



**Ayşe Gürel İnanlı, Özlem Emir Çoban, Songül Yüce, Burcu Çelik**

Fırat University, Elazığ-Turkey  
agurelinanli@hotmail.com; öecoban@firat.edu.tr;  
songulyuce23@hotmail.com; bur75tr@yahoo.com

DOI	<a href="http://dx.doi.org/10.12739/NWSA.2018.13.4.5A0106">http://dx.doi.org/10.12739/NWSA.2018.13.4.5A0106</a>	
ORCID ID	0000-0002-2592-6438	0000-0003-1388-0740
	0000-0003-1011-1890	0000-0002-6911-7907
CORRESPONDING AUTHOR	Ayşe Gürel İnanlı	

**YABAN MERSİNİ (Blue berry) VE KURT ÜZÜMÜ (Gojiberry) EKSTRAKTlarıyla  
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KİTOSAN ile KAPLANMIŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIK (*Onchorhynchus  
mykiss* WALBAUM 1792) FİLETOLARININ PİYASA KOŞULLARINDA MİKROBİYOLOJİK  
DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZ**

Çalışma, yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktları ilaveli kitosan kaplamanın, gökkuşağı alabalığı filetolarında mikrobiyel gelişmeyi önleyebilmek ya da kontrol altına alabilmek için ne kadar etkili olduğunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Filetolar, normal, kitosan kaplı, yaban mersini ekstraktı ilaveli kitosan kaplı, kurt üzümü ekstraktı ilaveli kitosan kaplı olmak üzere toplam 4 deneysel grup olarak strafor paketler içerisinde +8 °C'de muhafazaya alınmıştır. Muhafazadaki örneklerin 3 günde bir mezofil aerob bakteri, psikrofil aerob bakteri, maya-küf ve *Enterobacteriaceae* bakteri sayımları yapılmıştır. Çalışmada belirlenen TMAB sayısı tüm gruplarda ise 6. günde kabul edilebilir limit değerini aşmıştır. TPAB sayıları tüm gruplarda muhafaza süresince zamana bağlı olarak artmıştır. Depolama sonunda maya-küf sayıları, en yüksek kontrol grubunda 5,14±0,12 log kob/g, en düşük kurt üzümü ilaveli kitosanla kaplanmış grupta 3,74±0,19 log kob/g olarak belirlenmiştir. Çalışmadaki örneklerde *Enterobacteriaceae* bakteri sayısı en yüksek 6. günde kontrol grubunda (5,28±0,22 log kob/g) saptanmıştır. Sonuç olarak; kitosan ve bikki ekstaktı ilaveli kitosan kaplamaların filetoların mikrobiyolojik nitelikleri üzerinde olumlu etkisinin olduğu kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kitosan, *Oncorhynchus mykiss*, Yaban Mersini, Kurt Üzümü, Mikrobiyolojik Değişim

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE FILLETS OF RAINBOW TROUT  
(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) ON MICROBIOLOGICAL CHANGES OF CHITOSAN  
COATING ENRICHED WITH BLUEBERRY AND GOJI BERRY EXTRACTS ON MARKET CONDITIONS  
ABSTRACT**

The study was carried out to determine the effective of blueberry and goji berry extracts added chitosan coating for prevention or controlling microbial growth in rainbow trout fillets. The fillets were stored in styrofoam packages at +8 °C as a total of four experimental groups, including chitosan coated, blueberry extract supplemented chitosan coated, gojiberry extract added chitosan coated. The microbiological changes of the samples were determined in every three days period as counts of total mesophilic aerobic bacteria, total psychrophile aerobic bacteria, *Entorobactericeae* bacteria and yeast-mold. In the study the count of TMAB was determined exceeded the acceptable limit value on the 6<sup>th</sup> day in all groups. The highest count of yeast-mold at the end of the storage, 5.14 ± 0.12 log cfu/g in group control, the lowest 3.74 ± 0.19 log cfu/g in gojiberry extract added chitosan coated group. The highest count of *Enterobacteriaceae* bacteria in the samples were found in group A (5.28 ± 0.22 log cfu/g) on the 6<sup>th</sup> day. As a result; it was concluded that chitosan and plant extracts added chitosan coatings had a positive effect on the microbiological qualities of fillets.

**Keywords:** Chitosan, *Oncorhynchus mykiss*, blueberry, Goji Berry, Microbiological Change

**How to Cite:**

Gürel İnanlı, A., Emir Çoban, Ö., Yüce, S. ve Çelik B., (2018). Yaban Mersini (Blue berry) ve Kurt Üzümü (Gojiberry) Ekstraktlarıyla Zenginleştirilmiş Kitosan İle Kaplanmış Gökkuşağı Alabalık (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum 1792) Filetolarının Piyasa Koşullarında Mikrobiyolojik Değişimlerinin İncelenmesi, *Ecological Life Sciences (NWSAELS)*, 13(4):171-181, DOI: 10.12739/NWSA.2018.13.4.5A0106.

## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Balık etinin yapısı, bozulma yapan mikroorganizmaları ve yaygın gıda kaynaklı patojenlerin hızlı büyümesi ve çoğalması için uygundur (Sedigh-Jasour, vd., 2015). Balıklarda bu mikroorganizmaları inhibe etmek için birçok uygulama geliştirilmektedir (Gómez-Estaca, vd., 2010). Bu tekniklerden biri de diğer gıda ürünlerinde de yaygın şekilde kullanılan yenilebilir filmlerden faydalanmaktır (Dursun ve Erkan, 2009). Bir taraftan ürün kalitesini muhafaza ederken öte taraftan yenilebilir kaplamalarla ambalaj atıklarını azaltmak ve tüm bu çabalara ilaveten gıdanın raf ömrünü daha da uzatmak için özellikle bileşimlerindeki fenolik maddeler nedeniyle güçlü antimikrobiyel ve antioksidan etkiye sahip olan bitki ekstraktlarının ambalaj sistemlerinde kullanımı gıda sektörü için oldukça önemli bir gelişme ve yeniliktir (Zivanovic, vd., 2005). Kitosan kaplama malzemesi olarak kullanıldığında antimikrobiyal, antioksidan ve antifungal etkilerinin araştırılması üzerine yapılan pek çok araştırma mevcuttur. Meyve ve sebzelerin kaplanmasında kaplama olarak uygulanabilirliği (Devlieghere, vd., 2004) incelenmiştir ve buna göre, kivi, armut, şeftali (Du, vd., 1997), domates (Ghaouth, vd., 1992), dilimlenmiş mango (Chien, vd., 2007), çilek (Han, vd., 2005), havuç, et ürünlerinden soyulmuş sosislerin kaplanmasında (Mahan, 2007), salam, pastırma, jambon (Quattara, vd., 2000), gümüş balığın (Fan, vd., 2009), palamut filetolarının (Arashisar vd., 2009) ve somon füme (Ye vd., 2008) gibi pek çok çalışmada kaplama olarak kullanılmıştır ve gıdaların raf ömrünü uzattığı sonucuna varılmıştır.

Son yıllarda esansiyel yağların doğrudan polimerlere ilavesi ile antimikrobiyal plastik filmlerin üretimine yönelik alınan patentler bu filmlerin özellikleri ve antimikrobiyal etkilerine yönelik yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ümit vericidir (Becerril, vd., 2007; Gutierrez, vd., 2009). Esansiyel yağ, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından elde edilen oda sıcaklığında sıvı halde olan, kolaylıkla kristalleşebilen genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu doğal bir üründür. Güzel kokulu olmasından dolayı esans ya da eterik yağ da denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklıdır (Ceylan, 1983; Davidson, vd., 1983; Bakkali, vd., 2008; Kılıç, 2008). Sağlık bakımından son derece yararlı olan yaban mersini taze meyve olarak, meyve suyu, ilaç, süt ve süt ürünleri, reçel, marmelat ve konserve sanayinde kullanılmaktadır. Bu meyve ile ilgili dünya çapında bilimsel dergilerde yüzlerce araştırma makalesi yayınlanmıştır (Cabrita, vd., 2000; Çelik, 2005). Ancak literatürlerde su ürünlerinde ve kaplama materyali olarak kullanımına ilişkin bir bilgiye rastlanmamıştır.

Dünyada goji berry ya da wolf berry olarak bilinen ancak ülkemizde pek bilinmeyen kurt üzümü besin değeri en yüksek meyvelerden biridir. Çok kuvvetli bir antioksidan olan bu meyve Çin'de tıp alanında 2000 yıldır kullanılmaktadır. Goji berry'nin yüksek antioksidan aktivitesinin  $\beta$ -karoten ve fenolik bileşenlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Goji berry'de mevcut olan diğer doğal antioksidanlar ise tanen, lignan ve flavonoidlerdir. Kurt üzümünün çekici kırmızı-sarı rengi lipofilik bileşiklerin bir grubu olarak bilinen karotenoidlerden kaynaklanmaktadır (Lee, vd., 2002; Kammerer, vd., 2007). Bitki ekstraktlarının gıdalarda doğal kaynaklı koruyucular olarak kullanım olanağı olduğunu ortaya koyan birçok çalışma yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyel ve antioksidan aktivitesine yönelik çalışmalardan elde edilmiş veriler gıdalardaki aktivitelerine yönelik değerlendirmeler yapabilmek için yetersizdir. Bu nedenle doğrudan gıdalar ile birlikte kullanımına yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır. İlimizde önemli miktarlarda (15.000 ton)

yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) beğenilerek tüketilen eti lezzetli bir balık olduğundan dolayı tercih edilen bir türdür. Bu tür, taze tüketiminin yanı sıra farklı biçimlerde işlenerek te tüketime sunulmaktadır. Bu çalışmada, yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktları ile zenginleştirilmiş kitosan kaplamanın, gökkuşağı alabalığı filetolarında, mikrobiyel gelişmeyi önleyebilmek ya da kontrol altına alabilmek, dolayısıyla kalitede kayıplarını azaltarak raf ömrünü artırabilmek için ne kadar etkili olduğunu belirlemek amacıyla yapılmıştır.

## 2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

Kitosan, antimikrobiyal ve antioksidan maddeler için taşıyıcı görev görmektedir ve gıda yüzeyine uygulanarak, yüzeydeki koruyucu maddelerin iç kısımlara difüzyonunun hızını kontrol etmek amacıyla da kullanılmaktadırlar. Çalışmamızda balık filetolarının yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktları ilaveli kitosan ile kaplanarak, antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi balık ambalajlanmasında bir gelişme olmuştur. Yenilebilir kaplamaların balıkların mikrobiyolojik nitelikleri üzerine olumlu etkisi, pazarlama yönünü artıracakı düşünülmektedir. Son yıllarda bitki ekstraktlarının gıdalarda doğal kaynaklı koruyucular olarak kullanım olanağı olduğunu ortaya koyan birçok çalışma yapılmıştır. Ancak antimikrobiyal ve antioksidan olan yaban mersini ve kurt üzümü bu çalışmada ilk defa kullanılmıştır.

