5 ml alınarak üzerine 5 mL yeni hazırlanmış TBA reaktifi eklenerek ağzı sıkıca kapatılmıştır. Tüpler 40 dakika su banyosunda (Memmert, WB 22, GERMANY) 95°C'de reaksiyonun oluşması için bekletilmiştir. Aynı işlem bir seri hazırlanmış olan MDA standartı [Malondialdehyde bis (diethylacetal) (1,1,3,3-Tetraethoxypropan (TEP))] ve körede uygulanmıştır. Tüpler iyice soğuduktan sonra standartlar ve örnekler köre karşı spektrofotometrede 532 nm de okuma işlemi tamamlanmıştır. Spektrofotometrede okunan örnek sonuçları standartların regresyon eğrisi denklemi üzerinden hesaplanarak TBA-i (µg malonaldehyd [MDA]/mL) konsantrasyonu bulunarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{TBA-i } (\mu\text{g MDA/g}) = \text{MDA } (\mu\text{g MDA/mL}) \times 25 \text{ mL} / \text{Örnek Ağırlığı (g)}$$

3.8.5. Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) değeri

Örneklerin toplam uçucu bazik azot miktarı Antonacopoulos ve Vyncke (1989) tarafından bildirilen yönteme göre belirlenmiştir. 10 g balık kası %6'lı 90ml perklorik asit (Merck 100518) ile 1 dk blendır (Waring, USA) kullanarak homojenize edilmiştir. Homojenat filtre kağıdı (Whatman no. 1) ile süzölmüş ve en az 7 gün buzdolabında bekletilmiştir. Buhar distilasyon işlemi öncesi 50ml süzöntü alınmış, üzerine 7 damla fenolfitaleyn damlatılmış ve yeterince %20'lik NaOH (Sigma-Aldrich 06203) kullanılarak mor menekşe rengin oluşması beklenmiştir. Ayrıca süzöntüye, distilasyon işlemi sırasında köpük oluşumunun engellenmesi için birkaç damla silikon köpük önleyici damlatılmıştır. Destilat toplama erleninin içine 100ml %3'lük borik asit çözeltisi konmuş ve tam otomatik buhar destilasyon cihazı kullanılarak 10 dk'da 100 ml destilat

birikecek şekilde distilasyon işlemi tamamlanmıştır. Borik asit içerisinde biriktirilen destilat 0.01 N HCl (Sigma-Aldrich 07102) ile pH dönüm noktası 5 kabul edilerek otomatik titratör yardımıyla titre edilmiş ve toplam sarf edilen HCl'den aşağıdaki formül kullanılarak TVB-N miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{TVB-N (mg/100g)} = (\text{HCl Sarfıyatı} \times 0,14 \times 2 \times 100) / \text{Örnek Ağırlığı}$$

3.8.6. Kas proteinlerdeki değişimlerin tespiti

3.8.6.1. Sarkoplazmik ve miyofibrilar kas proteinlerinin ekstraksiyonu

Balık filetolarındaki miyofibrilar ve sarkoplazmik proteinlerin ekstraksiyonu Chen ve Hwang (2002) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır. Ekstraksiyonda iki farklı fosfat tamponu kullanılmıştır. Bunlar; 15.6mM Na₂HPO₄ – 3.5mM KH₂PO₄ (I = 0.05, pH 7,5) ve 0.45M KCl – 15.6mM Na₂HPO₄ – 3.5mM KH₂PO₄ (I = 0,5, pH 7,5)'dür. Ayrıca ekstraksiyon sonrası SDS PAGE analizleri yapılana dek proteaz aktivitesi ve mikrobial gelişimin engellenmesi için 0,1 mM fenilmetilsülfanil florit (PMSF), 10 mM EDTA ve 0.01% (w/v) sodyum azid ilave edilmiştir. Sağ filetodan alınan 3g örnek üç kat fosfat tamponu (I = 0.05, pH 7,5) ile 1 dakika homojenize edilmiştir. Tekrar üç kat fosfat tamponu (I = 0.05, pH 7,5) ile 1 dakika homojenize edilmiş, homojenat soğutmalı santrifüjde 4000xg'de 25 dakika santrifüj edilmiş süpernatant alınarak sarkoplazmik protein fraksiyonu olarak kullanılmıştır. Yukarıdaki işlemler sonucunda elde kalan çöküntü, 3 kat 0.45M KCl-fosfat tamponu (I = 0,5, pH 7,5) ile köpürmesi engellenerek 2 dakika homojenize edilmiş ve işlem ikinci kez tekrarlanmıştır. Miyofibrilar özüt soğutmalı santrifüjde 4000xg'de 25 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant alınarak miyofibrilar protein fraksiyonu olarak kullanılmıştır.

3.8.6.2. Toplam mikro protein tayini

Örneklerin toplam protein konsantrasyonu, Sigma TP0300 Mikroprotein Kit kullanılarak Lowry vd., (1951) ve Peterson (1977) tarafından bildirilen yöntemle belirlenmiştir.

Deneyin prensibi, proteinlerle tepkimeye giren ajanın (reagent), alkali ortamda mavi-menekşe renk kompleksi oluşturması ve oluşan bu renk kompleksinin spektrofotometrede absorbansının okunması temeline dayanmaktadır (Lowry vd., 1951; Peterson, 1977). Uygun şekilde etiketlenen test tüplerine 1ml'sinde 400 µg/ml protein olacak şekilde sulandırılmış standartdan aşağıdaki miktarlarda hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2. Standart eğrinin eldesinde kullanılan protein miktarları

Protein standart solüsyon (ml)	Saf su (ml)	Protein konsantrasyonu (µg/ml)
0,125	0,875	50
0,250	0,750	100
0,500	0,500	200
0,750	0,250	300
1,000	0	400

Kör deney için de bir deney tüpüne 1 ml saf su eklenmiş, diğer deney tüplerine de 1 ml örnek alınmıştır. Standarda, köre ve örnek tüplerine 1 ml Lowry Reagent çözeltisi ilave edilerek iyice karıştırılmış, çözeltiler 20 dakika oda sıcaklığında bırakılarak her tüpe Folin Ciocalteu's Phenol Reagent çalışma solüsyonundan 5'er ml ilave edilerek renk oluşumu için 30 dakika beklenmiştir. Spektrofotometre küvetlerine alınan solüsyonlar, spektrofotometre (Shimadzu UV-1201V, Japonya)'de 500 ile 800 nm arasındaki bir dalga boyunda köre karşı örnek ve standart tüplerin absorbansları ölçülerek 30 dakika içinde tüm absorbansların okunma işlemi tamamlanmıştır. Hazırlanmış bir kalibrasyon eğrisine karşılık gelen protein konsantrasyonlarına karşı standartların absorbans değerleri kodlanarak örneklerin protein içeriği µg/ml cinsinden belirlenmiştir (Lowry vd., 1951; Peterson, 1977).

3.8.6.3. Elektroforetik analizler (SDS-PAGE)

Elektroforez işleminde Laemmli (1970) yöntemi esas alınarak SDS-PAGE elektroforez tipi uygulanmış ve dikey tip elektroforez cihazı (Bio-Rad, Mini-Protean II Cell, USA) kullanılmıştır.

Kullanılan stok çözeltiler

Akrilamid + N.N'-Metilen Bis Akrilamid stoğu (%30 T, %2,67 C): 87,6 g acrylamide (29,2 g/100 ml) ve 2,4 g N'N'-bis-methylene-acrylamide (0,8 g/100 ml) tartılıp bir miktar distile suda eritilmiş ve son hacim 300 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti Whatman No-1 filtre kağıdından süzülerek 300 ml'lik renkli cam şişede +4 °C'de (en çok 30 gün) saklanmıştır.

Ayırma jel tamponu (1.5 M Tris-HCl, pH 8,8): 27,23 g Tris bazı (18,15 g/100 ml) 80 ml deiyonize suda çözündürülüp, 6 N HCl ile pH 8,8'e ayarlanmış ve son hacim deiyonize su ile 150 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti Whatman No-1 filtre kağıdından süzülerek renkli cam şişede +4 °C'de saklanmıştır.

Yığma jel tamponu (0,5 M Tris-HCl, pH:6,8): 6 g tris bazı, 60 ml deiyonize suda çözülerek 6 N HCl ile pH 6,8'e ayarlanmış ve son hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti Whatman No-1 filtre kağıdından süzülerek renkli cam şişede +4 °C'de saklanmıştır.

%10 SDS: 10 g SDS 90 ml distile suda çözündürülmüş ve son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Örnek Tamponu:

Deionize su	3,8 ml
0.5 M Tris-HCl, pH 6,8	1,0 ml
Gliserol	0,8 ml
%10 (w/v) SDS	1,6 ml
2-β Mercaptoetanol	0,4 ml
%1 (w/v) bromophenol blue	0,4 ml
Toplam hacim	8,0 ml

Koşturma tamponu (5X) pH 8,3 : 9 g tris bazı, 43,2 g glisin ve 3 g SDS tartılıp 600 ml deiyonize saf suda çözündürülmüştür. Elektroforetik koşturma için, 60 ml 5X stok tampondan alınarak son hacim deiyonize saf su ile 250 ml'ye tamamlandıktan sonra koşturma işlemi için kullanılmıştır.

Boyama çözeltisi:

Coomassie brilant blue	1,50 g
İzopropil alkol	250,00 ml
Asetik asit	100,00 ml
Distile su	650,00 ml

Boya çözüldükten sonra Whatman No-1 filtre kağıdından süzülerek renkli cam şişede oda sıcaklığında saklanmıştır.

Boya çıkarıcı çözelti: Aşağıda miktarları verilen maddeler karıştırılmış ve renkli cam şişede oda sıcaklığında saklanmıştır.

İzopropil alkol	250,00 ml
Glasial asetik asit	100,00 ml
Distile su	650,00 ml

Protein satandardı: Proteinlerin molekül ağırlıklarını hesaplamak için eriyebilir, liyofilize protein standardı (Sigma Cat. No: S8445) kullanılmıştır. Kitte bulunan proteinler ve molekül ağırlıkları sırasıyla aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.3. SDS PAGE'de kullanılan markırın protein içeriği

Proteinler	Molekül ağırlığı
Sığır akciğer aprotinin	6500
Sığır süt α -lactalbumin	14200
Soya tripsin inhibitor	20000
Sığır pankreas trypsinogen	24000
Sığır eritrosit karbonik anhidraz	29000
Fare kası glyceraldehyde-3-fosfat dehidrogenaz	36000
Tavuk yumurtası ovalbumin	45000
Sığır karaciğeri glutamic dehidrogenaz	55000
Sığır serum albumini	66000
Fare kası B fosforilaz	97000
<i>E. coli</i> β -galaktosidaz	116000
Fare kası miyozin	205000

Elektroforez için protein örneklerinin hazırlanması

Özütlendikten sonra -80°C'lik (Operon, Kore) dondurucuda depolanmış sarkoplazmik ve miyofibrillar kas protein örnekleri dondurucudan çıkarılarak, 10000 g'de 15 dakika santrifüj (Sigma 2-16K, Almanya) edilmiştir. Yapılan toplam mikropoten analiz sonuçlarına göre hesaplanan protein içeriğine göre her kuyucuğa 10µg protein gelecek şekilde uygun miktarda süpernatant kısmından 1 hacim örnek alınarak 3 hacim SDS-PAGE örnek tamponu alınarak karıştırılmıştır. SDS PAGE için hazırlanan örnekler 4 dakika 95 °C'de kaynatılarak protein denatürasyonu tamamlanmıştır.

Elektroforezin yapılışı ve değerlendirilmesi

Ayırma jelinin hazırlanmasında;	
Deionized su	3,35 ml
1,5 M Tris-HCl< pH 8,8	2,50 ml
%10 (w/v) SDS stok solüsyon	100 µl
Akrilamid/bis akrilamid (%30)	4,00 ml
%10 Amonyum persülfat (APS) (Taze hazırlanmış)	50 µl
Tetra etil metilen diamin (TEMED)	5 µl

Maddeler temiz bir beher içerisinde karıştırıldıktan sonra 0,75 mm aralığa sahip iki cam arasına dökülmüştür. Hava ile teması önlemek için üst kısım saf su ile kapatılarak polimerize olması için beklenilmiştir.

Yığma jelinin hazırlanmasında;	
Deiyonize saf su	6,10 ml
0.5 M Tris-HCl, pH 6,8	2,50 ml
%10 (w/v) SDS stok solüsyon	100 µl
Akrilamid/bis akrilamid (%30)	1,33 ml
% 10 Amonyum persülfat (APS) (Taze hazırlanmış)	50 µl
Tetra etil metilen diamin (TEMED)	10 µl

Bu karışım polimerize olan ayırma jelin üzerindeki distile su alındıktan ve tarak yerleştirildikten sonra dökülmüştür. Polimerizasyon oluştuktan sonra tarak

ıkarılarak karışım tanka yerleştirilmiştir. Tarağın oluşturduğu çukurlukların seviyesini geçecek şekilde koşturma tamponu doldurulmuştur.

