



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**DONDURULMUŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) FİLETOLARINDA BİTKİSEL KATKI MADDELERİ İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ NANOEMÜLSİYON KAPLAMANIN
KALİTE KRİTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Doktora Tezi)

Ayşe KARA

**Danışman
Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK**

**RİZE
2024**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalında, Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK danışmanlığında, Ayşe KARA tarafından hazırlanan *Dondurulmuş Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Filetolarında Bitkisel Katkı Maddeleri İle Zenginleştirilmiş Nanoemülsiyon Kaplamanın Kalite Kriterleri Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi* adlı bu tez çalışması, 31/10/2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Ünvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan

:

Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK

Üye

:

Prof. Dr. Bahar TOKUR

Üye

:

Doç. Dr. Barbaros DİNÇER

Üye

:

Doç. Dr. Koray KORKMAZ

Üye

:

Dr. Öğr. Üyesi Hakan KARAOĞLU

ETİK BEYAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Dondurulmuş Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarında Bitkisel Katkı Maddeleri İle Zenginleştirilmiş Nanoemülsiyon Kaplamanın Kalite Kriterleri Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

31/10/2024

Ayşe KARA

ÖN SÖZ

Doktora tez çalışmamın her aşamasında, birikimleri ve deneyimleriyle bu çalışmayı gerçekleştirmemde büyük katkısı bulunan, bilimsel desteğinin yanı sıra hiçbir zaman için benden manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezin tüm sürecinde değerli katkılarda bulunan Tez İzleme Komitesi üyeleri Doç. Dr. Barbaros DİNÇER ve Dr. Öğr. Üyesi Hakan KARAOĞLU'na teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Akademik yolculuğumda beni her zaman cesaretlendiren çok sevdiğim kıymetli Prof. Dr. Gonca ALAK hocama teşekkür ederim. Tez çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Barış KARSLI'ya ve Dr. Züleyha AKPINAR EMANET'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Mevcut tez çalışması Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 123O296 numaralı 1002-A Hızlı Destek Modülü ile desteklenmiştir. Bu kapsamda TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen hayatım boyunca minnettar kalacağım anneme, babama, kardeşlerime ve canım eşim Savaş KARA'ya sabrı ve anlayışı için yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe KARA

RİZE/2024

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	5
1.1. Su Ürünlerinde Bozulma.....	5
1.1.1. Lipit Oksidasyonu	7
1.1.2. Protein Oksidasyonu.....	9
1.2. Su Ürünlerinde Dondurma Teknolojisi	13
1.3. Nanoemülsiyonlar	15
1.4. Gökkuşaağı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	19
1.5. Aloe Vera Bitkisi.....	20
1.6. Kenevir Tohumu Yağı.....	21
1.7. Literatür Araştırması	22
1.8. Çalışmanın Amacı.....	27
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	29
2.1. Materyaller	29
2.1.1. Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	29
2.1.2. Aloe vera (<i>Barbadensis Miller</i>) bitkisi.....	30
2.1.3. Kenevir (<i>Cannabis sativa L.</i>) tohumu yağı	30
2.2. Metot	31
2.2.1. Uygun Kaplama Dozunun Belirlenmesi İçin Farklı Oranlarda Nanoemülsiyonların Hazırlanması	31
2.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Karakterizasyonu	33