## 3. DENEYSSEL ÇALIŞMA (EXPERIMENTAL METHOD-PROCESS)

Ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) eti lezzetli ve beğenilerek tüketilen ekonomik bir balık türüdür. Araştırmada kullanılan alabalıklar, Elazığ İli'nde bulunan bir alabalık yetiştiriciliği tesisinden temin edildi. Çalışma iki tekerrürlü iki paralelli olarak yapıldı. Her tekerrür arası yaklaşık 10 gün olacak şekilde balıklar temin edildi ve elde edilen balıkların ağırlıkları 250-300gr arasında olmak üzere her tekerrürde 25 balık kullanıldı. Film solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan orta moleküler ağırlıkta olan kitosan (CAS no; 9012:76-4). Sigma-Aldrich'den, araştırmada, hazırlanan kitosan solüsyonlarına eklemek üzere gojibery ve blueberry ekstraktları ise ticari bir firmadan (Xi'a Xin Sheng Bio-chem Co., Ltd, China) temin edildi. Kullanılan bu ekstraktlar gıda amaçlı olup, ISO 22000, GMP, FDA ve helâl sertifikalarına sahiptir. Yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktlarının kitosan kaplama solüsyonunda çözündürülmesi için kullanılan Tween-20 ve çalışmada diğer analizler için kullanılan kimyasallar Merck Co. (Darmstadt, Almanya)'dan temin edildi.

Ponce, vd., (2008)'nin uyguladıkları metoda göre; öncelikle asetik asit %1(h/h) çözeltisi içinde kitosan %2(a/h) çözündürülerek saf kitosan solüsyonu hazırlandı. Yapılan bu kitosan solüsyonuna plastikleştirici olarak gliserol %0.65(h/h) oranında ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcı (Hot&Stirrer-Tepe, MS300HS) ile 6 saat boyunca karıştırma işlemi yapıldı. Daha sonra çözünmeyen partiküllerin uzaklaştırılması için tüplerde 5000rpm'de 5 dakika santrifüj (Nüve NF 800R) işlemi yapılarak saf kitosan solüsyonu elde edildi. Ekstraktların kaplama solüsyonunda çözündürülebilmesi için öncelikle elde edilen saf kitosan solüsyonuna %0.1(h/h) oranında Tween 20 ilave edildi ve homojenizatör (Wise Stir DAIHAN Scientific HS-30E) ile 20000rpm'de 1 dakika süresince homojenize edildi. Ayrıca yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktları da tekrar Tween 20 (%0.5h/h) ilave edilerek 1 dakika süreyle vortekslendi (Velp Scientifica 10.0176) ve ekstraktların ilave edildiği kaplama solüsyonunu oluşturmak için hazırlanan saf kitosan solüsyonuna %1(h/h) oranında yaban mersini ve kurt üzümü ekstraktları ilave edildi. Filetolar 15sn süreyle hazırlanan

3 farklı kaplama solüsyonlarına daldırıldıktan sonra 10 °C'ye ayarlı soğuk hava üfleme dolapta 1 saat süreyle kurutuldu. Kuruma ile şekillenen kontrol grubu ile birlikte 4 deneysel grup strafor kaplarda paketlenerek +8°C'de muhafazaya alındı.

### **3.1. Mikrobiyolojik Analizler (Microbiological Analysis)**

#### **3.1.1. Örneklerin Analizlere Hazırlanması**

##### **(Preparing the Samples for Analysis)**

Mikrobiyolojik analizler için fileto örnekleri bir parçalayıcının özel torbasında 10gr tartılarak ve üzerine steril %0.1'lik peptonlu sudan 90mL ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örnek 10<sup>-1</sup>(1/9) olarak seyreltildi. Bu seyrelti aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10<sup>-6</sup>'ya kadar diğer seyreltileri elde edildi. Örneklerin her seyreltisinden 1'er mL kullanılarak çift seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapıldı. İnkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar dikkate alındı (Halkman, 2005).

#### **3.1.2. Mezofil Aerob Bakterilerin Sayımı**

##### **(Mesophile Aerob Bacteria Count)**

Örneklerdeki mezofil aerob bakteri sayımı için Plate Count Agar kullanıldı. Ekimi yapılacak plaklar, 30±1°C'de 3 gün bekletildikten sonra oluşan koloniler sayıldı (Harrigan ve McCance, 1976; ICMSF, 1986).

#### **3.1.3. Psikrofilik Bakteri Sayımı (Psychophilic Bacteria Count)**

Psikrofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar besiyeri (PCA) kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 5±1°C'de 10 gün inkübe edildikten sonra oluşan koloniler değerlendirildi (Harrigan, 1998).

#### **3.1.4. Maya-Küf Sayımı (Yeast-Mold Count)**

Örneklerdeki maya ve küf sayımı için %10'luk tartarik asit ilave edilerek pH'sı 3.5'e düşürülmüş Potato Dextrose Agar besiyeri (PDA) kullanıldı. Plaklar 25±1°C'de 4-5 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (ICMSF, 1986).

#### **3.1.5. Enterobakteriaceae Bakteri Sayımı**

##### **(Enterobakteriaceae Bacteria Count)**

Çalışmada incelenen örneklerdeki Enterobakterilerin sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) kullanılarak 37±1°C'de 24 saat inkübasyon sonunda oluşan koloni sayısı belirlenerek değerlendirildi (Harrigan, 1998).