Elektroforezin yapılışı ve jellerin boyanmasında; proteinler SDS-PAGE’de 20-35 mA’de ortalama 1 saat koşturulmuştur (Bio-Rad PowerPac 5000, USA). Elektroforez bittikten sonra jeller Coomassie Brilliant Blue R-250 boyası içinde bir gece bekletilerek boyanmıştır. Daha sonra boya çıkarıcı solüsyon içine bırakılan ve jellerin zemininde bulunan boyanın çıkması sağlanmıştır. Son olarak %7’lik asetik asit içerisinde saklanan jeller, ışıklı beyaz bir tablo üzerine konarak karanlık bir oda da fotoğrafları çekilmiştir. Çekilen fotoğraflar ayrı ayrı Image J programı kullanılarak dansiyometrik analizleri yapılmış ve molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin her birinin rf değeri bulunmuştur. Microsoft Exccel’de Rf değeri apsise, proteinlerin logaritması alınmış molekül ağırlıkları da ordinata yerleştirilerek grafik çizilmiş ve formül hesaplanmıştır. Hesaplanan bu formülde her bir örneğın rf değeri yazılarak molekül ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.9. İstatistiksel Analizler

Araştırmada kullanılan raf ömrü analizleri 3 paralel olarak yapılmıştır. Analiz sonuçlarının ortalamaları standart hataları ile birlikte verilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, SPSS 16.0 Windows programı kullanılarak varyans analizine (F Testi) tabi tutulup, önemli varyans kaynaklarına ait ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile önem seviyesi P=0.05 olarak seçilip karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

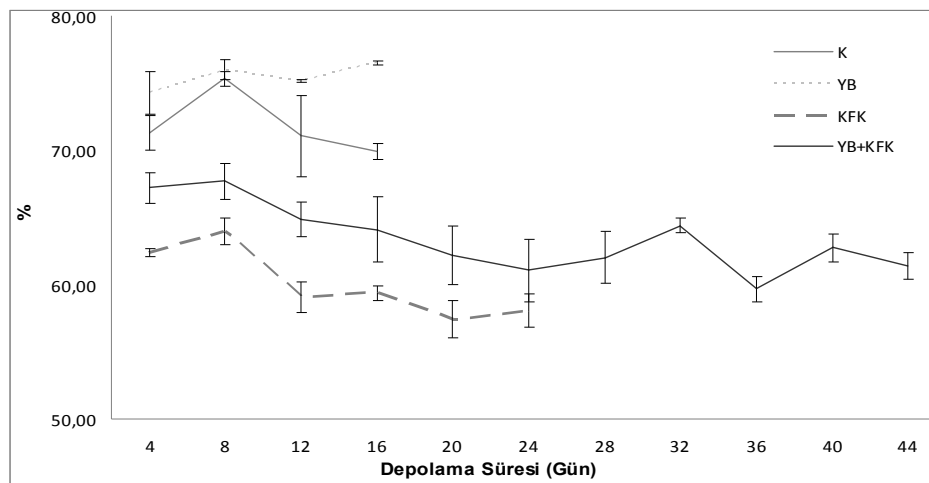
4.1. Nem Analiz Sonuçları

Kontrol (K), yüksek basınç uygulanmış (YB), kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplanmış (KFK) ve filmle kaplandıktan sonra yüksek basınç uygulanmış (YB+KFK) gökkuşuğu alabalığı filetoalarının buzdolabı şartlarında (+4°C) depolanması sonucunda nem içeriğinde oluşan değişimler Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Araştırmada nem analizi sonuçlarına göre, K ve YB grubunda depolamaya bağlı önemsiz ($P \geq 0,05$) değişimler, KFK ve YB+KFK gruplarında ise önemli ($P \leq 0,05$) azalışlar belirlenmiştir. Nem içeriği depolama başlangıcında en yüksek YB grubunda, en düşük ise KFK grubunda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Nem analizi sonuçları (%)

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	71,28±1,31 ^{Aa}	74,24±1,60 ^{Aa}	62,39±0,31 ^{Cab}	67,18±1,10 ^{Bab}
8	75,31±0,52 ^{Aa}	75,98±0,72 ^{Aa}	63,98±1,01 ^{Ca}	67,71±1,32 ^{Ba}
12	71,04±3,05 ^{Aa}	75,16±0,07 ^{Aa}	59,07±1,17 ^{Cbc}	64,88±1,28 ^{Babc}
16	69,89±0,61 ^{Ba}	76,49±0,18 ^{Aa}	59,37±0,58 ^{Cbc}	64,07±2,44 ^{Babc}
20			57,41±1,40 ^{Ac}	62,14±2,19 ^{Abc}
24			58,03±1,24 ^{Ac}	61,07±2,33 ^{Ac}
28				62,01±1,93 ^{bc}
32				64,37±0,54 ^{abc}
36				59,66±0,96 ^c
40				62,72±1,09 ^{abc}
44				61,41±0,99 ^c

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ($P < 0,05$)



Şekil 4.1. Nem analizi sonuçları

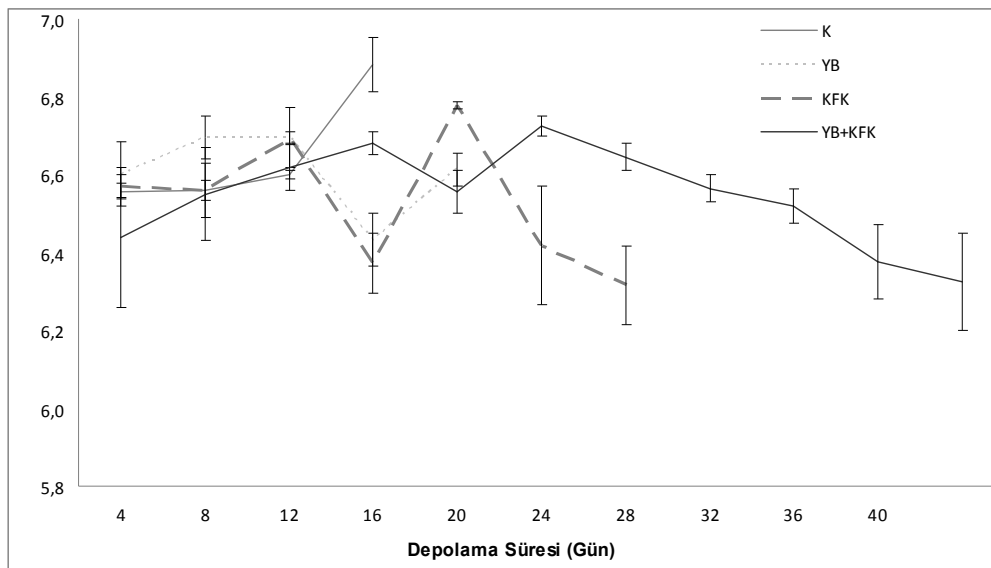
4.2. pH Analiz Sonuçları

Kontrol (K), yüksek basınç uygulanmış (YB), kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplanmış (KFK) ve filmle kaplandıktan sonra yüksek basınç uygulanmış (YB+KFK) gökkuşuğu alabalığı filetoalarının buzdolabı şartlarında (+4°C) depolanması sonucunda pH değerindeki değişimler Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Araştırmada pH değeri, K grubu hariç diğer grupların tamamında önemsiz ($P \geq 0,05$) değişimler tespit edilmiştir. K grubunda ise önemli bir artış ($P \leq 0,05$) belirlenmiştir. pH değeri depolama başlangıcında en yüksek YB grubunda, en düşük ise YB+KFK grubunda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. pH analiz sonuçları

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	6,56±0,02 ^{Ab}	6,60±0,08 ^{Aa}	6,57±0,03 ^{Aa}	6,44±0,18 ^{Aa}
8	6,56±0,03 ^{Ab}	6,70±0,06 ^{Aa}	6,56±0,07 ^{Aa}	6,55±0,12 ^{Aa}
12	6,60±0,0 ^{Ab}	6,70±0,08 ^{Aa}	6,69±0,02 ^{Aa}	6,62±0,06 ^{Aa}
16	6,88±0,07 ^{Aa}	6,43±0,07 ^{Aa}	6,37±0,08 ^{Ba}	6,68±0,03 ^{Aa}
20			6,78±0,01 ^{Aa}	6,56±0,06 ^{Ba}
24			6,42±0,15 ^{Ba}	6,73±0,02 ^{Aa}
28				6,65±0,03 ^a
32				6,57±0,03 ^a
36				6,52±0,04 ^a
40				6,38±0,09 ^a
44				6,33±0,13 ^a

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir ($P < 0,05$)



Şekil 4.2. pH analiz sonuçları

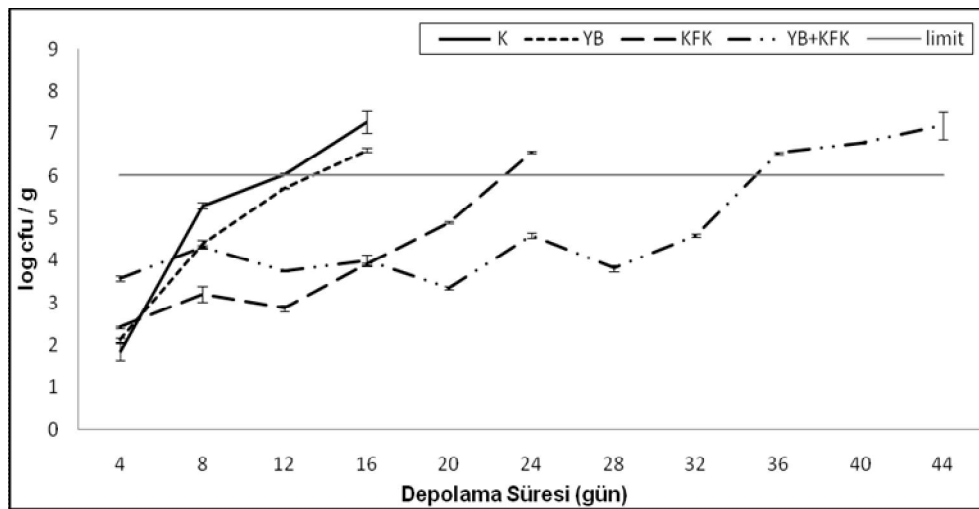
4.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Gökkuşığı alabalığı filetolarının buzdolabı şartlarında mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi için yapılan toplam mezofilik mikroorganizma (TMM) sayısı Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3, toplam psikrofilik mikroorganizma (TPM) sayısı Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te verilmiştir. TMM sayısı depolama başlangıcında en düşük K grubunda, en yüksek ise YB+KFK grubunda tespit edilmiştir. Depolamaya bağlı olarak tüm deneme gruplarında, TMM ve TPM sayılarında önemli ($P \leq 0,05$) artışlar bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Toplam mezofilik mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	1,84±0,21 ^{Cd}	2,12±0,05 ^{BCe}	2,42±0,02 ^{Bf}	3,57±0,06 ^{Afg}
8	5,29±0,07 ^{Ac}	4,39±0,10 ^{Bd}	3,20±0,19 ^{Cd}	4,31±0,04 ^{Bcd}
12	6,03±0,03 ^{Ab}	5,70±0,01 ^{Bc}	2,86±0,07 ^{De}	3,75±0,03 ^{Cef}
16	7,27±0,26 ^{Aa}	6,60±0,06 ^{Bb}	3,91±0,03 ^{Cc}	3,99±0,13 ^{Cde}
20		8,39±0,05 ^{Aa}	4,89±0,03 ^{Bb}	3,34±0,05 ^{Cg}
24			6,55±0,02 ^{Aa}	4,58±0,05 ^{Bc}
28				3,80±0,09 ^{ef}
32				4,59±0,04 ^c
36				6,53±0,02 ^b
40				6,77±0,02 ^b
44				7,18±0,33 ^a

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir ($P < 0,05$)

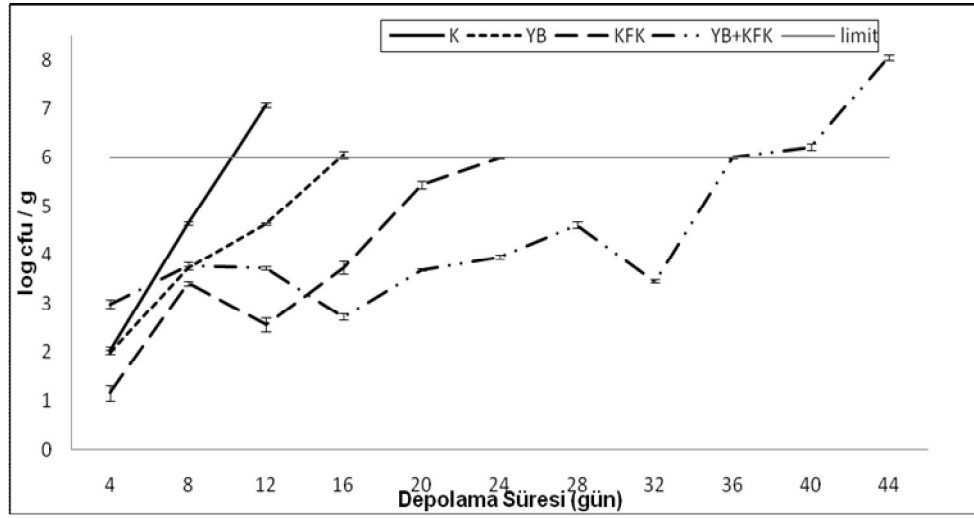


Şekil 4.3. Toplam mezofilik mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları

Çizelge 4.4. Toplam Psikrofilik Mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	2,03±0,08 ^{Bc}	1,99±0,05 ^{Be}	1,16±0,16 ^{Ce}	2,99±0,09 ^{Ah}
8	4,65±0,03 ^{Ab}	3,73±0,04 ^{Bd}	3,41±0,05 ^{Cc}	3,77±0,08 ^{Bf}
12	7,08±0,06 ^{Aa}	4,63±0,02 ^{Bc}	2,56±0,14 ^{Dd}	3,72±0,04 ^{Cf}
16		6,05±0,08 ^{Ab}	3,74±0,14 ^{Bc}	2,72±0,06 ^{Ca}
20		7,45±0,03 ^{Aa}	5,45±0,08 ^{Bb}	3,70±0,03 ^{Cf}
24			6,00±0,02 ^{Aa}	3,95±0,04 ^{Be}
28				4,62±0,07 ^d
32				3,46±0,03 ^g
36				6,01±0,02 ^c
40				6,22±0,06 ^b
44				8,05±0,05 ^a

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (P<0.05)



Şekil 4.4. Toplam Psikrofilik Mikroorganizma sayısı (log cfu/g) sonuçları

Mikrobiyolojik çalışmalar kapsamın da tüm demene gruplarında maya-küf ve koliform araması yapılmış, ancak hiçbir grupta da tespit edilememiştir.

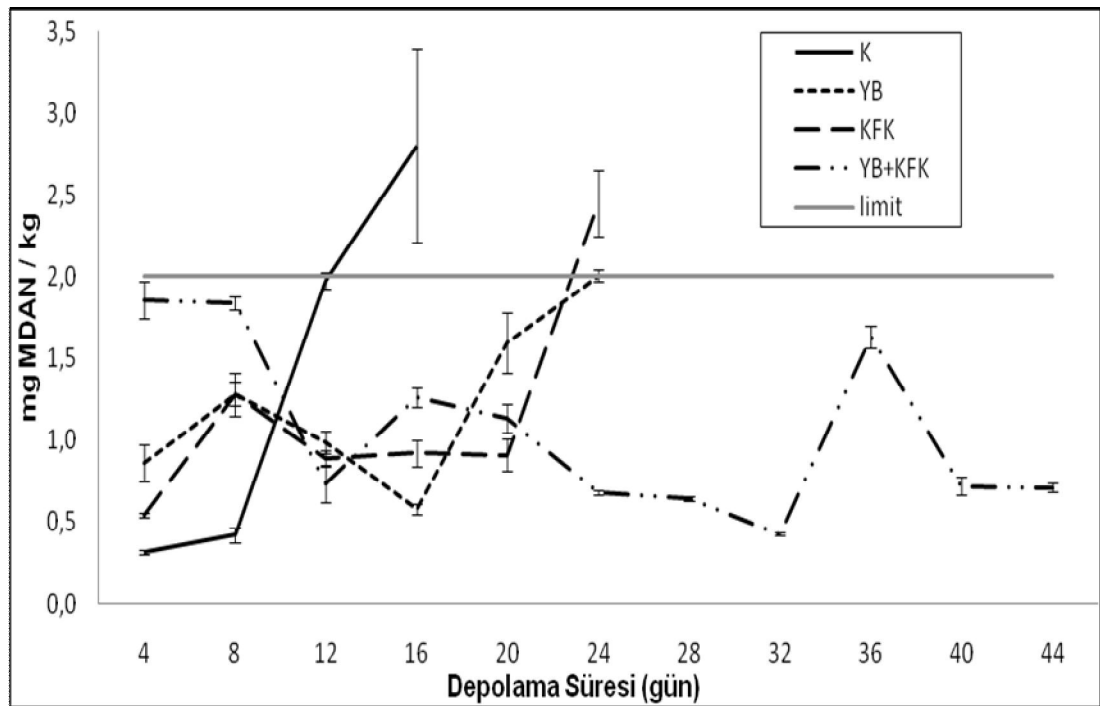
4.4. Thiobarbitürik Asit İndeks (TBA-i) Değeri Sonuçları