2.2.3. Gökkuşığı Alabalığının Nanoemülsiyon ile Kaplanması	36
2.2.4. Kaplanan Filetoların Hızlı (-40 °C) ve Yavaş (-20 °C) Sıcaklıklarda Dondurulması	37
2.2.5. Dondurulan Filetoların Buzdolabı Sıcaklığında (+4°C) Çözündürülmesi	38
2.2.6. Nanoemülsiyon ile Kaplanmış Filetolara Ait Kalite Analizleri	39
2.2.7. İstatistiksel Analiz	43
3. BULGULAR.....	44
3.1. Nanoemülsiyon Formülasyonlarına Ait Karakterizasyon Analiz Bulguları ...	44
3.1.1. pH, Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Analiz Bulguları	44
3.1.2. Viskozite, Bulanıklık, İletkenlik, Renk ve Beyazlık İndeksi Analiz Bulguları	46
3.1.3. Transmisyon Elektronik Mikroskobu (TEM) ile Elde Edilen Morfolojik Karakterizasyon Analiz Bulguları	49
3.1.4. Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analiz Bulguları	50
3.1.5. Nanoemülsiyon Kaplama İşlemi Uygulanmış Alabalık Filetolarına Ait Besin Bileşimi Analiz Bulguları.....	50
3.2.2. Nanoemülsiyon Kaplama İşlemi Uygulanmış Alabalık Filetolarına Ait Fizikokimyasal Analiz Bulguları.....	53
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	70
4.1. Nanoemülsiyon Formülasyonlarına Ait Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi.....	70
4.2. Besin Bileşimi Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi	76
4.3. Tekstür Profil Analiz Değerlerine Ait Bulgularının Değerlendirilmesi.....	77
4.4. Fizikokimyasal Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi	77
4.4.1. pH Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	77
4.4.2. Damlama Kaybı Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi	79
4.4.3. Su Aktivitesi Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi	81
4.4.4. Su Tutma Kapasitesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi.....	82
4.4.5. Renk Yoğunluğunun Ölçümü Verilerinin Değerlendirilmesi	83
4.4.6. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Ait Bulguların Değerlendirilmesi	84

4.4.7. Toplam Uçucu Bazik Asit (TVB-N) Ait Bulguları Değerlendirilmesi ..	86
4.4.8. Miyofibril Parçalanma İndeksi (MFI) Bulgularının Değerlendirilmesi .	88
4.4.9. Karbonil Konsantrasyonu Bulgularının Değerlendirilmesi.....	90
4.4.10. Sülfhidril Gruplarının ve Disülfid Bağlarının Belirlenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	91
4.5. Genel Değerlendirme ve Öneriler	94
KAYNAKÇA.....	97



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Su Ürünleri
Tez Türü : Doktora
Danışman : Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK
Hazırlayan : Ayşe KARA
Yıl : 2024
Sayfa Sayısı : 122

ÖZET

DONDURULMUŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) FİLETOLARINDA BİTKİSEL KATKI MADDELERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ NANOEMÜLSİYON KAPLAMANIN KALİTE KRİTERLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, aloe vera jeli (AVG) ve kenevir tohumu yağından (HSO) farklı formülasyonlarda nanoemülsiyonlar elde edilmiştir. Nanoemülsiyon karakterizasyonu için pH, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, viskozite, bulanıklık, iletkenlik, renk, transmisyon elektron mikroskobu ve fourier dönüşümlü-kızılötesi spektroskopisi analizleri yapılmıştır. Düşük polidispersite indeksi ($0,17\pm0,01$) ve homojen morfolojik görüntüsü ile kaplama materyali olarak en uygun bulunan HA8 (%5 HSO ve %3 AVG) nanoemülsiyonu ile gökkuşağı alabalığı filetoları daldırma yöntemiyle kaplanmıştır. Ardından nanoemülsiyon ile kaplanan filetolar yavaş (-20°C) ve hızlı dondurma (-40°C) sıcaklıklarına tabii tutulmuş ve çalışma grupları 20C (-20°C 'de dondurulan saf su ile kaplanmış), 20N (-20°C 'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış), 40C (-40°C 'de dondurulan saf su ile kaplanmış) ve 40N (-40°C 'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış) olarak oluşturulmuştur. Dondurulmuş alabalık filetolarında biyokimyasal (nem, ham protein, ham yağ ve ham kül) ve fizikokimyasal (pH, sülfidril grupları (-SH), disülfid bağları (S-S), karbonil miktarları, miyofibril kırılma indeksi, su tutma kapasitesi, su aktivitesi, damlama kaybı, tekstür, renk, TVB-N ve TBA) analizler 6 ay süresince aylık olarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre depolama süresince tüm çalışma gruplarının pH, TVB-N ve TBA açısından limit değerlerini aşmadığı belirlenmiştir. Nanoemülsiyon kaplı filetoların sarılık değerinin yüksek olduğu ve bunun kenevir tohumu yağından ileri geldiği gözlemlenmiştir. Ürünlerin sertlik değerlerine, damlama kaybı ve su tutma kapasitesine nanoemülsiyon kaplamanın pozitif etki ettiği saptanmıştır. Özellikle nanoemülsiyon kaplanarak hızlı dondurma uygulanan filetoların (40N) elde edilen sülfidril grupları, disülfid bağları, karbonil miktarı ve miyofibril kırılma indeksi verilerine göre protein oksidasyonunu geciktirdiği, ayrıca TVB-N, TBA ve pH gibi kalite parametrelerinde tüketilebilirlik seviyesini koruduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak AVG ve HSO içeren nanoemülsiyonların, su ürünlerinin kalitesini artırarak daha uzun süre taze kalmalarını sağladığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Protein oksidasyonu, aloe vera jeli, kenevir tohumu yağı, nanoemülsiyon, *Oncorhynchus mykiss*