### **3.2. İstatiksel Analiz (Statistical Analysis)**

Proje çalışmasında elde edilen verilerin istatistiksel analizlerin yapılmasında IBM SPSS®22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) bilgisayar istatistik paket programı kullanıldı. Araştırmada yapılan analizler neticesinde belirlenen kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal verilerin gruplar ve muhafaza günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemi varyans analizi (ANOVA) Duncan karşılaştırması kullanılarak belirlendi (Özdamar, 2001).

### **4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR (FINDINGS AND DISCUSSIONS)**

Araştırmada kullanılan deneysel örnek gruplarının muhafazası sırasında belirlenen Toplam Mezofilik Aerob Bakteri (TMAB), Toplam Psikrofilik Aerob Bakteri (TPAB), Enterobakteriaceae ve Maya-Küf sayıları Çizelge 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Çalışmada fileto örneklerinin muhafaza süresince belirlenen Toplam Mezofilik Aerob Bakteri (TMAB), Toplam Psikrofilik Aerob Bakteri (TPAB), Enterobakteriaceae ve Maya-Küf sayıları (log kob/g) (Table 1. The determined counts of Total Mesophilic Aerob Bacteria (TMAB), Total Psychophilic Aerob Bacteria (TPAB), *Enterobakteriaceae* and Yeast-Mold of fillet samples during the storage (log cfu/g))

Mikrobiyolojik Analizler	Gruplar	0. Gün	3. Gün	6. Gün
Mezofil Aerob Bakteri	A	2.13±0.23 <sup>x</sup>	5.15±0.07 <sup>e</sup>	7.18±0.03 <sup>d</sup>
	B	2.44±0.27	4.30±0.03 <sup>dey</sup>	6.56±0.25 <sup>cd</sup>
	C	2.45±0.27	4.11±0.11 <sup>cd</sup>	6.30±0.11 <sup>cz</sup>
	D	2.31±0.25	3.92±0.12 <sup>c</sup>	5.96±0.05 <sup>c</sup>
Psikrofil Bakteri	A	3.23±0.36 <sup>x</sup>	6.15±0.08 <sup>a</sup>	8.34±0.32 <sup>a</sup>
	B	3.12±0.35	6.12±0.05 <sup>by</sup>	8.23±0.16 <sup>e</sup>
	C	3.33±0.37	4.99±0.29 <sup>b</sup>	7.69±0.15 <sup>ez</sup>
	D	3.36±0.37	4.69±0.43 <sup>ab</sup>	6.35±0.17 <sup>c</sup>
<i>Enterobakteriaceae</i>	A	2.67±0.04 <sup>x</sup>	3.58±0.27 <sup>cd</sup>	5.28±0.22
	B	2.59±0.08	3.37±0.15 <sup>bcdy</sup>	4.54±0.24
	C	2.48±0.01	3.75±0.15 <sup>d</sup>	4.22±0.05 <sup>z</sup>
	D	2.47±0.00	3.43±0.34 <sup>bcd</sup>	4.60±0.34
Maya-Küf	A	2.38±0.06 <sup>b</sup>	4.23±0.30 <sup>c</sup>	5.14±0.12 <sup>bc</sup>
	B	1.58±0.07 <sup>a</sup>	3.37±0.11 <sup>bc</sup>	4.34±0.35 <sup>d</sup>
	C	1.72±0.08 <sup>a</sup>	3.82±0.01 <sup>bc</sup>	4.09±0.06 <sup>d</sup>
	D	1.75±0.10 <sup>a</sup>	3.54±0.43 <sup>b</sup>	3.74±0.27 <sup>cd</sup>

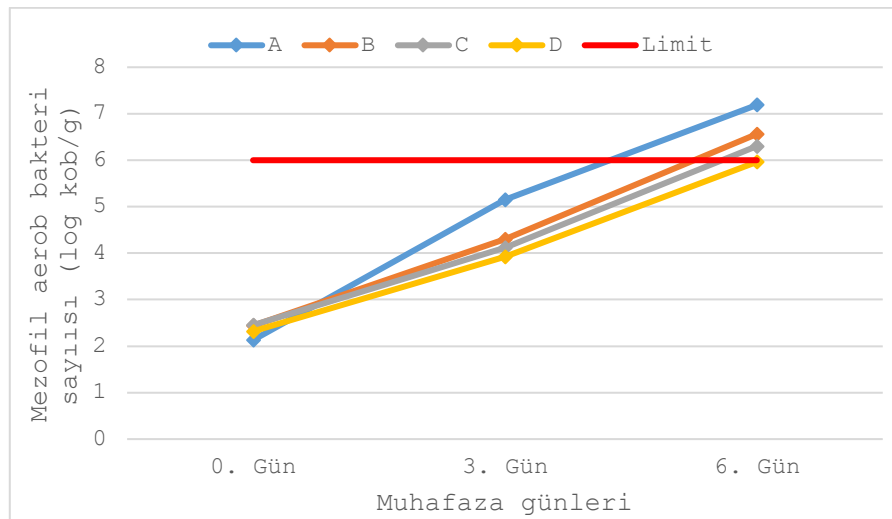
A:Normal paketleme yapılmış fileto C:Kitosan+yaban mersiniyle kaplanmış grup  
B:Kitosanla kaplanmış grup D:Kitosan+kurtüzümü ile kaplanmış grup  
AY:Analiz yapılmadı

a, b, c, d: Aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar muhafaza günlerindeki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.01)

x, y, z: Aynı satırdaki değişik rakamları taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar günler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

#### 4.1. Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayısı (TMAB) (Total Mesophilic Aerob Bacteria Number)

Çalışmada incelenen örneklerin muhafazası sırasında belirlenen TMAB sayısı miktarlarındaki değişiklikler Şekil 1'de verilmiştir.