Balık etlerinde lipit oksidasyonunun göstergesi olan TBA-i değeri depolama başlangıcında, en düşük K örneklerinde ($0,32 \pm 0,01$), en yüksek YB+KFK grubu örneklerde ($1,86 \pm 0,12$) tespit edilmiştir. TBA-i değeri K, YB ve KFK grubu örneklerinde depolamaya bağlı olarak önemli ($P \leq 0,05$) artışlar bulunmuşken YB+KFK grubunda ise düzensiz değişimler tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.5. TBA-i değeri sonuçları

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	0,32±0,01 ^{Cb}	0,86±0,12 ^{Bde}	0,54±0,02 ^{Cd}	1,86±0,12 ^{Aa}
8	0,42±0,05 ^{Cb}	1,28±0,13 ^{Bbc}	1,28±0,07 ^{Bb}	1,84±0,04 ^{Aa}
12	1,98±0,05 ^{Aa}	0,99±0,07 ^{Bcd}	0,89±0,05 ^{BCc}	0,73±0,11 ^{Cd}
16	2,80±0,59 ^{Aa}	0,58±0,03 ^{Be}	0,92±0,08 ^{Bc}	1,26±0,06 ^{Bc}
20		1,60±0,19 ^{Ab}	0,91±0,10 ^{Bc}	1,14±0,09 ^{Bc}
24		2,01±0,04 ^{Ba}	2,45±0,21 ^{Aa}	0,68±0,02 ^{Cd}
28				0,64±0,01 ^d
32				0,43±0,01 ^e
36				1,63±0,07 ^b
40				0,72±0,06 ^d
44				0,71±0,03 ^d

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)



Şekil 4.5. TBA-i sonuçları

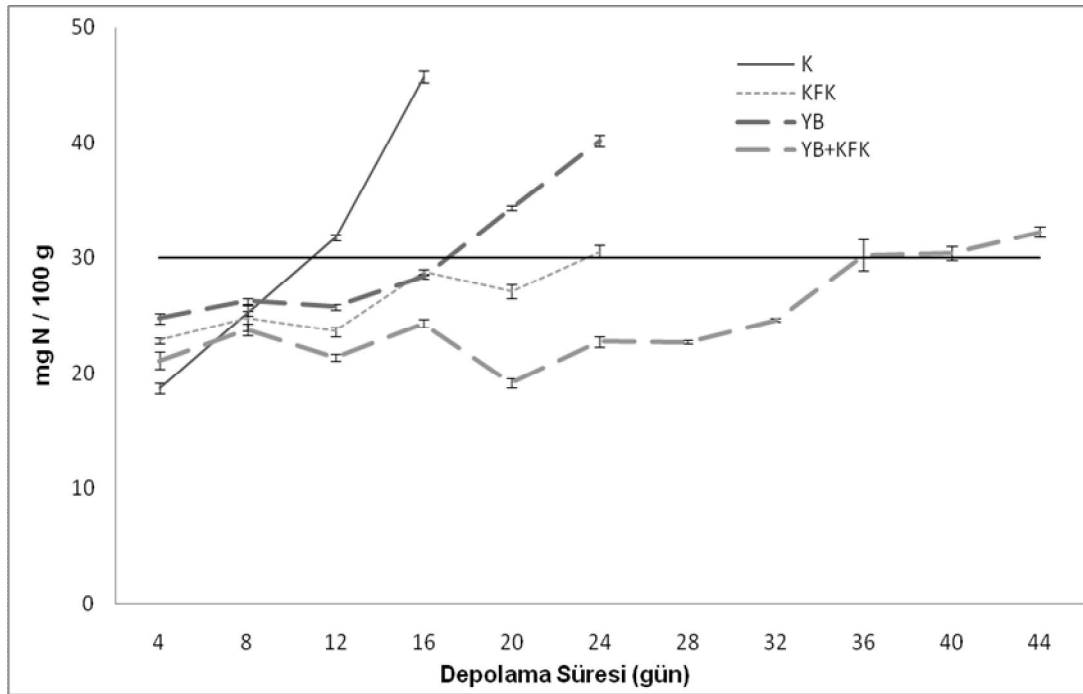
4.5. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analiz Sonuçları

TVB-N değeri depolama başlangıcında, en düşük K grubunda ($18,67 \pm 0,48$ mg/100 g), en yüksek YB grubunda ($24,75 \pm 0,49$ mg/100 g) bulunmuştur. Tüm deneme gruplarında depolamaya bağlı olarak TVB-N içeriğinde önemli ($P \leq 0,05$) artışlar belirlenmiştir. Ancak YB+KFK grubundaki artış diğer gruplara göre daha azdır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6).

Çizelge 4.6. TVB-N analiz sonuçları (mg/100g kasta)

Gün	K	YB	KFK	YB+KFK
4	18,67±0,48 ^{Dd}	24,75±0,49 ^{Ae}	22,82±0,21 ^{Bc}	21,11±0,71 ^{Ce}
8	25,20±0,19 ^{ABc}	26,25±0,21 ^{Ad}	24,75±1,12 ^{ABc}	23,80±0,48 ^{Bcd}
12	31,84±0,26 ^{Ab}	25,74±0,29 ^{Bde}	23,59±0,44 ^{Cc}	21,37±0,28 ^{De}
16	45,77±0,50 ^{Aa}	28,37±0,19 ^{Bc}	28,78±0,21 ^{Bab}	24,35±0,35 ^{Ccd}
20		34,36±0,19 ^{Ab}	27,12±0,63 ^{Bb}	19,17±0,41 ^{Cf}
24		40,20±0,47 ^{Aa}	30,54±0,56 ^{Ba}	22,76±0,46 ^{Cde}
28				22,71±0,19 ^{de}
32				24,65±0,15 ^c
36				30,30±1,35 ^b
40				30,47±0,60 ^b
44				32,29±0,49 ^a

Aynı sütunda küçük harflerle ve aynı satırda büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (P<0.05)

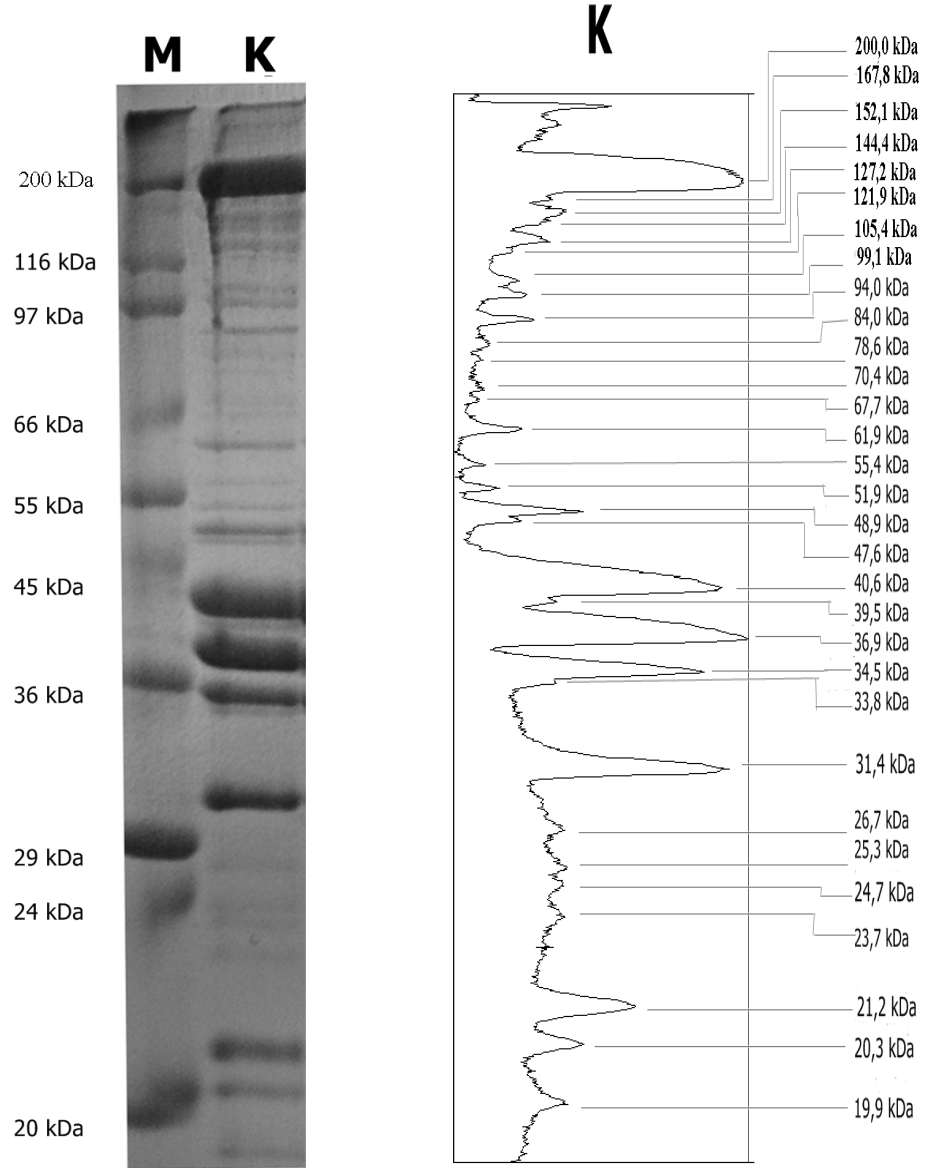


Şekil 4.6. TVB-N analiz sonuçları (mg/100g kasta)

4.6. Elektroforetik Analiz Sonuçları

4.6.1. Miyofibrilar kas proteinleri

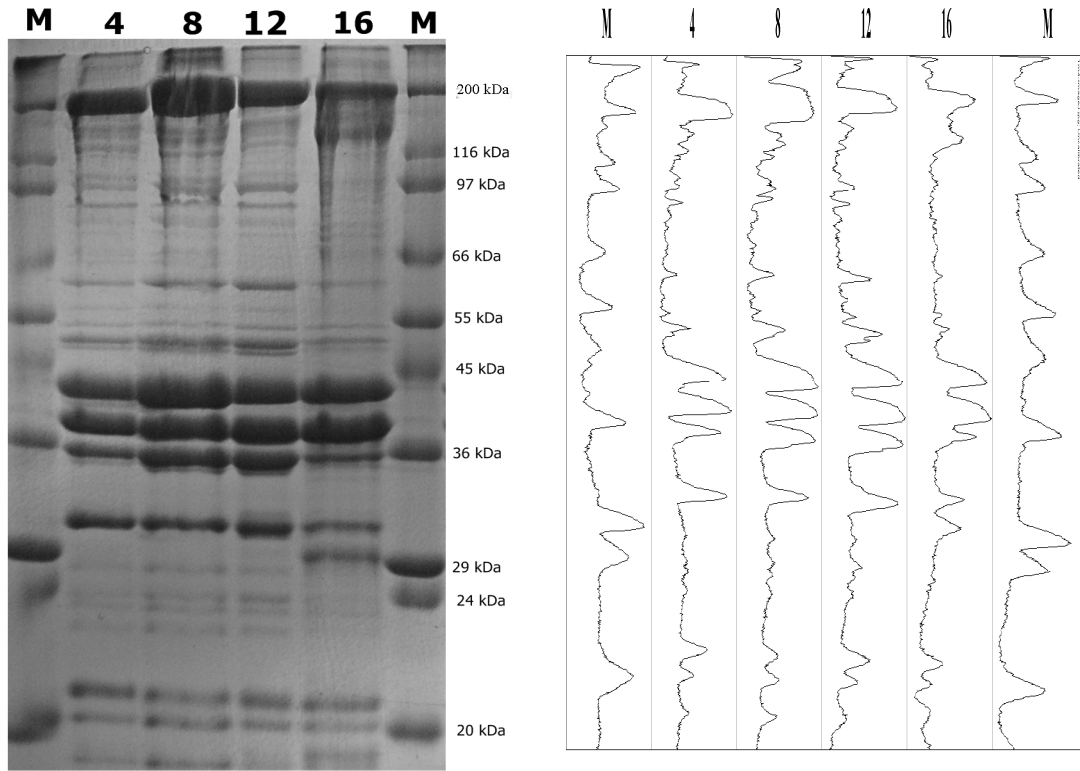
Taze gökkuşağı alabalığı filetolarında, SDS PAGE yöntemiyle elde edilen jel ve jelin dansitometre analiz sonucuna göre belirlenen miyofibrilar proteinler ve moleköl ağırlıkları (kDa) Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. SDS PAGE analizi ve dansitometre analiz sonucunda taze (K) örnekte belirlenen miyofibrilar kas proteinleri

Gökkuşağı alabalığı filetolarının depolamaya bağlı olarak miyofibrilar proteinlerindeki değişimleri belirlemek için yapılmış SDS PAGE ve elde edilen

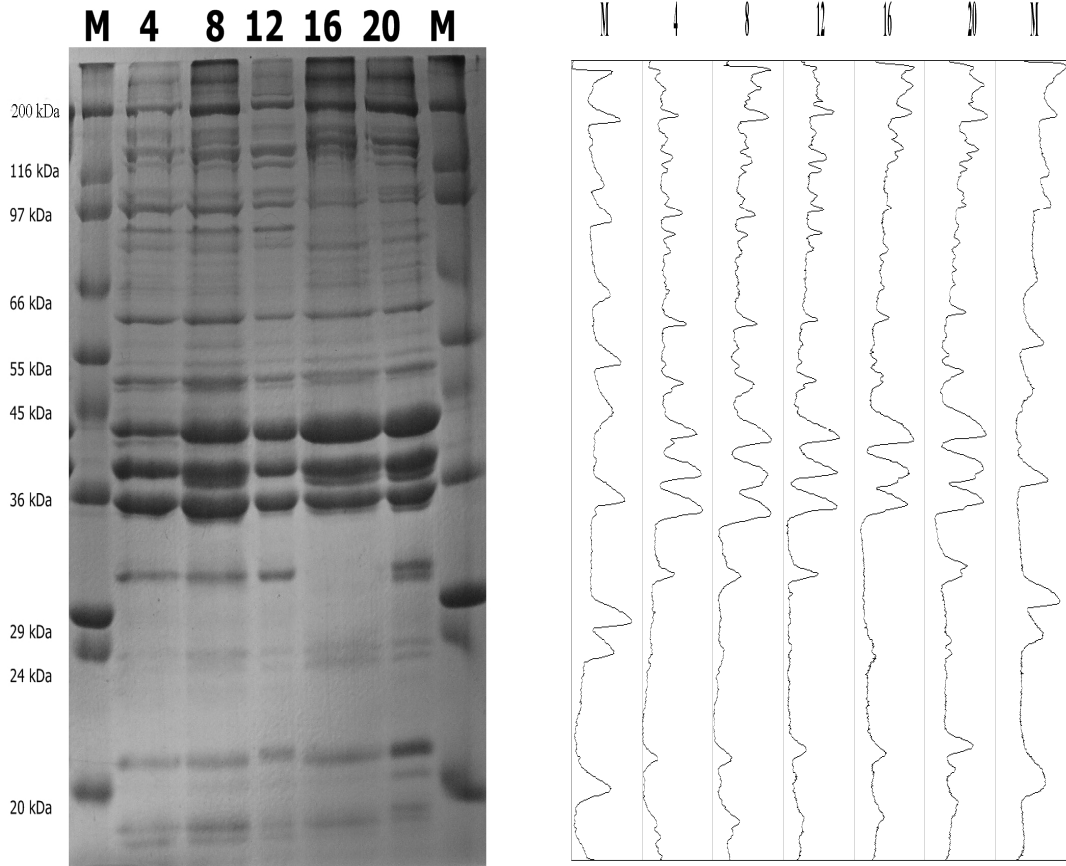
jellerin resimlerinden ImageJ programı kullanılarak elde edilen dansitometre analiz sonuçları Şekil 4.8, 9, 10, 11’da verilmiştir. SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre kontrol grubu gökkuşağı alabalığı kaslarının depolamanın tüm günlerinde 31 adet miyofibrilar kas protein bandı belirlenmiştir. Kontrol örneklerinde depolamanın 4., 8. ve 12. günlerinde 205 kDa’da gözükken bantın yoğunluğu, depolamanın 16. gününde azalmış, tüm kontrol örneklerinde 154,2, 146,0 ve 128,0 kDa’da gözükken bantların yoğunluğunda depolamanın 16. gününde artış gözlenmiştir (Şekil 4.8). Tüm kontrol grubu örneklerinde 105,4 ile 48,9 kDa aralığındaki protein bantlarının yoğunluğu depolamanın 16. gününde azalmış, diğer kontrol grubu örneklerinden farklı olarak 16. günde 30 kDa’da yeni bir protein bandı tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Kontrol grubu (K) örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçları