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Department : Department of Aquaculture
Thesis Type : Ph.D.
Supervisor : Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK
Author : Ayşe KARA
Year : 2024
Pages : 122

ABSTRACT

**EVALUATION OF THE EFFECT OF NANOEMULSION COATING
ENRICHED WITH HERBAL ADDITIVES ON QUALITY CRITERIA OF
FROZEN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) FILLETS**

In this study, nanoemulsions were prepared from different formulations of aloe vera gel (AVG) and hemp seed oil (HSO). For nanoemulsion characterization, pH, droplet size, polydispersity index, zeta potential, viscosity, turbidity, conductivity, color, transmission electron microscopy and Fourier transform-infrared spectroscopy analyzes were performed. Rainbow trout fillets were coated by dipping method with HA8 (5% HSO and 3% AVG) nanoemulsion, which was found to be the most suitable as a coating material with its low polydispersity index (0.17 ± 0.01) and homogeneous morphological appearance. The nanoemulsion-coated fillets were then subjected to slow (-20°C) and quick freezing (-40°C) temperatures and the study groups were formed as follows: 20C (fillets coated with pure water frozen at -20°C), 20N (fillets coated with nanoemulsion frozen at -20°C), 40C (fillets coated with pure water frozen at -40°C), and 40N (fillets coated with nanoemulsion frozen at -40°C). Biochemical (moisture, crude protein, crude fat, and ash) and physicochemical (pH, sulfhydryl groups (-SH), disulfide bonds (S-S), carbonyl levels, myofibrillar fracture index, water holding capacity, water activity, drip loss, texture, color, TVB-N, and TBA) analyses were carried out monthly for 6 months on the frozen trout fillets.

The results of this study indicated that none of the study groups exceeded limit values for pH, TVB-N, and TBA. The yellowness value of the nanoemulsion-coated fillets was observed to be high, which was attributed to the hemp seed oil. It was also determined that the nanoemulsion coating positively affected the firmness, drip loss, and water holding capacity of the products. Particularly, the fillets subjected to rapid freezing with nanoemulsion coating (40N) showed delayed protein oxidation, as evidenced by the sulfhydryl group, disulfide bond, carbonyl level, and myofibrillar fracture index data. Additionally, these fillets maintained acceptable quality parameters such as TVB-N, TBA, and pH. In conclusion, nanoemulsions containing AVG and HSO were found to enhance the quality of fish products, keeping them fresh for a longer period.

Keywords: Protein oxidation, aloe vera gel, hemp seed oil, nanoemulsion, *Oncorhynchus mykiss*

KISALTMALAR

a*	:	Kırmızılık değeri
AVG.	:	Aloe vera jel
b*	:	Sarılık değeri
cm	:	Santimetre
°C	:	Santigrat
DHA	:	Dokosaheksaenoik asit
dk	:	Dakika
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DNPH	:	2,4-Dinitrofenilhidrazin
EC	:	Elektriksel iletkenlik
EGTA	:	Egtazik asit
EIU	:	Economist Intelligence Unit
EPA	:	Eikosapentaenoik asit
FAO	:	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FT-IR	:	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
g	:	Gram
Hb	:	Hemoglobin
HSO	:	Kenevir tohumu yağı
HCl	:	Hidroklorik asit
H ₃ BO ₃	:	Borik asit
KCl	:	Potasyum klorür
KHz	:	Kilohertz
Kv	:	Kilovolt
L*	:	Aydınlık değeri
Max	:	Maximum
MgCl ₂	:	Magnezyum klorür
MFI	:	Miyofibril parçalanma indeksi
Min	:	Minimum
mL	:	Mililitre
Mp	:	Miyofibril protein