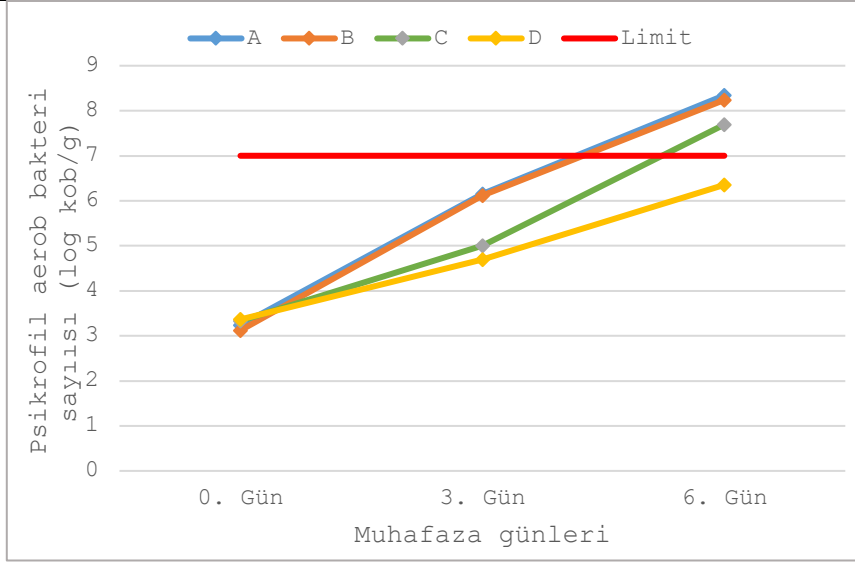
Şekil 1. Deneysel fileto örneklerinin muhafazası süresince belirlenen TMAB sayıları (log kob/g) değerlerinde meydana gelen değişimler (Figure 1. The changes of TMAB counts (log cfu/g) on samples of experimental fillet during the storage)

Muhafaza süresince saptanan veriler istatistiki olarak değerlendirildiğinde, zamanla TMAB sayısında meydana gelen artışlar önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.01$ ). Taze balıklarda toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısının kabul edilebilir limit değeri ICMSF (1986) tarafından 6 log kob/g olarak bildirilmiştir. Çalışmada belirlenen toplam mezofilik aerob bakteri sayısı, tüm gruplarda ise 6. günde kabul edilebilir limit değerini aşmıştır. Jeon, vd., (2002) tarafından, kitosanla kaplanmış ringa ve morina balıklarının muhafaza periyodu boyunca mikrobiyal yükte sırasıyla 3 ve 2 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, mikrobiyal bozulmanın engellenmesi ve azaltılması üzerine kitosan 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). Gómez-Estaca, vd., (2007) tarafından jelatin-kitosan filmlerin soğuk dumanlanmış sardalya balıklarının mikrobiyal gelişiminin engellenmesinde çok etkili olduğu rapor edilmiştir.

Alak, vd., 2010, kitosan film ile paketlenmiş *Sarda sarda* filetolarında aerobik bakterilerin gelişimi, kontrol ve vakum gruplarına göre daha yavaş olduğu bulunmuştur. Taze olarak vakumlanan ve 4°C'de muhafazaya alınan ot sazanının (*Ctenopharyngodon idellus*) raf ömrü üzerine, %1, %1.5, %2, %2.5 ve %3 konsantrasyonlardaki kitosanın etkisinin araştırıldığı çalışmada; kitosan solüsyonunun bakteri gelişimini yavaşlattığı ve %2'lik kitosan konsantrasyonun raf ömrünü uzatmak için en ideal konsantrasyon olduğu bildirilmiştir (Runfeng ve Li, 2011). Bu bulgular bizim bulgularımızla paralellik gösterdiği ifade edilebilir. Ayrıca çalışmamızda belirlenen TMAB sayılarına bakıldığında kitosan kaplamanın ve bitki ekstraktlarının anti bakteriyel etkiye sahip olduğu görülebilir.