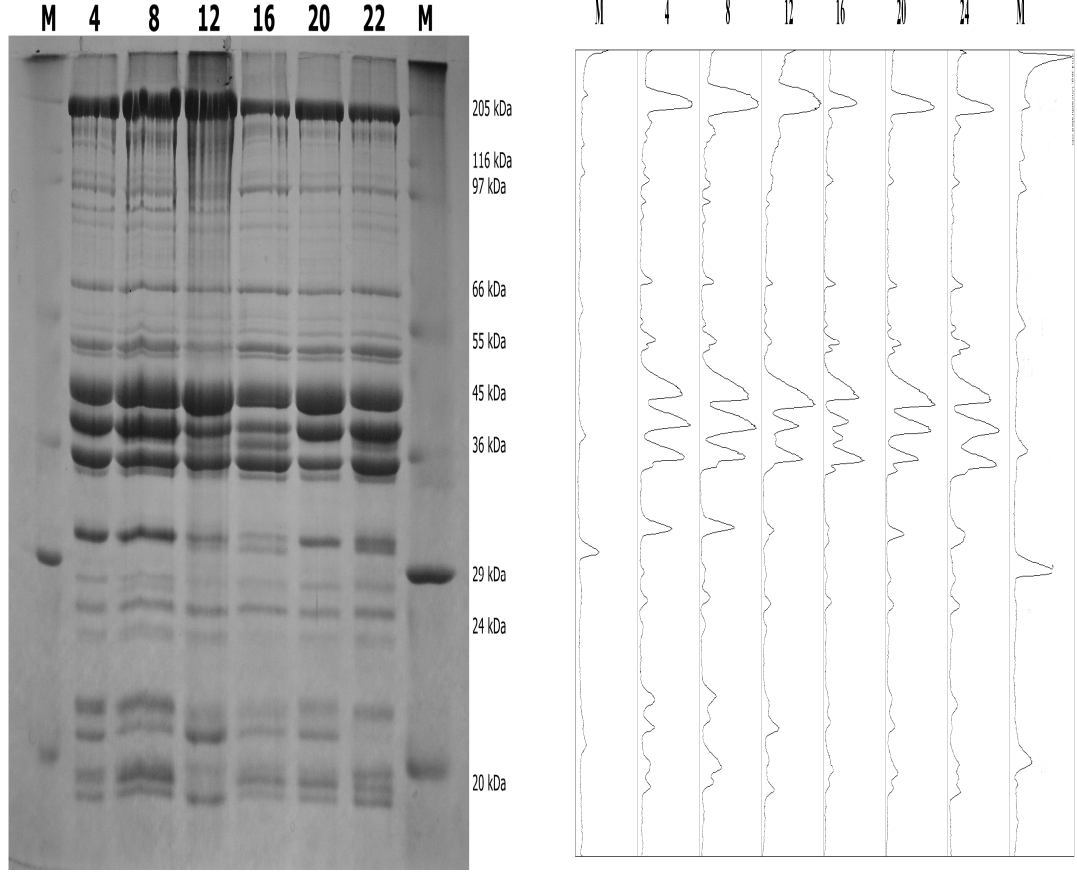
YB uygulanmış gökkuşağı alabalığı kaslarında yapılan SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre; depolamanın 4., 8. ve 12. günde 32, 16. günde 31 ve 20. günde ise 33 miyofibrilar kas protein bandı belirlenmiştir.

Depolamanın 4., 8., 12 ve 20. günlerinde 31,4 ve 18,3 kDa'da görülen protein bandları, 16. gününde kaybolmuş, 20. günde diğer günlerden farklı olarak 30 kDa molekül ağırlığında yeni protein bandı tespit edilmiştir. Tüm depolama günlerinde 21,2 kDa molekül ağırlığında görülen proteinin yoğunluğu 20. günde artmıştır (Şekil 4.9).



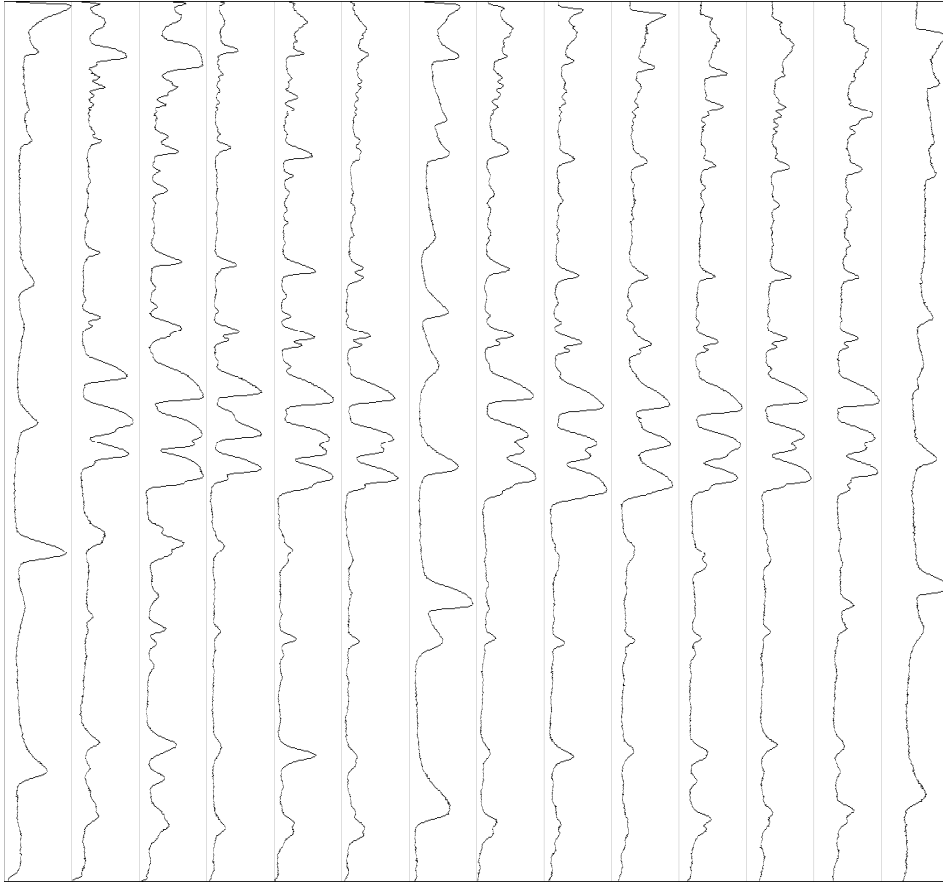
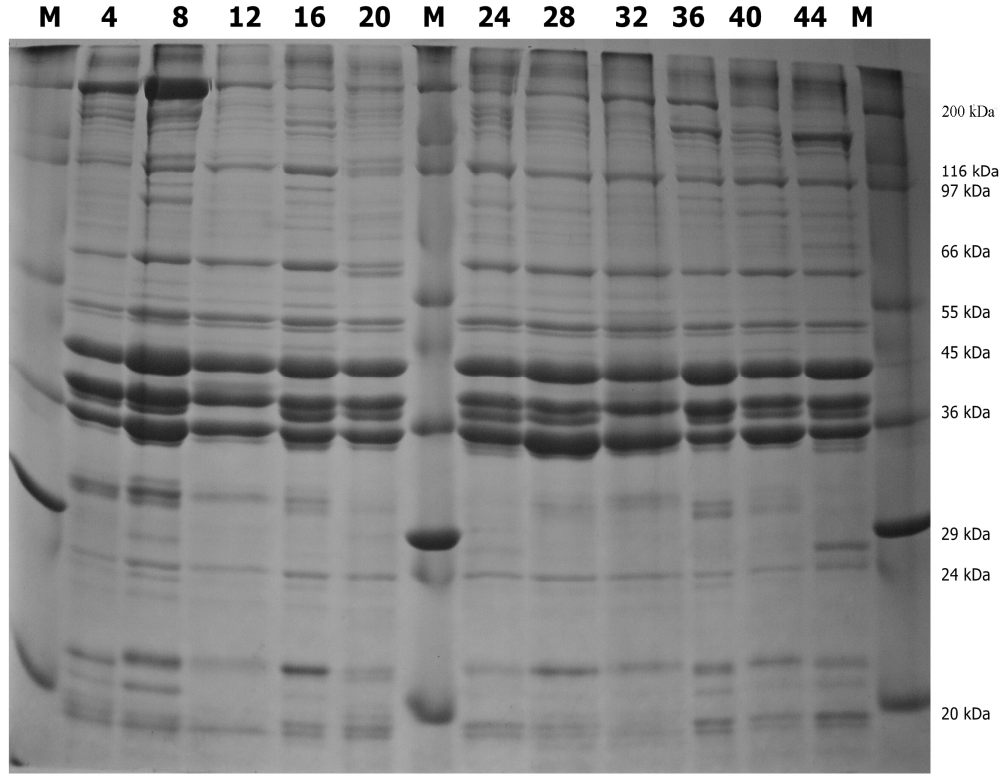
Şekil 4.9. YB grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometre analiz sonuçları

SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre KFK grubu gökkuşağı alabalığı kaslarının depolamanın 4., 8., 12., 16., 20. ve 24. günlerinde sırasıyla 29, 30, 31., 31., 29. ve 31 miyofibrilar kas protein bandı belirlenmiştir. Depolamanın 12. ve 16. günlerinde diğer günlerden farklı olarak 37,4 kDa'da bir protein bandı belirlenmiştir. Depolama başlangıcında 31,4 kDa'da görülen protein bandının yoğunluğu 12. günden sonra azalmış olup nisbeten tüm depolama günleri arasında protein bantları açısından kayda değer değişimler gözlenmemiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. KFK grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometre analiz sonuçları

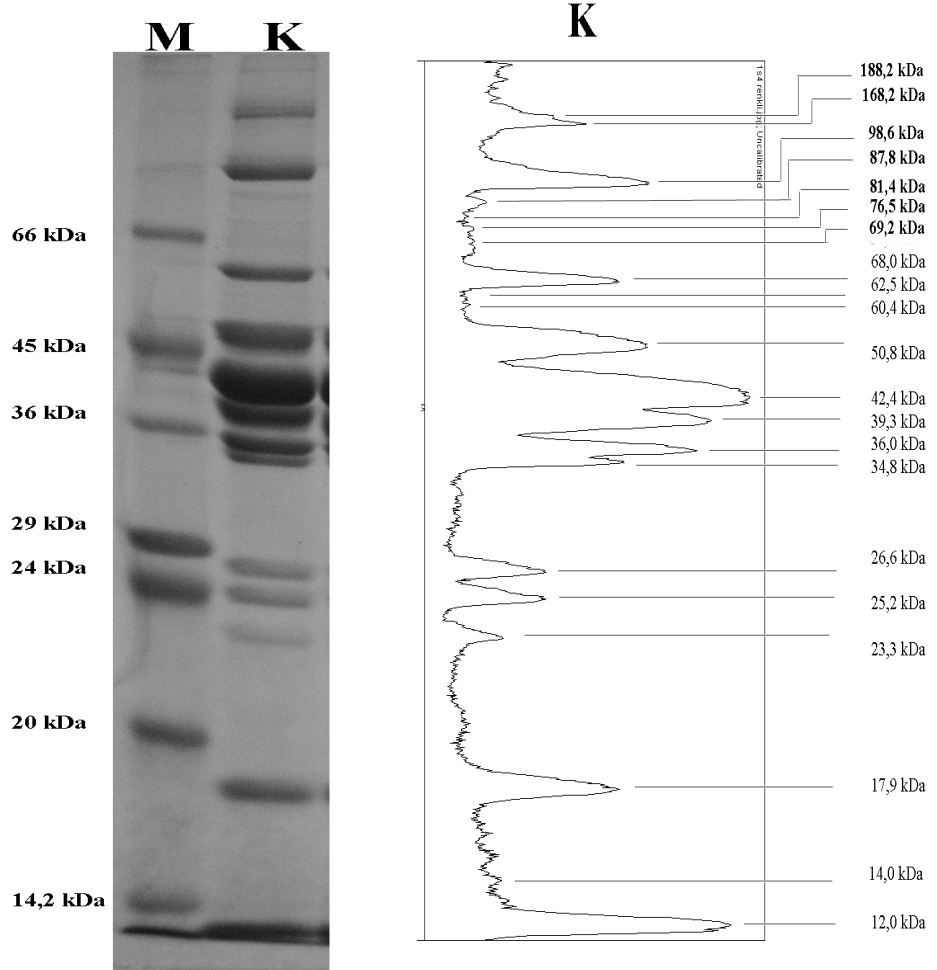
SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre YB+KFK grubu gökkuşağı alabalığı kaslarının depolamanın 4. günden 44. güne kadar sırasıyla 30, 30, 29, 30, 30, 30, 30, 29, 30, 30 ve 30 miyofibrilar kas protein bandı belirlenmiştir. Depolamanın 44. gününde 26,7 kDa'da belirgin bir yoğunlukta gözlenen miyofibrilar protein bandı, diğer günlerde iz miktarda belirlenmiştir. 37,4 kDa'da ki protein bandı depolamanın 12. ve 32. günlerinde gözlenmemiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. YB+KFK grubu örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometre analiz sonuçları

4.6.2. Sarkoplazmik kas proteinleri

Taze gökkuşağı alabalığı filetolarında, SDS PAGE yöntemiyle elde edilen jel ve jelin dansitometre analiz sonucuna göre belirlenen sarkoplazmik proteinler ve molekül ağırlıkları (kDa) Şekil 4.12’de verilmiştir.