mL	:	Mililitre
Mp	:	Miyofibril protein
Mv	:	Milivolt
NaN ₃	:	Sodyum azotür
O/W	:	Suda/Yağ
PV	:	Peroksit değeri
RAT	:	Reaktif azot türleri
ROT	:	Reaktif oksijen türleri
SDS	:	Sodyum dodesil sülfat
sn	:	Saniye
TBA	:	Tiyobarbütirik asit
TMAB	:	Toplam mezofilik aerob mikroorganizma
TMA	:	Trimetilamin
TPB	:	Toplam psikrofilik bakteri
TPA	:	Tekstür profil analizi
TVB-N	:	Toplam uçucu bazik azot
TÜİK	:	Türkiye istatistik kurumu
TYM	:	Toplam maya ve küf
WI	:	Beyazlık indeksi
W/O	:	Yağda/Su

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Protein oksidasyonun etkilendiği çevresel faktörler	11
Tablo 2. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait içerikler	31
Tablo 3. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait pH, parçacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI), zeta (ζ) potansiyel değerleri	45
Tablo 4. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait viskozite, bulanıklık, iletkenlik, renk ve beyazlık indeksi değerleri	48
Tablo 5. Depolama süresince çalışma gruplarında besin bileşimi analizi değerlerinde meydana gelen değişimler	52
Tablo 6. Depolama süresince çalışma gruplarında pH değerinde meydana gelen değişimler.....	56
Tablo 7. Depolama süresince çalışma gruplarında damlama kaybı değerlerinde meydana gelen değişimler	58
Tablo 8. Depolama süresince çalışma gruplarında su aktivitesi değerlerinde meydana gelen değişimler.....	59
Tablo 9. Depolama süresince çalışma gruplarında su tutma kapasitesi (%) değerinde meydana gelen değişimler	60
Tablo 10. Depolama süresince çalışma gruplarında TBA (mg MDA/kg) değerinde meydana gelen değişimler	63
Tablo 11 Depolama süresince çalışma gruplarında TVB-N (mg/100g) değerinde meydana gelen değişimler	65
Tablo 12 Depolama süresince çalışma gruplarında miyofibril parçalanma indeksi değerlerinde meydana gelen değişimler	66
Tablo 13. Depolama süresince çalışma gruplarında karbonil konsantrasyon değerinde meydana gelen değişimler	67
Tablo 14. Depolama süresince çalışma gruplarında sülfidril grup ve disülfid bağ değerinde meydana gelen değişimler.....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Lipit oksidasyonu evreleri	9
Şekil 2. Aminoasitin yapısı.....	10
Şekil 3. Protein oksidasyonunun evreleri	12
Şekil 4. Aloe vera bitkisi	20
Şekil 5. Kenevir tohumu ve yağı	22
Şekil 6. Derisiz gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) filetosu.....	29
Şekil 7. Aloe vera (<i>Barbadensis</i> Miller). A:bitkisi ve B:jeli (Orijinal resim)	30
Şekil 8. Kenevir (<i>Cannabis sativa</i> L.) tohumu yağı (Orijinal resim).....	30
Şekil 9. Ultrasonikatör yardımıyla nanoemülsiyon eldesi.....	32
Şekil 10. Farklı formülasyonlarda hazırlanan aloe vera jeli-kenevir tohumu yağı katkılı nanoemülsiyonlar.....	32
Şekil 11. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların pH analizi	33
Şekil 12. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların vizkozite analizi.....	33
Şekil 13. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların bulanıklık analizi	34
Şekil 14. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların iletkenlik analizi	34
Şekil 15. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların parçacık boyutu analizi.....	35
Şekil 16. Alabalık filetolarının kaplanması. A:Filetoların saf su ile kaplanması, B:Filetoların nanoemülsiyon ile kaplanması	37
Şekil 17. Kaplama sonrası filetoların bekletilmesi.....	37
Şekil 18. Filetoların dondurulması. A: Hızlı (-40 °C) ve B: Yavaş (-20 °C) dondurulması	38
Şekil 19. Analiz öncesi dondurulan filetoların buzdolabı sıcaklığında (+4 °C) çözündürülmesi.....	38
Şekil 20. Filetoların su aktivitesi ölçümü	40
Şekil 21. Filetoların tekstür profil analizi.....	41
Şekil 22. Toplam uçucu bazik asit (TVB-N) analizi	42
Şekil 23. Nanoemülsiyonların damlacık boyutu sayısı grafiği.....	46
Şekil 24. Nanoemülsiyonların TEM görüntüleri	49
Şekil 25. Nanoemülsiyon formülasyonları, HSO, AVG ve T80'in FT-IR grafiği.....	50