#### **4.2. Toplam Psikrofilik Aerob Bakteri Sayısı (TPAB) (Total Psychophilic Aerob Bacteria Count)**

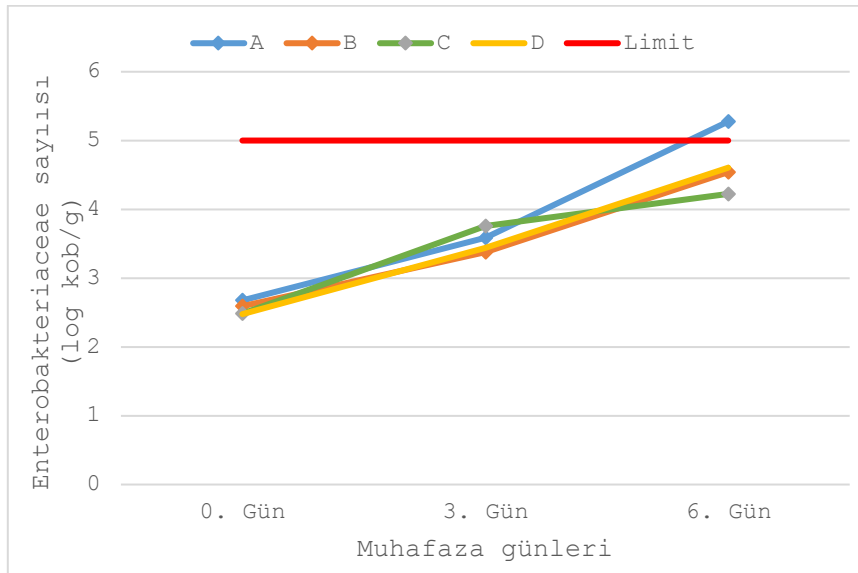
Deneyel olarak hazırlanan örneklerdeki toplam psikrofilik aerob bakteri sayısının muhafaza boyunca belirlenen değerlerindeki değişimler Şekil 2'de verilmiştir. Psikrofilik bakteriler, düşük sıcaklıklarda depolanan taze balıkların aerobik bozulmasından sorumlu en önemli mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır (Sallam, 2007). Psikrofilik bakteri sayıları tüm gruplarda muhafaza süresince zamana bağlı olarak artmıştır (Çizelge 1.). Kontrol grubu örneklerde belirlenen değerler diğer üç gruba göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Duan, vd., (2010), Kuzey Amerika Pasifik denizinde bulunan ve ticari bir balık türü olan lingcod (*Ophiodon elongatus*) filetolarını kitosan ile kaplayarak muhafaza etmiştir. Araştırmada, üçüncü hafta sonunda TPAB sayısının 7 log<sub>10</sub> kob/g değerini aştığı, kontrol grubu örneklerde ise birinci hafta sonunda 7.5 log<sub>10</sub> kob/g değerine ulaştığı gözlemlenmiştir. Adı geçen çalışmada, kitosanın antibakteriyel özelliği ortaya konmuştur. Alak, vd., (2010), palamut filetolarında psikrofilik bakteri sayısını kontrol grubu örneklerinde 6.9 log<sub>10</sub> kob/g, kitosan ile kapladığı örneklerde ise 5,6 log kob/g olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada da benzer sonuç elde edilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da kitosan ve kullanılan bitki ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin olduğu ifade edilebilir.



Şekil 2. Deneysel fileto örneklerinin muhafazası süresince belirlenen TPAB sayıları (log kob/g) değerlerinde meydana gelen değişimler (Figure 2. The changes of TPAB counts (log cfu/g) on experimental fillet samples during the storage)

#### 4.3. Enterobacteriaceae Bakteri Sayısı (Enterobacteriaceae Number of Bacteria)

Deneysel olarak hazırlanmış Gökkuşluğu alabalığı filetolarında ve farklı esansiyel ekstraktlar uygulanarak hazırlanan kitosanla kaplanmış fileto örneklerinin muhafazası esnasında belirlenen *Enterobacteriaceae* sayısı miktarlarındaki değerler Çizelge 3'de verilmiştir.



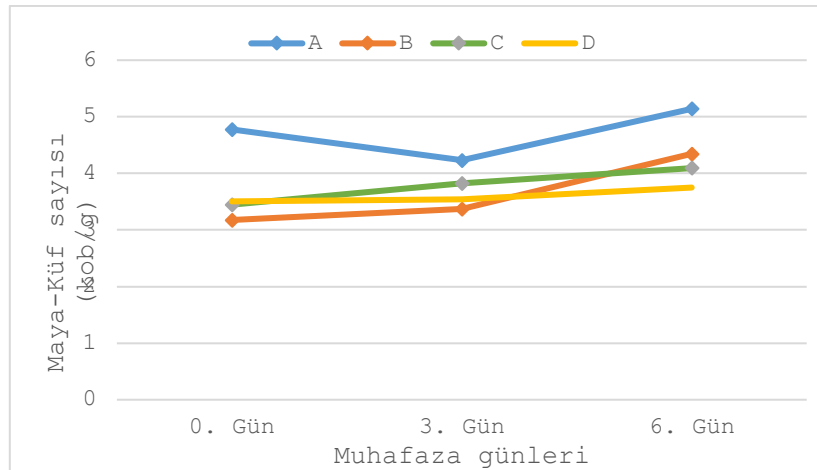
Şekil 3. Deneysel fileto örneklerinin muhafazası süresince belirlenen *Enterobacteriaceae* sayısı (log kob/g) değerlerinde meydana gelen değişimler

(Figure 3. The changes of *Enterobacteriaceae* counts (log cfu/g) on experimental fillet samples during the storage)

*Enterobacteriaceae* bakteri sayımı sanitasyon düzeyi ve enterik patojenlerin olası varlığı için iyi bir indikatör olabilmektedir. Kitosan kaplanmış Gökkuşluğu alabalığı filetolarında tespit edilen *Enterobacteriaceae* bakterilerin sayısı  $2.6 \pm 0.04$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Muhafazanın son günü olan 6. günde bakterilerin sayısı en yüksek değer 6. günde A grubunda ( $5.28 \pm 0.22$ ) en düşük değer ise C grubunda ( $4.22 \pm 0.05$ ) saptanmıştır. Deneysel olarak hazırlanan fileto örneklerindeki *Enterobacteriaceae* bakterilerin sayısı üzerinde muhafaza süresinin anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ) ve ayrıca *Enterobacteriaceae* bakteri sayısı bakımından muhafaza süresinin tüm gruplar üzerinde etkisinin istatistikî açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