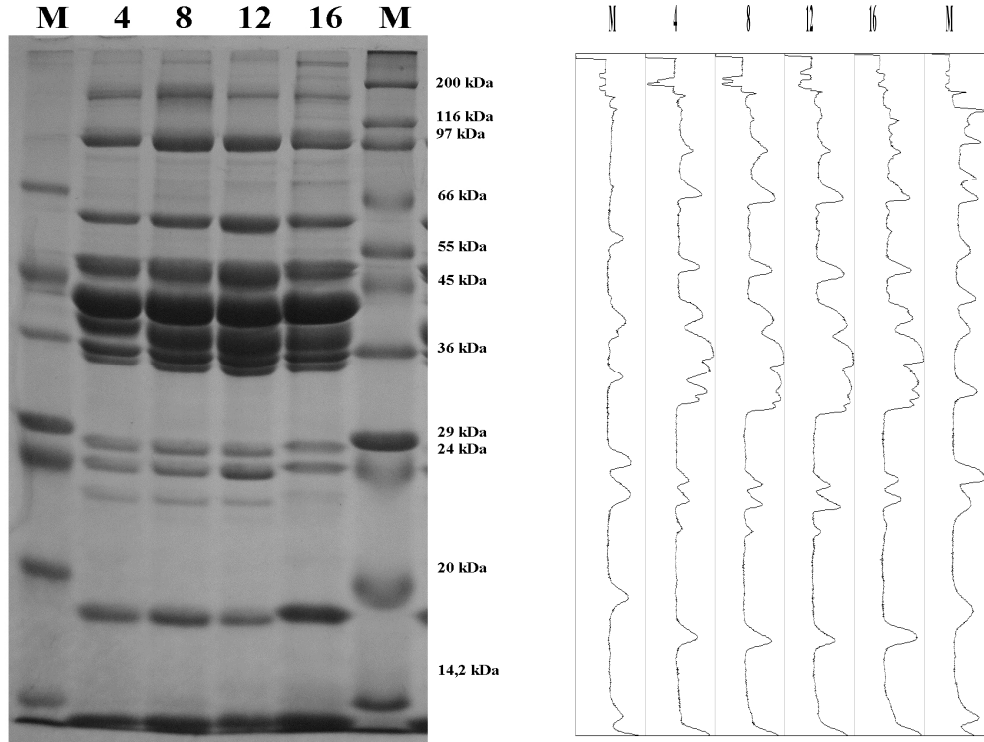


Şekil 4.12. SDS PAGE analizi ve dansitometre analiz sonucunda taze (K) örnekte belirlenen sarkoplazmik kas proteinleri

Gökkuşağı alabalığı filetolarının depolamaya bağlı olarak sarkoplazmik proteinlerindeki değişimleri belirlemek için yapılmış SDS PAGE ve elde edilen jellerin resimlerinden ImageJ programı kullanılarak elde edilen dansitometre analiz sonuçları Şekil 4.13,14,15,16’da verilmiştir.

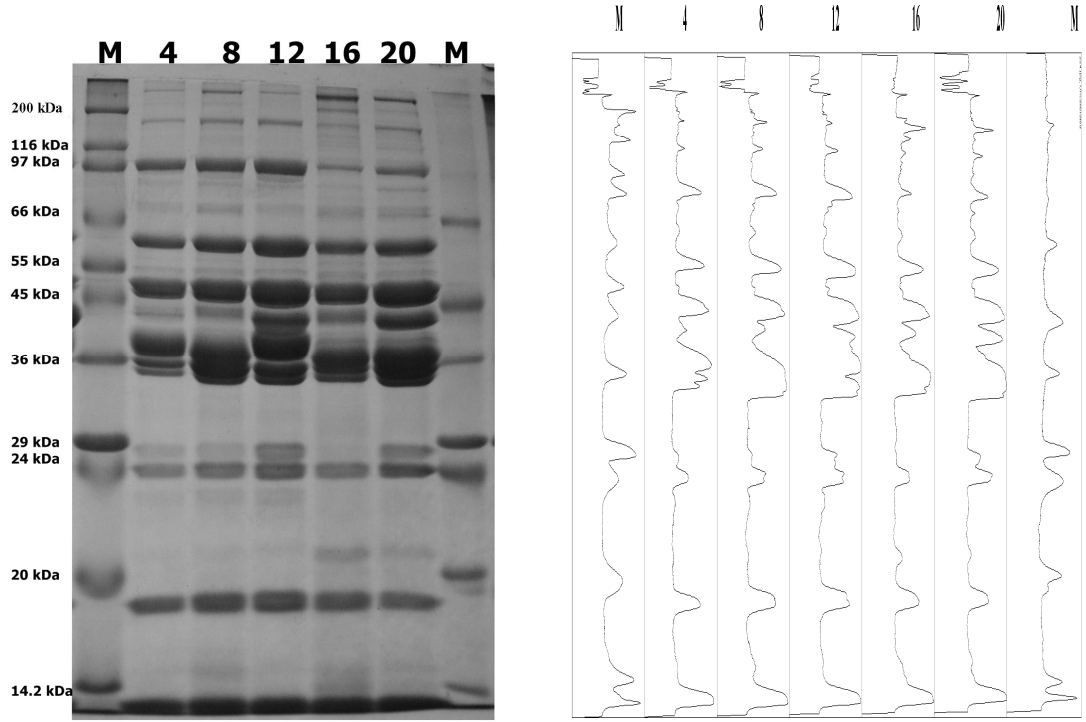
SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre kontrol grubu gökkuşağı alabalığı kaslarında 4., 8., ve 12, günlerde 21, depolama sonunda ise 23 farklı

sarkoplazmik protein bandı belirlenmiştir. Depolama sonunda, 23,3 kDa gözlenen protein bandının yoğunluğunda azalış, 17,9 kDa'da gözlenen protein bandının yoğunluğunda ise artış belirlenmiştir. Depolamanın 12. ve 16. günlerinde 233,7 kDa'da düşük yoğunlukta yeni bir sarkoplazmik protein bandı ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 16. günde 130 kDa'da düşük yoğunlukta yeni bir bant gözlenmiştir (Şekil 4.13).



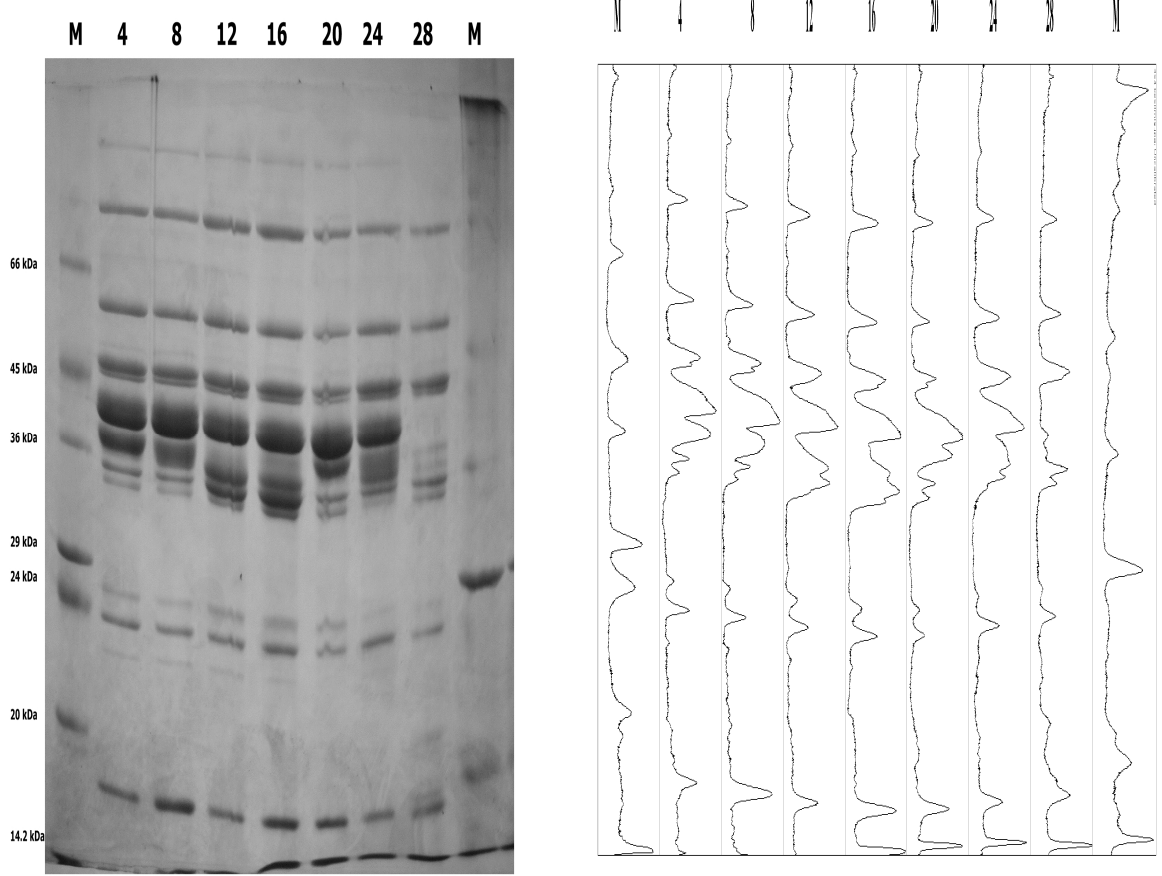
Şekil 4.13. Kontrol grubu (K) örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometre analiz sonuçları

YB grubu gökkuşağı alabalığının, SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre; depolamanın 4. gününde 21, diğer günlerde ise 22 farklı sarkoplazmik protein bandı belirlenmiştir. Depolamanın 16. ve 20. günlerinde diğer günlerden farklı olarak yaklaşık 130 kDa'da düşük yoğunlukta yeni bir sarkoplazmik protein bandı tespit edilmiştir. Ayrıca 23,3 kDa'da ki bant kaybolmuştur. Depolamanın 8. gününden itibaren yaklaşık 20,7 kDa'da yeni bir bant görülmeye başlanmıştır (Şekil 4.14).



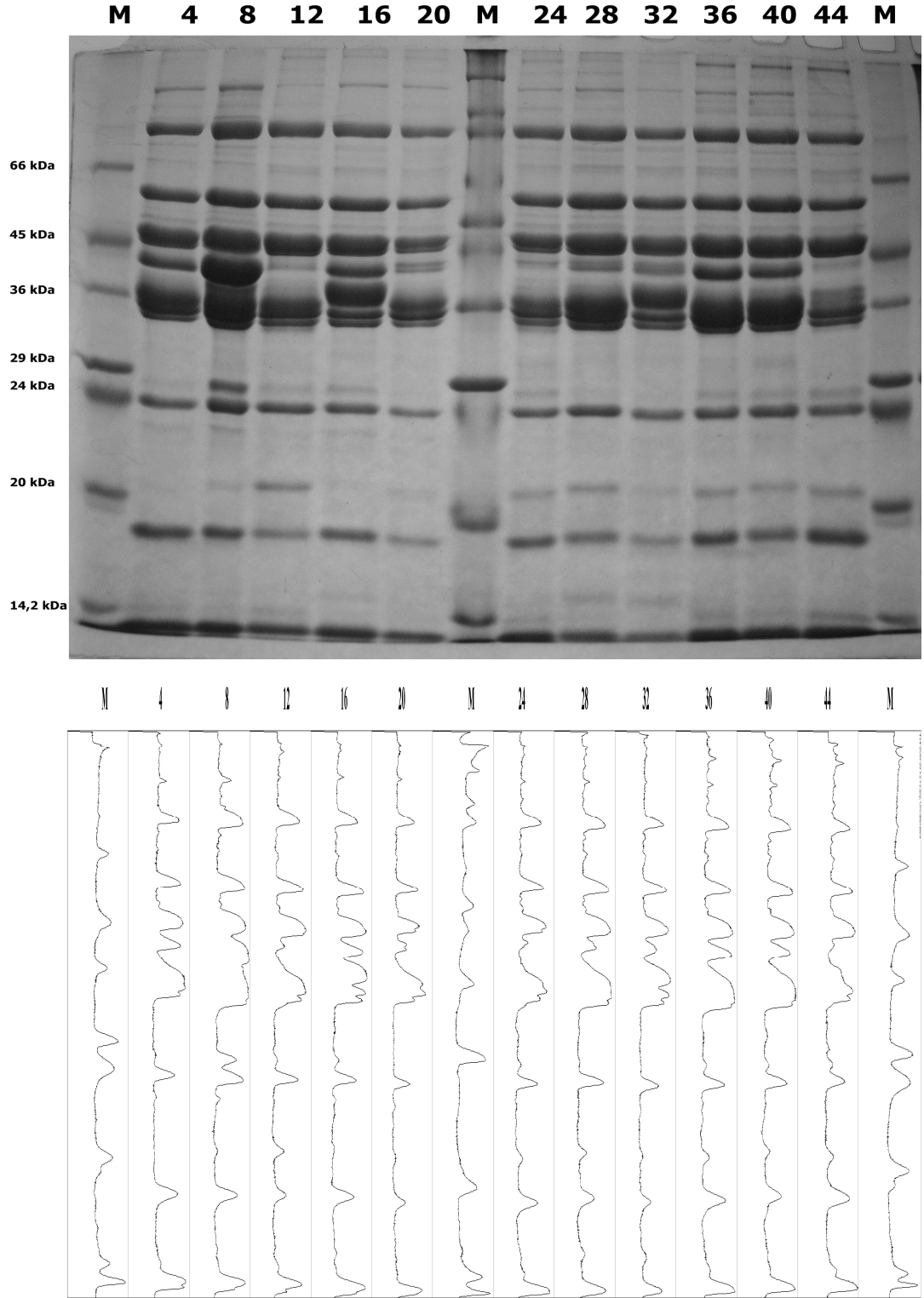
Şekil 4.14. YB gurubu örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometre analiz sonuçları

SDS PAGE ve dansitometre analiz sonuçlarına göre; KFK grubu gökkuşağı alabalığı kasların da depolamanın 4., 8., 12 ve 16. günlerinde 21 bant, 20. ve 24. günlerinde 19 bant, 28. gününde ise 20 farklı sarkoplazmik protein bandı belirlenmiştir. Depolama başlangıcında yaklaşık 171,8 kDa düşük yoğunlukta ve 42,4 kDa'da yüksek yoğunlukta görülen sarkoplazmik protein bantları depolamanın 28. gününde kaybolmuştur. Benzer şekilde düşük yoğunlukta yaklaşık 23,3 kDa'da gözlenen bant ise depolamanın 20. gününden itibaren kaybolmuştur. Depolamanın 28. gününde yaklaşık 20,7 kDa ila 18,5 kDa molekül ağırlığında iki yeni sarkoplazmik protein bandı ortaya çıkmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. KFK örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları

SDS PAGE ve dansitometrik analiz sonuçlarına göre YB+KFK grubu gökkuşağı alabalığı kaslarının depolama başlangıcında 21 farklı sarkoplazmik protein bandı belirlenmiştir. Depolama başlangıcında 23,3 kDa'da düşük yoğunlukta bulunan bant depolamanın 20. Gününden sonra kaybolmuştur. Depolamanın 4. gününde iz miktarda yaklaşık 20,7 kDa görünen sarkoplazmik protein bandının yoğunluğu depolamanın ilerlemesiyle artmıştır. Tüm depolama günlerinde yaklaşık 42,4 kDa'da belirlenen protein bantının yoğunluğu depolamanın 12. ve 44. günlerinde belirgin bir şekilde azalmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. YB+KFK grubu örneklerin sarkoplazmik proteinlerinin SDS PAGE ve dansiyometrik analiz sonuçları

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Bu çalışma ile ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli yeri tutan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarına, kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplama ve yüksek hidrostatik basınç uygulamasının raf ömrü üzerine etkisi ortaya konulmuştur.