Şekil 26. Gruplar arasında depolama süresince tekstür profil analizi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği.	54
Şekil 27. Gruplar arasında depolama süresince tekstür profil analizi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği.	55
Şekil 28. Gruplar arasında depolama süresince pH değerinde meydana gelen değişim grafiği.....	57
Şekil 29. Gruplar arasında depolama süresince damlama kaybında meydana gelen değişim grafiği	58
Şekil 30. Gruplar arasında depolama süresince su aktivitesi değerinde meydana gelen değişim grafiği	59
Şekil 31. Gruplar arasında depolama süresince su tutma kapasitesine ait değerlerde meydana gelen değişim grafiği	61
Şekil 32. Gruplar arasında depolama süresince renk ölçümüne ait L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	62
Şekil 33. Gruplar arasında depolama süresince TBA değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	64
Şekil 34. Gruplar arasında depolama süresince TVB-N değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	65
Şekil 35. Gruplar arasında depolama süresince myofibril parçalanma indeksi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	66
Şekil 36. Gruplar arasında depolama süresince karbonil konsantrasyonu değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	68
Şekil 37. Gruplar arasında depolama süresince sülfidril grup (A) ve disülfür bağ (B) değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	69
Şekil 38. Gruplar arasında depolama süresince sülfidril grup (A) ve disülfür bağ (B) değerlerinde meydana gelen değişim grafiği	70

GİRİŞ

Son yıllarda karşılaşılan COVID-19 pandemisi, savaş, iklim krizi ve hızlı nüfus artışı gibi faktörler dünya genelinde gıda güvensizliğine sebep olmaktadır (Paudel vd., 2023). Gıda güvensizliği, güvenli, besleyici gıdaya her daim yeterli miktarda ve makul fiyatlarla erişim konusunda ortaya çıkan sınırlamalar olarak tanımlanmaktadır. Yaşam standartının olmazsa olmaz bir parçası olan besleyici gıdaya yeterli miktarda ulaşamama durumu insanlarda obezite, diyabet, alzhemier, kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanserler, gıda kaynaklı hastalıklar ve sağlık sorunlarına bağlı ölüm veya hastalık riskinin artmasına neden olmaktadır (Mouloudi vd., 2020 Islam vd., 2022).