#### 4.4. Maya-Küf Sayısı (Yeast-Mold Count)

Çalışmada deneysel olarak hazırlanan örneklerin muhafaza süresince tespit edilen maya-küf sayılarına ait değerlerin değişim ile ilgili grafik Şekil 4'da verilmiştir. Maya ve küfler balıklarda normal flora içerisinde bulunmazlar. Bunlar genellikle toprak orjinli olup balıklar avlandıkları anda sudan veya avlanma sonrası kullanılan alet ve malzemelerden bulaşmaktadır. Araştırmada kullanılan balık etinde maya-küf sayıları,  $2.40 \pm 0.08$  log kob/g tespit edilmiştir. Çalışmada maya-küf sayıları depolama sonunda, A grubunda  $5.14 \pm 0.12$  log<sub>10</sub> kob/g, B grubunda  $4.34 \pm 0.25$  log<sub>10</sub> kob/g, C grubunda  $4.09 \pm 0.04$  log<sub>10</sub> kob/g ve D grubunda  $3.74 \pm 0.19$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Örneklerde maya-küf sayıları bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Maya-küf sayısı bakımından muhafaza süresinin tüm gruplar üzerinde etkisinin istatistikî açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Kitosanın bariyer oluşturma özelliklerinin olması kitosanı antimikrobiyal özellikte yenilebilir film ve kaplamalar içinde ideal bir materyal haline getirmektedir. Çalışmamızda muhafaza boyunca maya ve küflerin değişimi incelendiğinde kitosan kaplamalı grupların kontrol grubundan farkı açıkça görülmektedir.



Şekil 5. Deneysel fileto örneklerinin muhafazası süresince belirlenen Maya-Küf sayısı (log kob/g) değerlerinde meydana gelen değişimler  
(Figure 5. The changes of yeast and mold counts (log cfu/g) on experimental fillet samples during the storage)

#### 5. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS)

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, kitosanın gıda endüstrisinde ambalaj materyali olarak kullanımı ürünlerin raf ömürlerini olumlu yönde etkilemesinin yanında önemli bir kitosan kaynağı olarak su ürünleri endüstrisi atıklarının ekonomiye kazandırılmasına katkı



sağlayacaktır. Elde edilen bulgular, kitosan, yaban mersini ve kurt üzümü ilavesiyle hazırlanan yenilebilir kaplamaların kullanılmasının faydalı olabileceğini ve ulusal ekonomiye katkılar sağlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu çalışmadaki veriler değerlendirildiğinde; Kitosan ile hazırlanan kaplamaların ürünün mikrobiyolojik nitelikleri üzerine olumlu etkisinin olduğu ve deneysel örneklerde kullanılan kitosan kaplama ile farklı bitki ekstraktlarının daha farklı konsantrasyonlarda çeşitli balık ürünlerine uygulanarak birçok bilimsel çalışmaya temel oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

#### **AÇIKLAMA (EXPLANATION)**

Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yürütülen bu çalışma TAGEM (Proje No:TAGEM/HSGYAD/16/A05/P05/116) tarafından desteklenen projenin bir bölümüdür.

#### **NOT (NOTICE)**

Bu çalışma, 5-8 Eylül 2018 tarihleri arasında Priştine (Kosova)'da düzenlenen 3<sup>rd</sup> International Science Symposium'da sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

#### **KAYNAKLAR (REFERENCES)**

- Alak, G., Hisar, Ş.A., Hisar, O., Kaban, G., and Kaya, M., (2010). Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. Cilt:16, ss:73-80.
- Arashisar, Ş., Hisar, O., Kabani, G., Kayal, M., and Alak G., (2009). Effect of Chitosan Coating on Chemical And Microbiological Properties of Atlantic Bonito (*Sarda sarda*) Fillets. *Journal of Food Science Technology*, Volume:46, Issue:4, pp:380-383.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M., (2008). Biological Effects of Essential Oils. A Review, *Food and Chemical Toxicology*, Volume:46, pp:446-475.
- Becerril, R, Gomez-Lus, R., Goni, P., Lopez, P., and Nerin, C., (2007). Combination of Analytical and Microbiological Techniques to Study The Antimicrobial Activity of A New Active Food Packaging Containing Cinnamon or Oregano Against *E. coli* and *S. aureus*. *Anal Bioanal Chemistry*, Volume:388, pp:1003-1011.
- Cabrita, L., Fruystein, N.A., and Andersen, Q.M., (2000). Anthocyanin Trisaccharides in Blueberries of *Vaccinium Padifolium*, *Food Chemistry*, Volume:69 pp:33-36.
- Ceylan, A., (1983). *Tıbbi Bitkiler-II*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova-İzmir.
- Chien, P.J., Sheu, F., and Yang, F.H., (2007). Effects of Edible Chitosan Coating on Quality and Shelf Life of Sliced Mango Fruit. *Journal of Food Engineering*, Volume:78, pp:225-229
- Christie, W.W., (1990). *Gas Chromatography and Lipids*, The Oil Press, Glaskow, pp:302.
- Çelik, H., (2005). *Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği*. HASAD Yayın, S:128.
- Davidson, P.M., Post, L.S., Branen, A.L., and Mccurdy, A.R., (1983). Naturally Occurring and Miscellaneous Food Antimicrobials. In *Antimicrobials in Food*, pp:371-419.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., and Debevere, J., (2004). Chitosan: Antimicrobial Activity, Interactions with Food Components and Applicability as a Coating on Fruit and Vegetables, *Food Microbiology*, Volume:21, pp:703-714.