Gıda işleme ve gıda kontrolünde nem, gıdanın dayanıklılığını belirleyen önemli bir etkidir. Besindeki su miktarı ile kuru madde miktarı ters orantılıdır. Nem miktarı belirli bir düzeyin üstüne çıktığında mikroorganizma sayısı artar (Akbulut, 2010). Araştırma sonuçlarına göre, depolama başlangıcında nem içeriği gökkuşağı alabalığı filetolarında % $62,39 \pm 0,31$; % $74,24 \pm 1,60$ aralığında belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Nem içeriğinde K ve YB grubunda depolamaya bağlı önemsiz ($P \geq 0,05$) farklılıklar, KFK ve YB+KFK gruplarında ise önemli ($P \leq 0,05$) azalışlar görülmüştür. Nem içeriği en yüksek YB grubunda depolamanın 16. gününde, en düşük ise KFK grubunda depolamanın 20. gününde tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

Her bir mikroorganizma ve enzimlerin aktivitesi belirli pH değerinde artış göstermektedir (Akbulut, 2010). Yüksek pH ya ulaşan etlerin bozulmaya yol açan bakterileri artmaktadır (Şengör vd., 1998). Araştırmada depolama başlangıcında pH değeri K grubunda $6,56 \pm 0,02$, YB grubunda $6,60 \pm 0,08$, KFK grubunda $6,57 \pm 0,03$ ve YB+KFK' da $6,44 \pm 0,18$ olarak belirtilmiştir. Çalışılan örneklerde en düşük pH değeri $6,33 \pm 0,13$ (YB+KFK, 44.gün), en yüksek pH değeri ise $6,88 \pm 0,07$ (K, 16.gün) olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda depolamaya bağlı olarak pH içeriğinde önemli ($P \leq 0,05$) oranda artış, diğer gruplar da ise önemsiz ($P \geq 0,05$) değişimler belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2).

Balık ve diğer su ürünleri yapısında denizel ortamdan kaynaklanan, taşıma ve işleme sırasında bulaşmış olan birçok mikroorganizmayı içerir. Diğer gıdalarda olduğu gibi balık ve diğer su ürünlerinde de mikroorganizma aktivitesi sonucu çeşitli bozulmalar meydana gelmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Depolama başlangıcında TPM sayısı K, YB, KFK ve YB+KFK gruplarında sırasıyla 2,03; 1,99; 1,16 ve 2,99 log cfu/g, TMM sayısı ise 1,84; 2,12; 2,42 ve 3,57 log cfu/g olarak bulunmuştur. Depolamaya bağlı olarak tüm deneme gruplarında, önemli ($P \leq 0,05$) artışlar tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Psikrofilik bakteriler, düşük sıcaklıklarda depolanan taze balıkların aerobik bozulmasından sorumlu en önemli mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır (Sallam 2007). Taze balıklarda psikrofilik ve mezofilik aerobik mikroorganizma sayısının kabul edilebilir limit değeri farklı araştırmacılar tarafından 6 log cfu/g (ICMSF 1986; Erkan 2007) ve 7 log cfu/g (Sallam 2007) olarak bildirilmiştir. TMM ve TPM sayısı bakımından kabul edilebilir limit değer (6 log cfu/g) K, YB, KFK ve YB+KFK gruplarında sırasıyla 12., 16., 24. ve 36. günlerde aşılmıştır. Jeon vd., (2002) tarafından, kitosanla kaplanmış ringa ve morina balıklarının soğukta 12 gün depolanması sonucunda mikrobiyal yükte sırasıyla 3 ve 2 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir. Deniz gıdalarında mikrobiyal bozulmanın engellenmesi ve azaltılması üzerine kitosan esaslı kaplama filmlerin etkinliği üzerine yapılan pek çok çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Vásconez vd., 2009; Fan vd., 2009; Duan vd., 2010a,b; Gómez-Estaca vd., 2010; Ojagh vd., 2010; Günlü ve Koyun 2012). Ayrıca, Gómez-Estaca vd. (2007) tarafından jelatin-kitosan filmlerin soğuk dumanlanmış sardalya balıklarının mikrobiyal gelişiminin engellenmesinde çok etkili olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde, soğukta depolanan balıklarda mikrobiyal gelişiminin önlenmesi ve azaltılması üzerine YHB işleminin etkileri pek çok balık türünde çalışılmıştır. Hurtado vd., (2001a,b) ahtapot ve ahtapot kol kaslarında, Gómez-Estaca vd. (2007) soğuk dumanlanmış sardalyada, Büyükcan vd., (2009) karides ve tarak midyesinde, YHB uygulamasının mikrobiyal yükü önemli oranda azalttığı bildirilmiştir. Gómez-Estaca vd. (2007) soğuk dumanlanmış *Coryphaena hippurus* filetoların YHB işlemi sonrası soğukta depolanması sırasında mikrobiyal yük depolamanın ilk döneminde kontrol örneklerine göre önemli oranda azalmışken, raf ömrünün sonuna doğru mikrobiyal yükte önemli değişimler tespit edilmemiştir.

TBA-i değeri etlerdeki lipid oksidasyonun önemli bir göstergesidir. TBA-i değeri, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif süreçleri sonucunda oluşan, lipid

hidroperoksitlerinin bir bozulma ürünü olan malondialdehitin ölçülmesiyle belirlenir (Guillén ve Ruiz, 2004). Lipit oksidasyonu, balık kasları gibi yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri bulunduran etlerde, kötü koku ve tat gelişimine yol açması nedeniyle önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (Goulas ve Kontominas, 2007). Taze balık etlerinde TBA değerinin tüketilebilirlik limit değeri Connel (1990) tarafından 1–2 mg MDA/kg ve Schormüller, (1968) tarafından da 7-8 mg MDA/kg olduğu bildirilmiştir (Varlık vd., 1993; Goulas ve Kontominas, 2005).

Yapılan çalışmada depolama boyunca en düşük ve en yüksek TBA-i değeri taze örneklerde (K) sırasıyla depolamanın 4. ve 16. günlerinde ($0,32\pm0,01$ - $2,80\pm0,59$) bulunmuştur. Depolamanın 16. gününde TBA-i değeri bakımından YB, KFK ve YB+KFK grupları arasında önemli bir değişim görülmezken, bu gruplara göre K grubunda önemli bir artış ($P\leq0,05$) gözlenmiştir. YB ve KFK gruplarında en yüksek TBA-i değeri depolamanın 24. gününde bulunmuştur. Depolama boyunca YB+KFK grubunda önemli ($P\leq0,05$) azalışlar, diğer gruplarda ise önemli ($P\leq0,05$) artışlar görülmüştür (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5). Bulgularımıza benzer şekilde, bir çok araştırmacı deniz balıklarının kitosanla kaplanması sonrası lipit oksidasyonunda önemli azalışlar olduğunu bildirmiştir (Jeon vd., 2002; Gómez-Estaca vd., 2007; Sathivel vd., 2005; Fan vd., 2009; Duan vd., 2010a,b). Soğuk depolama sırasında TBA-i değerinin Connel (1990) tarafından bildirilen limit değeri (1–2 mg MDA/kg) K, YB ve KFK gruplarında sırasıyla 16., 24. ve 24. günlerinde aşılmıştır. TBA-i değeri YB+KFK grubunda ise depolamanın 44. gününde hala limit değerin altında tespit edilmiştir. Gomez-Estaca vd. (2007), soğuk dumanlanmış sardalyaların (*Sardina pilchardus*) raf ömrünü uzatmak için yüksek basınç (300 MPa/20°C/15 dk) ve keklikotu ekstraktı veya biberiye ya da kitosan eklenerek zenginleştirilen jelatin bazlı fonksiyonel yenilebilir filmler tek başına ya da kombinasyon halinde uygulamış, lipit oksidasyonu önlemede en iyi sonucu yüksek basınç- kitosan esaslı yenilebilir film kombinasyonun gösterdiği bildirilmiştir. Bu sonuç bulgularımızla da uyumludur. Depolama başlangıcında en yüksek TBA-i değeri YB+KFK, ardından YB grubunda belirlenmiştir. Bulgularımıza uygun olarak balık etlerine yüksek basınç uygulanması sonucu lipit oksidasyonun da önemli

artışların olduğu diğer çalışmalarda da bildirilmiştir (Angsupanich ve Ledward, 1998; Chevalier vd., 2001; Sequeira-Munoz vd., 2006).

Balık ve ürünlerinin tazelik derecesinin belirlenmesinde çok fazla kullanılan kimyasal değişkenlerden biri de toplam uçucu bazik azot (TVB-N) değeridir. Balıklarda bozulmanın ilerlemesiyle birlikte uçucu bazik azotlu maddelerin miktarı da artmaktadır. Bu artış bozulma bakterileri ve endojen enzim aktivitesi ile ilişkilidir (Kyrana vd.,1997; Vareltzis vd., 1997). TVB-N kabul edilebilir limit değerleri balık türlerine göre değişmektedir. Yapılan birçok çalışmada farklı sınır değerleri tespit edilmiş, bu değerlerin 20-35 mg/100 g arasında değiştiği bildirilmiştir (Connell, 1995; Lopez vd., 2000; Kim vd., 2002; Yanar vd., 2006). Sikorski vd (1990)'ne göre balık etlerinde 30 mg TVB-N/100 g seviyesi bozulma göstergesi olarak bildirilmiştir. Ludorf ve Meyer (1973) deniz gıdalarında kabul edilebilir üst limitin 30-35 mg TVB-N/100 g seviyesinin olduğunu ileri sürmüştür. TVB-N değerinde tüm çalışma gruplarında, soğukta depolama boyunca önemli artışlar ($P \leq 0,05$) görülmüştür. En yüksek değer kontrol grubunda 16. günde ($45,77 \pm 0,50$), en düşük değer ise yine kontrol grubunda 4. gün ($18,67 \pm 0,48$) örneklerinde bulunmuştur (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6). Taze örneklerde depolama başlangıcında belirlenen TVB-N değerine uyumlu olarak, Kolsarıcı ve Özkaya (1998) taze gökkuşağı alabalığında TVB-N değerini 17,60 mg TVB-N/kg olarak bildirmiştir. Soğukta depolama sırasında TVB-N değerinin Sikorski vd., (1990) tarafından bildirilen kabul edilebilir limit değeri K, YB, KFK, ve YB+KFK gruplarında sırasıyla 12., 20., 24. ve 44. günde aşılmıştır. Kontrol grubuna göre depolamaya bağlı olarak balık etlerinin TVB-N değerinde görülen azalış, hem yüksek basınç uygulanmış (Hurdato vd., 2001b; Gomez-Estaca vd., 2007; Karim vd., 2011; Şentürk, 2011), hem de kitosan esalı yenilebilir film ile kaplanmış (Ahn ve Lee 1992; Jeon vd., 2002; Lopez-Caballero vd., 2005; Fan vd. 2009; Duan vd., 2010b; Gomez-Estaca, 2010; Ojagh vd., 2010; Günlü ve Koyun 2012) balık etlerinde diğer pekçok araştırmacı tarafından da bildirilmiştir.

Gökkuşağı alabalığı filetolarının miyofibrillar proteinlerindeki değişimlerin belirlenmesi için yapılan SDS PAGE analiz sonuçlarına göre soğuk depolama başlangıcında 31 farklı miyofibrillar kas proteini belirlenmiştir. Benzer şekilde,

Godiksen vd., (2009) tarafından gökkuşığı alabalığı tekstürü ile kas protein profili arasındaki ilişkinin belirlendiği bir çalışmada 31 miyofibrillar kas proteini belirlenmiştir. Michalczyk ve Surówka (2007) tarafından ise taze kıyılmış gökkuşığı alabalığı örneklerinden elde edilen toplam özütte 30 kas proteini tespit edilmiştir. Tüm örneklerde yaklaşık 200 kDa (çok yoğun), 167,8 kDa, 144,4 kDa, 105,4-99,1 kDa, 40,6 kDa (çok yoğun), 39,5 kDa, 36,9 kDa (çok yoğun), 34,5 kDa tespit edilen bantların sırasıyla, Michalczyk ve Surówka (2007) tarafından taze gökkuşığı alabalığında 215 kDa'da bildirilen kuvvetli miyozin zinciri (MHC), 180 kDa'da bildirilen M protein, 148,0 kDa'da bildirilen C proteini, 107,0-102,0 kDa'da bildirilen α -Aktin, 42,7 kDa'da bildirilen Aktin, 39,5 kDa'da bildirilen β -Tropomiyosin, 37,9 kDa'da bildirilen Troponin T ve 35,6 kDa'da bildirilen α -Tropomiyosine karşılık geldiği düşünülmektedir. Godiksen vd., (2009) tarafından gökkuşığı alabalığında miyofibrillar kaslarının belirlendiği bir çalışmada ise Kuvvetli Miyozin Zinciri 222 kDa'da bildirilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada 36 kDa'da Gliseraldehit-3P-dehidrogenaz, 21 kDa'da Zayıf Miyozin Zinciri ve 22,5 kDa'da ise Trifosfatizomeras bildirilmiştir. Ladrat vd., (2003) ve Chéret vd., (2006) tarafından miyofibrillar özütte 200 kDa'da belirlenen güçlü miyosin zinciri, çalışmamızda 200 kDa bulunmuş, 51,9-48,9 kDa arasında saptanan bandın ise çeşitli araştırmacılar tarafından 49 ve 53 kDa'da belirlenen desminin olabileceği sanılmaktadır (Verrez-Bagnis vd., 1999; Ladrat vd., 2003). Tüm örneklerde küçük değişimlerle 40,6 kDa'da belirlenen geniş bantın, Ladrat vd., (2003) ve Chéret vd., (2006) tarafından miyofibrillar özütte 42 kDa'da belirlenen aktin olduğu sanılmaktadır.