FAO raporlarına göre Asya, Avrupa, Afrika, Kuzey Amerika gibi ülkeler gıda güvensizliğinden önemli derecede etkilenirken Dünya nüfusunun %30'unun orta ya da ciddi düzeyde makul miktarda gıdaya erişimde sorun yaşadığı ve gıda güvencesizliği sorununun ivedikle çözülmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Smith vd., 2017). Küresel ölçekte gıda güvencesinin ölçümü, bulunabilirlik, erişilebilirlik ve kalite güvenlik olmak üzere 3 başlığı içeren The Economist Intelligence Unit (EIU) tarafından ortaya koyulan “Küresel Gıda Güvenlik Endeksi” ile mümkündür. Endekse göre bulunabilirlik boyutunda gıda güvencesinin sağlanabilmesindeki faktörlerden biri önemli protein kaynağı olan bitkisel ve hayvansal ürünlerde yeterliliğin, devamlılığın sağlanması, korunması ve çeşitlendirilmesidir (Thomas vd., 2017; Izraelov ve Silber, 2019). Bu kapsamda hayvancılık sektörü tüketicilerin yüksek kaliteli protein ihtiyacını karşılamada önemli bir role sahiptir. Hayvansal protein açısından ihtiyacın büyük bir kısmını ise su ürünlerinde avcılık (deniz ve iç su) ve yetiştiricilik (kültür balıkçılığı) (iç sular, denizler ve kara suları) üretim yolları ile karşılanabilmektedir. . FAO (2018)’e göre son 10 yılda dünya genelinde artan bir ivme göstererek en fazla gelişim gösteren gıda sektörü su ürünleri yetiştiricilik sektörüdür. Su ürünleri yetiştiricilik ürünlerinin gelecekte mevcut gıda tedariki ve ekonomik faydası noktasında önem arz etmektedir. Bunun nedenleri arasında hızlı nüfus artışı ve azalan gıda kaynakları yer almaktadır. Dünya genelinde 2021 yılında su ürünleri sektörü yetiştiricilikten 126.035.296,8 ton (%57,71) avcılıktan 92.342.716,53 milyon ton (%42,29) toplamda 218.378.013,33 milyon ton ürün elde etmiştir. (FAO, 2023). Ülkemizde, 2023 yılında

399 bin 529 tonu (%72,1) denizlerde yetiştiricilik, 154 bin 333 tonu (%27,9) iç sularda yetiştiricilik olarak gerçekleşmiştir. İç sularda 154 bin 6 ton ile alabalık, denizlerde ise 160 bin 802 ton ile levrek ve 154 bin 11 ton ile çipura yetiştirilen en önemli balık türleri olarak tespit edilmiştir (TÜİK, 2023).

Yüksek besin değeriyle tüketim açısından popüler olan su ürünleri, üretim, işleme ve dağıtım basamaklarında bozulmaya karşı oldukça hassastır. Bozulma lipid ve protein oksidasyonu ve hidrolizi, enzimatik ve mikrobiyolojik gibi reaksiyonları kapsar (Cléach vd., 2019; Bekhit vd., 2021). Bozulmaların önüne geçebilmek için muhafaza teknikleri kullanılmaktadır. Soğutma, dondurma, tuzlama, konserve, tütüleme, kurutma ve salamura gibi muhafaza teknikleri ile su ürünlerinin raf ömrü uzatılıp kalite değerleri korunabilmektedir (Abraha vd., 2018). Dondurma teknolojisi su ürünlerinin tazeye yakın değerde saklanabilmesi için en yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir. Bu teknikte yüksek su içeriği sebebiyle donma hızına bağlı olarak boyut değişikliği gösteren buz kristalleri oluşur. Su ürünlerinde buz kristallerinin boyutu, şekli ve dağılımı, ürün kalitesi ile büyük bir ilişkiye sahiptir, büyük buz kristallerinin oluşumu ve düzensiz dağılımı, hücresel ve doku yapısında geri dönüşü olmayan hasarlara sebep olmakta ve çözündükten sonra artan damlama kaybı, dehidrasyon, doku yumuşaması, renk bozulması, lipid ve protein oksidasyonu gibi ürünlerin kalite bozulmalarına yol açmakta ve raf ömrünü azaltmaktadır (Xiong, 1997; Nakazawa ve Okazaki, 2020; Bao vd., 2021; Jia vd., 2022). Tüm bu olumsuzlukların önüne geçebilmek için buz kristallerinin hacminin sınırlandırılması veya kontrol altına alınması için kullanılan uygulamalardan birisi de hidrokolloid özellikli yenilebilir film kaplama malzemeleri kullanmak gerekir.