- Du, J., Gemma, H., and Ivahori S., (1997). Effect of Chitosan Coating on Storage of Peach, Japanese Pear and Kiwifruit, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, Volume:66, Issue:1, pp:15-22.
- Duan, J., Cherian, G., and Zhao, Y., (2010a). Quality Enhancement in Fresh and Frozen Lingcod (*Ophiodon elongates*) Fillets by Employment of Fish oil Incorporated Chitosan Coatings, *Food Chemistry*, Volume:119, pp:524-532.
- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., and 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*, Volume:122, Issue:4, pp:1035-1042
- Dursun, S. and Erkan, N., (2009). Yenilebilir Protein Filmler ve Su Ürünlerinde Kullanımı, *Journal of Fisheries Sciences.com*, Volume:3, Issue:4, pp:352-373
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., and Chi, Y., (2009). Effects of Chitosan Coating on Quality and Shelf Life of Silver Carp During Frozen Storage, *Food Chemistry*, Volume:115, pp:66-70
- Ghaouth, A.E., Ponnampalam, R., Castaigne, F., and Ar, J., (1992). Chitosan Coating to Extend the Storage Life of Tomatoes, *Hortscience*, Volume:27, Issue:9, pp:1016-1018.
- Gomez-Estaca, J., Lopez De Lacey, A., Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., and Montero, P., (2010). Biodegradable Gelatinechitosan Films Incorporated with Essential Oils as Antimicrobial Agents for Fish Preservation. *Food Microbiology*. 27, 889-896.
- Gomez-Estaca, J., Montero, P., Gime'nez, B., and 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*, Volume:105, pp:511-520.
- Gutierrez, L., Sanchez, C., Batlle, R., and Nerin, C., (2009). New Antimicrobial Active Package for Bakery Products, *Trends in Food Science and Technology*, Volume:20, pp:92-96.
- Günlü, A. and 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:10.1007/11947-012-0833-6.
- Halkman, A.K., (2005). *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*, Başak Matbaacılık, Ankara.
- Han, C., Lederer, C., Mcdaniel, M., and Zhao, Y., (2005). Sensory Evaluation of Fresh Strawberries (*Fragaria ananassa*) Coated with Chitosan-based Edible Coatings. *Journal of Food Science*, Volume:70, Issue:3, pp:172-178.
- Harrigan, W.F. and Mccance, M.E., (1976). *Laboratory Metods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press, London, pp:362.
- Harrigan, W.F., (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*, 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press., London.
- ICMSF, (1986). *Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*, Toronto: University of Toronto Press., pp:181-196.
- Jeon, Yj., Kamil, Jyva., and Shahidi, F., (2002). Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and

- Atlantic Cod, *Journal of Agricultural and Food*, Volume:20, Issue:50, pp:5167-5178 <http://dx.doi.org/10.1021/jf0116931>.
- Kammerer, D.R., Schillmöller, S., Maier, O., Schieber, A., and Carle, R., (2007). Colour Stability of Canned Strawberries using Black Carrot and Elderberry Juice Concentrates as Natural Colourants. *European Food Research and Technology*, Volume:224 Issue:6, pp:667-679.
  - Kılıç, A., (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi* 10, 13, 37-45.
  - Lee, J., Durst, R.W., and Wrolstad, R.E., (2002). Impact of Juice Processing on Blueberry Anthocyanins and Polyphenolics: Comparison of Two Pretreatments. *Journal of Food Science*, Volume:67, Issue:5, pp:1660-1667.
  - Mahan, F.I., (2007). Kitosanla Kaplanmış Soyulmuş Sosislerin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Raf Ömürlerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı.
  - Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H., (2010). Effect of Chitosan Coatings Enriched with Cinnamon Oil on the Quality of Refrigerated Rainbow Trout. *Food Chemistry*, Volume:120, Issue:1, pp:193-198. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006>.
  - Özdamar, K., (2001). SPSS ile Biyoistatistik. Yayın no:3,4. Baskı. Kaan Kitabevi, Eskişehir, pp:452.
  - Ponce, A.G., Roura, S.I., Del Valle, C.E., and Moreira, M.R., (2008). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Edible Coatings Enriched with Natural Plant Extracts: In vitro and in vivo studies, *Postharvest Biology and Technology*, Volume:49, pp:294-300.
  - Quattara, B., Simard, Re., Piette, G., Begin, A., and Holley R., (2000). Inhibition of Surface Spoilage Bacteria in Processed Meats by Application of Antimicrobial Films Prepared with Chitosan, *International Journal of Food Microbiology*, Volume:62, pp:139-148.
  - Runfeng, W. and Li, Z., (2011). Effect of Chitosan on Fresh-Keeping Refrigerated fillets of Fresh *Ctenopharyngodon Idellus*. *IEEE*, pp:1061-1064.
  - Sallam, K.I., (2007). Antimicrobial and Antioxidant Effects of Sodium Acetate, Sodium Lactate, and Sodium Citrate in Refrigerated Sliced Salmon. *Food Control*, Volume:18, Issue:5, pp:566-575.
  - Sedigh-Jasour, M., Ehsani, A., Mehryar, L., and Naghibis, S., (2015). Chitosan Coating Incorporated with the Lactoperoxidase System: An Active Edible Coating for Fish Preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. DOI: 10.1002/jsfa.6838
  - Váscenez, M.B., Flores, S.K., Campos, C.A., Alvarado, J., and Gerschenson, L.N., (2009). Antimicrobial Activity and Physical Properties of Chitosan-Tapioca Starch Based Edible Films and Coatings, *Food Research International*, Volume:42, Issue:7, pp:762-769.
  - Ye, M., Neetoo, H., and Chen, H., (2008), Effectiveness of Chitosan-Coated Plastic Films in Incorporating Antimicrobials in Inhibition of *Listeria Monocytogenes* on Cold-Smoked Salmon, *International Journal of Food Microbiology*, Volume:127, pp:235-240.
  - Zivanovic, S., Chi, S., and Draughton, A.E., (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils, *Journal of Food Science*, Volume:70, pp:45-51.