Alabalık miyofibrillar kaslarının SDS-PAGE ve dansitometrik analiz sonuçlarına göre, miyofibrillar proteinlerden kontrol grubu örneklerde, özellikle 200 kDa'da çok yoğun olarak (kuvvetli miyosin zinciri) gözlenen bant, yüksek basınç uygulanmış YB ve kitosan esaslı yenilebilir filmle sarıldıktan sonra yüksek basınç uygulanmış YB+KFK gruplarında depolama başlangıcında önemli oranda azalmış ve soğukta depolama süresince yoğunluğu değişmeden sabit kalmıştır. Benzer şekilde, 31,4 kDa orta yoğunlukta gözlenen bant, YB ve YB+KFK gruplarında depolama başlangıcında önemli oranda azalmış ve depolama süresine bağlı olarak azalış devam etmiştir. Chéret vd., (2006) tarafından

yüksek basınç uygulaması sonrası buzdolabında depolanan deniz levreği kaslarının proteinlerdeki değişimlerin belirlendiği çalışmada benzer durum bildirilmiştir. Bu çalışmada 300 MPa basınç uygulama sonucunda levrek kaslarında kuvvetli miyosin zinciri, 150 kDa'daki çiftli bant, 37 kDa'daki troponin T, 32 kDa ve 20 kDa'daki protein bantların yoğunluğunda azalışlar bildirilmiştir. Bu değişimin nedenleri; Chéret vd., (2006) tarafından miyofibrillar proteinlerdeki yüksek basınç sonrası gerçekleşen denatürasyonlar ya da onların yapısındaki modifikasyonlardan kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Hurdato vd., (2002) tarafından miyofibrillar proteinlerdeki yüksek basınç sonucunda oluşan denatürasyonlar nedeniyle otolizin azaldığı bildirilmiştir.

Gökkuşığı alabalığı filetolarının sarkoplazmik proteinlerindeki değişimlerin belirlenmesi için yapılan SDS PAGE analiz sonuçlarına göre soğuk depolama başlangıcında 21 farklı sarkoplazmik kas proteini belirlenmiştir. Benzer şekilde, Godiksen vd., (2009) tarafından gökkuşığı alabalığı tekstürü ile kas protein profili arasındaki ilişkinin belirlendiği bir çalışmada 26 sarkoplazmik kas proteini belirlenmiştir. Michalczyk ve Surówka (2007) tarafından ise taze kıyılmış gökkuşığı alabalığı örneklerinden elde edilen toplam özütte 30 kas proteini tespit edilmiştir. Ladrat vd., (2003) denizlevreği kaslarında sarkoplazmik özütte 41-39 kDa arasında belirlenen geniş bantın Nakagawa vd., (1988) tarafından tanımlanmış olan kreatin kinaz ve aldolazın birleşmesiyle oluştuğu bildirilen bant, 36 kDa'ki bantın gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz ve 13 kDa ile 12 kDa'ki bantların ise parvalbumin olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda, alabalık kası sarkoplazmik özütünde 42,4 kDa ve 39,3 kDa'da gözlenen geniş bantların kreatin kinaz ve aldolaz, 36 kDa'ki bantın gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz ve 14 kDa ile 12 kDa'ki bantların ise parvalbumin olduğu düşünülmektedir. Godiksen vd., (2009) tarafından gökkuşığı alabalığında sarkoplazmik özütte 22,5 kDa'da belirlediği triosefosfat izomeraz, bizim çalışmamızda yaklaşık 23,3 kDa'da gözlenen bant olduğu düşünülmektedir.

Alabalık kaslarının sarkoplazmik özütünde yapılan SDS-PAGE ve dansitometrik analiz sonuçlarına göre sarkoplazmik proteinlerden kontrol grubu örneklerde, özellikle 39,3 kDa çok yoğun olarak gözlenen bant, YB ve YB+KFK gruplarında önemli oranda azalmıştır. Benzer şekilde, 26,6 kDa orta yoğunlukta ve 23,3 kDa'da ise az yoğun olarak gözlenen iki bant, diğer deneme gruplarında depolama başlangıcında önemli oranda azalmış ve bazıları soğukta depolama sırasında gözden tamamen kaybolmuştur. Ayrıca kontrol grubu örneklerde 16. gün (iz miktarda) hariç gözlenmeyen, YB grubunda çok düşük yoğunlukta depolama süresine paralel olarak artan yoğunlukta ve KFK grubu örneklerde sadece depolama sonunda, YB+KFK grubunda ise depolamaya paralel olarak artan miktarda oldukça belirgin yoğunlukta 20,7 kDa'da yeni bir sarkoplazmik protein bandı tespit edilmiştir. Morina kaslarına yüksek basınç işleminin etkisinin çalışıldığı bir araştırmada, 200 MPa basınçta morina kası sarkoplazmik protein profilinin taze örnekle benzerlik gösterdiği, sadece bazı bantların yoğunluğunda azalmalar olduğu bildirilmiştir. Ancak uygulanan basınç miktarı artıkça 127, 118 ve 71 kDa molekül ağırlığındaki sarkoplazmik proteinlerin yoğunluğun da önemli, 133 ve 21 kDa'da ise küçük miktarlarda azalışlar, 51 kDa ise önemli artış gözlenmiştir. Yazarlar 51 kDa'daki artışta 71 kDa'daki azalışın neden olmuş olabileceğini bildirmişlerdir (Angsupanich ve Ledward 1998). Chéret vd., (2006) deniz levreği kaslarında 21,5 kDa, 51 kDa ve 97 kDa molekül ağırlığındaki sarkoplazmik bantların yoğunluğunda yüksek basınç işlemi sonrası artış bildirmiştir. Kontrol örneklerinde görülmeyen 20,5 kDa ve 30,5 kDa'daki bantlar depolamanın 2. gününde ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar sarkoplazmik proteinlerin yüksek basınç işlemi sonrası stabil kalabildiğini bildirmiştir (Chéret vd., 2006). Benzer şekilde çalışma sonuçlarımız, yüksek basınç ve film uygulaması sonucunda alabalık kaslarında major sarkoplazmik proteinlerin soğukta depolama sonucunda bozulmadan kalabildiğini göstermiştir.

Sonuç olarak; gökkuşağı alabalığı filetolarının kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine kitosan esaslı yenilebilir filmle kaplama ve yüksek basınç işleminin ayrı ayrı ve birlikte etkilerinin belirlenmeye çalışıldığı bu çalışmada, yüksek basınç ve kitosan esaslı filmle kaplamanın kalite üzerinde olumlu etkiye

sahip olduğu, bununla birlikte her iki yöntemin birlikte uygulanması sonucunda ise mükemmel bir sonuç elde edildiği tespit edilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik raf ömrü analizleri sonucunda, filetoların TMM TPM sayılarında kabul edilebilir limit değeri K, YB, KFK ve YB+KFK örneklerde sırasıyla 12., 16., 24. ve 36. günlerde aşıldığı, kimyasal raf ömrü analizlerinden TVB-N değeri 12., 20., 24. ve 44. günde aşıldığı, TBA-i değeri ise ilk üç grupta 16., 24. ve 24. günlerde, son grupta ise depolamanın 44. gününde hala aşılmadığı tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerinin sonuçları ışığında, filetoların raf ömründe yüksek basınç uygulaması sonucu 4 günlük, kitosan esaslı filmle sarma işlemi sonrası 8 günlük ve her iki yöntemin birlikte kullanılması sonucunda 24 günlük bir raf ömrü artışı sağlanmıştır.

Çalışmada gökkuşuğı alabalığı kaslarının proteinlerindeki değışimin belirlenmesi amacıyla yapılan SDS PAGE ve dansitometrik analizler sonucunda, sarkoplazmik ve miyofibrilar proteinlerin major bantlarında yüksek basınç ve kitosan esaslı filmle sarma sonucunda küçük değışimlerin olduğu, en önemli değışimin miyofibrilar proteinlerde 200 kDa (kuvvetli miyozin zinciri)'da ve 31, 4 kDa'daki proteinlerin yoğunluğunda azalma şeklinde yüksek basınç işlemi sonucunda tespit edilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre yüksek basınç işleminin tek başına filetolarda en az koruyuculuğsa sahip olduğu belirlenmiş, bunun nedeni olarak da uygulanan basınç değeri düşük olmasından kaynaklanmış olabileceğı düşünülmektedir. Bu nedenle daha yüksek basınç değeri içinde ilave çalışmaların her iki yöntemin daha etkili kullanılmasında gıda bilimi açısından önemli sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahn C.B, Lee E.H.,1992. Utilization of chitin prepared from the shellfish crust. 2. Effect of chitosan film packing on quality of lightly-salted and dried horse mackerel. Bull Korean Fish Society, 25(1), 51-57.
- Akbaba, G., 2006. Yenilebilir ambalajlar. Bilim ve Teknik Dergisi, 30-32.
- Akbulut, N., Karagözlü, C., Yerlikaya, O., Akpınar, A., 2010. Gıda bilim ve teknolojisi uygulama teksiri, Ege Üniversitesi Süt ürünleri Teknolojisi bölümü, 37.
- Alpas, H., 2000. Sıcaklık, Ph ve Bakteriosinlerin Yüksek Hidrostatik Basınc (YHB) İşlemi Sırasında Gıda Sistemleri İçindeki Seçilmiş Gıda Patojenlerinin Yaşamlarına Etkisi. T.C. Yükseköğretim Kurulu Döküasyon Merkezi, Doktora, 156.
- Amanatidou, A., Schlüter, O., Lemkau, K., Gorris, L.G.M., Smid, E.J., Konorr, D. 2000. Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 1, 87-98.
- Angsupanich, K., Ledward, D.A., 1998. High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle. Food Chemistry, 63, 1, 39-50.
- Anonim, 1979. Gıda-Su Süt ve Mamülleri, Alkollü ve Alkolsüz İçkilerin Mikrobiyolojik Muayeneleri İçin Kültür Vasatları El Kitabı, 140, Ankara.
- Anonymous, 1994. Merck Microbiology Manual, Published by Merck, 347, Germany.
- Antonacopoulos, N., Vyncke, W. 1989. Determination of volatile basic nitrogen in fish. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 189, 309-316.
- Appendini, P., Hotchkiss, J.H., 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 3, 113-126
- Arıcı, M., 2006. Gıda Muhafazasında Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 3(1), 41-49.
- Arslan, A., Çelik, C., Gönülalan, Ateş, G., Kök, A., Kaya, A., 1997. Vakumlu ve Vakumsuz Aynalı Sazan (*Cyprius carpio* L.) Pastırmalarının Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesinin İncelenmesi. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences, 21, 23-29.
- Bauchart, C., Chambon, C., Mirand, P.P., Savary-Auzeloux, I., Rémond, D., Morzel, M., 2007. Peptides in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Muscle

Subjected to Ice Storage and Cooking. Food Chemistry, 100(4), 1566-1572.

Baumgart, J., Firnhaber, J. and Spcher, G., 1993. Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Behr's Verlag, Hamburg, Germany.

Benjakul, S., Visessanguan, W., Phatchrat, S., Tanaka, M., 2003. Chitosan affects transglutaminase induced surimi gelation. Journal of Food Biochemistry, 27, 53-66.

Bolat, Y., Bilgin, Ş., İzci, L., Günlü, A., Koca, S.B, Çetinkaya, S., 2009. Ekonomik Olarak Değerlendirilmeyen Tatlısu Yengeci Kabuklarından Kitin-Kitosan Eldesi ve Kitosanın Su Ürünlerinin Muhafazasında Kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Proje No: 1070511, 75, Isparta.

Borderías, A. J., Sánchez-Alonso, I., Pérez-Mateos, M., 2005. New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. Trends in Food Science and Technology, 16, 458-465.

Bragagnolo, N., Danielsen, B., Skibsted, L.H., 2006. Rosemary as antioxidant in pressure processed chicken during subsequent cooking as evaluated by electron spin resonance spectroscopy. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8, 24-29.

Büyükcan, M., Bozoglu, F., Alpas, H., 2007. Yüksek Sıvı Basınç Uygulamasının Midye ve Karideslerin Raf Ömrü Uzatımı. XIV Ulusal su ürünleri sempozyumu , gıda mühendisliği bölümü, ODTÜ, 06531.

Büyükcan, M., Bozoglu, F., Alpas, H., 2009. Preservation and shelf-life extension of shrimps and clams by high hydrostatic pressure. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1495-1502.

Cheftel, J.C. and Culioli, J., 1997. Effects of high pressure on meat: A review. Meat Science, 46, 211-236.

Chen, T.Y., D.-F., Hwang, D.F., 2002. Electrophoretic Identification of Muscle Proteins in 7 Puffer Species. Journal of Food Science Volume 67 (3), 936 – 942.

Cheret, R., Hernandez-Andrea, A., Delbarre-Ladrat, C., Lamballerie, M., Verrez-Bagnis, V., 2006. Proteins and proteolytic activity changes during refrigerated storage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle after high-pressure treatment. European Food Research and Technology, 222:527-535.

Chevalier, D., Le Bail, A., Ghoul, M., 2001. Effect of high pressure treatment (100-200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. Food Research International, 34, 425-429.

- Cho HR, Chang DS, Lee WD, Jeong ET, Lee EW., 1998. Utilization of chitosan hydrolysate as a natural food preservative for fish meat paste products. Korean Journal of Food Science Technology, 30(4), 817-822.
- Connell, J.J., 1990. Fishing News Books. Methods of assessing and selecting for quality. In Control of Fish Quality (3 rd ed., pp,122-150), Oxford.
- Connell, J.J., 1995. Control of Fish Quality, Fishing News Books, A Division of Blackwell Science Ltd., 256.
- Cuero, R. G., 1999. Antimicrobial action of exogenous chitosan. In P. Jolles, and R. A. A. Muzarelli (eds) , Chitin and chitinases, Basel: Birkhauser, pp. 315-333.
- Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S., 1995. Edible films and coatings as active layers. Active food packaging, 111-142.
- Delbarre-Ladrat, C., Cheret, R., Taylor, R., Verrez-Bagnis, V., 2006. Trends in Postmortem Aging in Fish: Understanding of Proteolysis and Disorganization of the Myofibrillar Structure. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(5), 409-421.
- Duan, J., Cherian, G., Zhao, Y. 2010a. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chemistry, 119:524-532.
- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., & Zhao, Y. 2010b. Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. Food Chemistry, 122(4), 1035-1042.
- Dursun, S., Erkan, N., 2009. Yenilebilir Protein Filmler ve Su Ürünlerinde Kullanımı. Journal of Fisheries Sciences.com, 3(4), 352-373.
- Ensoy, Ü., Coşar, B., 2006. Yüksek basınç uygulamalarının et ve et ürünlerinin duyu, fiziksel ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkileri. Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2), 1-7.
- Erkan, N., Özden, Ö., 2007. Quality Assessment of Whole And Gutted Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice. International Journal of Food Science and Technology doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01579.x.
- Erkan, N., Üretener, G., 2010a. The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological, chemical and sensory quality of fresh gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European Food Research and Technology, 230, 533-542.

- Erkan, N., Üretener, G., Alpas, H., 2010b. Effect of high pressure (HP) on the quality and shelf life of red mullet (*Mullus surmelutus*). Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 259–264.
- Erkan, N., Alpas, H., Üretener, G., Selçuk, A., Buzrul, S., 2010c. Changes in the physicochemical properties of high pressure treated rainbow trout. Archiv für Lebensmittelhygiene, 61–5, 165–196.
- Erkan, N., Üretener, G., Alpas, H., Selçuk, A., Özden, Ö., Buzrul, S., 2011a. The effect of different high pressure conditions on the quality and shelf life of cold smoked fish. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12, 104–110.
- Erkan, N., Üretener, G., Alpas, H., Selçuk, A., Özden, Ö., Buzrul, S., 2011b. Effect of High Hydrostatic Pressure (HHP) Treatment on Physicochemical Properties of Horse Mackerel (*Trachurus trachurus*). Food Bioprocess Technol, 4, 1322–1329.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chemistry, 115, 66–70.
- FDA., 2000. Kineticks of microbial inactivation for alternative food processing technologies high pressure processing. [http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesfor Food Processes/ucm100179.htm](http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100179.htm) erişim tarihi:01.12.2009.
- Garcia, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E., 2000. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. Journal of Food Science, 65(6), 941-947.
- Godiksen H., Morzel M., Hyldig G., Jessen F.. 2009. Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Chemistry.
- Gomez-Estaca, J., Montero, P., Gime'nez, B., Go'mez-Guille'n, M.C., 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry, 105, 511–520.
- Goulas, A. E., Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 93, 511–520.
- Goulas, A. E., Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf -life of sea bream (*Sparus aurata*) Biochemical and sensory attributes. Food chemistry, 100(1), 287-296.

- Gomez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P., 2010. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889–896.
- Gökoğlu, N., 2002. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Su Vakfı Yayınları, 157, İstanbul.
- Guilbert, S., Cuq, B., Gontard, N., 1997. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Additives and Contaminant*, 14(6), 741–751.
- Günlü, A., Koyun, E., 2012. Effects of Vacuum Packaging and Wrapping with Chitosan-Based Edible Film on the Extension of the Shelf Life of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fillets in Cold Storage (4 °C), *Food and Bioprocess Technology*. DOI 10.1007/s11947-012-0833-6.
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I., Weemaes, C., 1998. Effects of High Pressure on Enzymes Related to Food Quality. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 197–203.
- Hogan, E., Kelly, A.L. and Sun, D.W., 2005. High pressure processing of foods: an overview. Ed:Sun, D.W. *food Science and Technology*, international series. *High Pressure Processing*. 1-27.
- Hsu, K.-C., Ko, W.-C., 2001. Effect of Hydrostatic Pressure on Aggregation and Viscoelastic Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Myosin. *Journal Of Food Science*, 66, 1158-1162.
- Hugas, M., Garriga, M. and Monfort, J.M., 2002. New mild Technologies in meat processing:high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62, 359-371.
- Hultmann, L., Røra, A.M.B., Steinsland, I., Skara, T., Rustad, T., 2004. Proteolytic activity and properties of proteins in smoked salmon (*Salmo salar*)-effects of smoking temperature. *Food Chemistry*, 85(3), 377-387.
- Hurtado, J., Montero, P., Borderias, J., 2001a. Chilled Storage of Pressurized Octopus (*Octopus vulgaris*) Muscle. *Journal of food science*, Vol.66, 3, 400–406.
- Hurtado, J.L., Montero, P., Borderias, J. & Solas, M.T. 2001b. Highpressure/ temprature treatment effect on the characteristics of octopus (*Octopus vulgaris*) arm muscle. *European Food Research and Technology*, 213, 22–29.
- Hurtado, J., Montero, P., Borderias., An, H., 2002. Properties of Proteolytic Enzymes from Muscle of Octopus (*Octopus vulgaris*) and Effects of High

Hydrostatic Pressure. Food Chemistry and Toxicology, Vol. 67, Nr. 7, 2555–2564.

Huss, H.H., 1995. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO Fisheries Technical Paper, 348p, Rome.

ICMSF, 1978. Microorganism in Food 1, Their Significance and Methods of Enumeration, Second Edition, University of Toronto Press, ISBN: 0-8020-2293-6, 425.

ICMSF, 1986. Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications (pp. 181–196). Toronto: University of Toronto Press.

Jasra, S.K., Jasra, P.K., & Talesara, C.L. 2001. Myofibrillar protein degradation of carp (*Labeo rohita* (Hamilton)) muscle after postmortem unfrozen and frozen storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81(5), 519–524.

Jeon, YJ., Kamil JYVA., Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J Agric. Food Chemistry, 50, 5167–5178.

Kaletunç, G., 2009. Gıda Endüstrisinde Alışılmamış Yöntemler. Bilim ve Teknik Dergisi, Eylül ayı sayısı, 60-63.

Kamil, J.Y.V.A., Jeon, Y.J. and Shahidi, F., 2002. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). Food Chemistry, 79, 69-77.

Kandemir, N. S., 2006. Doğal antimikrobiyal madde içeren yenilebilir pullulan film uygulamanın hazır salatanın raf ömrüne etkileri, Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 96, İzmir.

Karim, N.U., Kennedy, T., Linton, M., Watson, S., Gault, N., Patterson, M.F., 2011. Effect of high pressure processing on the quality of herring (*Clupea harengus*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stored on ice. Food Control, 22, 476–484.

Khor, E., 2002. Chitin: a biomaterial in waiting. Current Opinion in Solid State and Materials Science, 6, 313–317.

Kim, M.Y., Joeng, W.S., Chung, S.K., 2002. The Physicochemical Quality Characteristics of Charcoal Grilled Mackerels, Journal of Food Science, 67(3), 1255-1259.

Ko, W.C., Jao, C.L., Hwang, J.S. and Hsu, K.C., 2006. Effect of high-pressure treatment on processing quality of tilapia meat fillets. Journal of Food Engineering, 77, 4, 1007– 1011.

- Kolsarıcı, N., Özkaya, Ö., 1998. Gökkuşığı Alabalığı (*Salmo gairdneri*)'nin Raf Ömrü Üzerine Tütsüleme Yöntemleri ve Depolama Sıcaklığının Etkisi. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, 22, 273-284, Ankara.
- Krochta, J. M., & De Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. Food Technology, 51(2), 61-73.
- Kyranas, V. R., Lougovois, V. P., & Valsamis, D. S. 1997. Assessment of shelf life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. International Journal of Food Science and Technology, 32(4), 339-347.
- Kyung, K. W. And Thomas, R. L., 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. Food Chemistry. 101, 308-313.
- Ladrat, C., Verrez-Bagnis, V., Noel, Fleurence, J., 2003. In Vitro Proteolysis of Myofibrillar and Sarcoplasmic Proteins of White Muscle of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Effects Of Cathepsins B, D and L. Food Chemistry, 81(4), 517-525.
- Laemmli, U.K., 1970. Clavege of Structural Proteins Guring The Assembly of Yhe Heat of Bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685.
- Lakshmanan, R., Patterson, M.F. and Piggott, J.R., 2005. Effects of high-pressure processing on proteolytic enzymes and proteins in cold-smoked salmon during refrigerated storage. Food Chemistry, 90, 541-548.
- Lin, T.M., Park, J.W., 1996. Extraction of Proteins From Pacific Whiting Mince at Various Washing Conditions. Journal of Food Science. 61(2), 432-438.
- Lopez-Caballero, M.E., Perez-Mateos, M., Borderias, J.A., Montero, P., 2000. Extension of the shelf life of prawn (*Penaeus japonicus*) by vacuum packaging and high pressure treatment. Journal of Food Protection, 63(10), 1381-1388.
- Lopez-Caballero, M. E., Góamez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M. and Montero, E 2004. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Journal of Food Science. 60, 160-170.
- Lopez-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Montero, P., 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids, 19, 303-311.
- Love, R.M., 1997. Biochemical Dynamics and the Quality of Fresh and Frozen Fish. Fish Processing Technology. (Hall, G.M.,-ed.), Blackie Academic and Professional, 1-26, London.

- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein Measurament with the Folin Phenol Reagent, J. Biol. Chem., 193(1), 265-275.
- Lung, K.E., Nielsen, H.H., 2001. Proteolysis in Salmon (*Salmo salar*) During Cold Storage; Effects of Storage Time and Smoking Process. Journal of Food Biochemistry, 25(5), 379-395.
- Mackie, I., Craig, A., Etienne, M., Jerome, M., Fleurence, J., Jessen, F., Smelt, A., Kruijt, A., Yman, I.M., Ferm, M., Martinez, I., Pérez-Martín R., Piñeiro, C., Rehbein, H., 2000. Species Identification of Smoked and Gravad Fish Products by Sodium Dodecylsulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis, Urea Isoelectric Focusing and Native Isoelectric Focusing: a Collaborative Study. Food Chemistry 71(1), 1-7.
- Manas, P., Pagan, R., 2005. Microbial inactivation by new technologies of food Preservation. Journal of Applied Microbiology, 98, 1387–1399.
- Michalczyk, M. ve Surówka, K., 2007. Changes in protein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gravads during production and storage. Food Chemistry.104, 1006–1013.
- Moraru, C., 2008. 21 Annual Cornell Conference on Dairy Markets and Product Research, Cornell University, Syracuse.
- Muşabak, C., 2008. Kitosanla Kaplama Ve Modifiye Atmosfer Ambalajlamanın Palamut (*Sarda sarda*) Filetolarının Kimyasal Parametreleri Üzerine Etkisi. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri ABD Yüksek Lisans Tezi, 43.
- Nakagawa, Y., and Moldeus, P. 1998. Mechanism of p-hydroxybenzoate ester-induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. Biochemistry Pharmacol. 55, 1907–1914.
- Nicholas, T.A., 2003. Antimicrobial use of native and enzymatically degraded chitosans for seafood applications. B.S. University of Maine, Master Thesis, 144, in Food Science and Human Nutrition.
- No, H. K. and Meyers, S. P., 1985. Preparation and Characterosan Gels: A Combined Catalyst and Sorbent for Selective Phenol Removal. Biotechnol. Bioeng., 51, 79-86.
- No, H.K., Lee, K.S. and Meyers, S.P., 2000. Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. Journal of Food Science, 65, 1134-1137.

- No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and XU, Z., 2007. Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review. *Journal of Food Science*, 72 (5), 87–100.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193–198.
- Ortea, I., Rodriguez, A., Tabilo-Munizaga, G., Perez-Won, M., Aubourg S.P., 2010. Effect of hydrostatic high-pressure treatment on proteins, lipids and nucleotides in chilled farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) muscle. *European Food Research and Technology*, 230,925–934.
- Ouattara, B., Simard R.E., Piette G., , Bégin, A., Holley, R.A., 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*. 62, 139–148.
- Öz, F., Kaya, M., 2006. Yüksek basınç uygulamasının et kalitesi üzerine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 37(2), 249-255.
- Özcan, D., Obuz, Ersel., 2006. Yüksek basınç uygulamasının gıda enstitüsünde kullanımı. *Türkiye 9. Gıda kongresi*, 675 – 678.
- Özlü, H., 2006. Et Teknolojisinde Yüksek Basınç Uygulamaları . Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 71, Erzurum.
- Paarup, T., Sanchez, J.A., Pelaez, C., Moral, A., 2002. Sensory, chemical and bacteriological changes in vacuum-packed pressurised squid mantle (*Todaropsis eblanae*) stored at 4°C. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 1–12.
- Peterson , G.L., 1977. A Simplification of The Protein Assay Method of Lowry. Which is More Generally Applicable. *Anal Biochem.*, 83(2), 346-56.
- Refai, M.K.,. 1979. *Manual of Food Quality Control*, 4. Microbiology Analysis, Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome.
- Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18(5), 566–575.
- Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., LeBail, A., Ramaswamy, S.H., Simpson, B.K., 2006. Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 13–18.

- Sarioğlu, T., 2005. Yenilebilir filmlerin kaşar peynirinin ile kaplanmasında kullanıma olanakları ve peynir kalitesi üzerine etkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 98, Isparta.
- Sathivel, S., 2005. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets During Frozen Storage. *Journal of Food Science*, 70, 455–459.
- Shahidi, F., Kamil, J., Jeon, Y.J. and Kim, S.K., 2002. Antioxidant Role of Chitosan in cooked cod (*Godus morhua*) model system. *Journal of Food Lipids*, 9 (1), 57–64.
- Sikorski, Z. E., Kolakowska, A., & Burt, J. R. 1990. Post harvest biochemical and microbial changes. In Z. E. Sikorski (Ed.), *Seafood: Resources, nutritional composition and preservation* (pp. 55–75). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Şanal, İ., Çalimli, A., 2000. Yüksek hidrostatik basınç teknolojisi ve gıda endüstrisinde uygulamaları. *Gıda*, 25(3), 193–201.
- Şengör, G.F., Çelik, U., Akkuş, Sevilsen., 2000. Buzdolabı Kosullarında Depolanan Istavrit Balığı (*Trachurus trachurus*, L. 1758)'nın Tazeliginin ve Kimyasal Bilesiminin Belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 24, 187–193.
- Şentürk, T., 2011. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Uskumru (*Scomber Scombrus*) ve Barbunun (*Mullus Barbatulus*) Kalite Faktörleri ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi. ODTÜ, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans, 69, Ankara.
- Thorarinsdottir, K.A., Arason, S., Geirsdottir, M., Bogason, S.G., Kristbergsson, K., 2002. Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77(3), 377–385.
- Tsai GJ, Su WH, Chen HC, Pan CL., 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68:170–177.
- Ünlüsayın, M., Kaleli, S., Gülyavuz, H., 2001. The determination of flesh productivity and protein components of some fish species after hot smoking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 661–664.
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 605.

- Üretener, G., 2009. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Balık Kalitesi Ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 96, İstanbul.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Graviilidou, E., Papavergou, E., & Vasiliadou, S. 1997. Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 205(2), 93–96.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H., 1993. Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 17, 174 .
- Vasconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., & Gerschenson, L. N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762–769.
- Verrez-Bagnis, V., Noel, J., Sautereau, C., Fleurence, J., 1999. Desmin degradation in postmortem fish muscle. *Journal of Food Science*, 64(2), 240-242.
- Verrez-Bagnis, V., Ladrat, C., Morzel, M., Noel, J., Fleurence, J., 2001. Protein Changes in Post Mortem Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Muscle Monitored by One-and Two-Dimensional Gel Electrophoresis. *Electrophoresis*, 22, 1539-1544.
- Yagız, Y., Kristinsson, H.G., Balaban, M.O., Marshall, M.R., 2007. Effect of High Pressure Treatment on the Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Mahi Mahi (*Coryphaena hippurus*). *Journal of food science*, 72 (9), 509-515.
- Yanar, Y., Çelik, M., Akamca, E., 2006. Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 40C. *Food Chemistry*, 97, 244-247.
- Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S. And Siripatrawan, U., 2006. Effect of Chitosan Coating and Vacuum Packaging on the Quality of Refrigerated Grilled Pork. *Packag, Technol. Sci.*, 19: 149-157.
- Zahra, Z., 2004. High Pressure Processing Of Fresh Tuna Fish and Its Effects On Shelf Life. A thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial. Fulfillment of the degree of Master of Science.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sinem SİPAHİOĞLU

Doğum Yeri ve Yılı : Antalya - 1985

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : sipahioglusinem@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Muratpaşa Lisesi

Lisans :Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi

Yüksek Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi

Mesleki Deneyim

Ela Quality Resort Hotel, 2008 -2012

Antalya Aquarium, 2012 - Halen