Hidrokolloid özellikli yenilebilir film ve kaplamalar protein, lipid ve polisakkarit tabanlı olup gıdaların yüzeylerine ince tabaka şeklinde uygulanmakta gıdaya oksijen, nem ve karbondioksit geçişinde de sınırlayıcı rol uygulamaktadır. Bu film ve kaplamalar hayvan, bitki, mikrobiyal veya sentetik orjinli polimerlerdir (Hua vd., 2011; Skurtys vd., 2011). Hidrokolloid özellikli yenilebilir film ve kaplamalara, lipidlerden ve hidrofobik maddelerden daha iyi mekanik özellik sağlar ve yaygın kullanım alanına sahiptir. Bu kapsamda hidrokolloidlerin ve lipidlerin bir arada kullanılmasıyla kompozit film olarak hedeflenen kaplama materyali elde edilebilmektedir (Li ve Nie 2016; Bozkurt vd., 2023). Bu amaçla en çok karboksimetil

selüloz, keçiyoynuzu zamkı, guar gam, eti selüloz, kazein ve türevleri, gliserol ve sorbitol gibi plastikleştiriciler ile desteklenen jelatin ve buğday glütini gibi kullanılan hidrokolloidler tercih edilmiştir. Hidrokolloidler yapısında birçok hidroksil grubunun bulunması nedeniyle hidrofiliktir ve polielektrolittir. Jelleştirici ajan, köpürtücü ajan, emülgatör, film oluşturucu, stabilizatör ve çırpıcı ajan olarak yapışkanlık, bağlayıcılık, hacim sağlamak için çeşitli gıda uygulamalarında kullanılır (Park, 2000; Ramírez vd., 2011; Demircan ve Ocak, 2019). Hidrokolloid ve lipitlerin bir arada bulunduğu yapılar homojen bir yapı oluştururken özelliklerini de devam ettirebilmeleri adına nanoteknolojiden faydalanılmaktadır. Bu çerçevede nanoteknolojik bir teknik olan birbiri içinde çözünmeyen ya da kısmi olarak çözülen su ve yağ gibi iki sıvı fazın damlacıklar (20-200 nm) halinde dağılmasına imkan veren nanoemülsiyonların kullanımı yaygındır (Alaca vd., 2021).

Damlacıklar su-içinde yağ (O/W) veya yağ-içinde-su (W/O) form şeklinde elde edilebilir. O/W formdaki emülsiyonlarda, yağ damlaları su içinde homojen şekilde dağılırken; W/O formdaki emülsiyonlarda, su damlaları yağ fazı içinde homojen şekilde dağılır. Nanoemülsiyonlar genellikle su içinde yağ (O/W) formunda damlacık çapı ortalama 50 ile 1000 nm arasında değişen sistemlerdir (Fernandez vd., 2004; Shah vd., 2010). Nanoemülsiyonlar, FDA tarafından genellikle risk teşkil etmeyen (GRAS) yaygın gıda katkı maddeleri ve insan tüketimine uygun surfaktanlardan elde edilir. Nanoemülsiyonlar, submikron, çok ince taneli ve mini emülsiyonlar olarak da isimlendirilirler (Shah vd., 2010).

Bu çalışmada, öncelikle farklı oranlarda [%1, %2, %3 AVG, (HSO:T80/1:4)] hazırlanan bitkisel katkı (aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağı) nanoemülsiyonların (pH, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, viskozite, bulanıklık, iletkenlik, renk ve beyazlık indeksi, transmisyon elektron mikroskobu ve fourier dönüşümlü-kızılötesi spektroskopisi) karakterizasyon analizleri neticesinde uygun bulunan nanoemülsiyon formülasyonu ile kaplanan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının hızlı/yavaş dondurmaya (-20, -40 °C'de) tabii tutulduktan sonra bitkisel katkı nanoemülsiyon uygulaması ile 6 ay boyunca protein oksidasyon süreci ve et kalite değişimleri üzerindeki etkileri birlikte araştırılmıştır. Protein oksidasyonu sonucu ortaya çıkan kalite kayıplarını belirlemek için pH, sülfidril grupları (-SH), disülfid bağları (S-S), karbonil miktarları, miyofibril kırılma indeksi,

su tutma kapasitesi, su aktivitesi, damlama kaybı, tekstür, renk, TVB-N ve TBA) analizleri yapılmıştır. Denatürasyon ve debragasyon temeline dayanan oksidasyon mekanizması ile bu çalışmada elde edilen veriler ilk kez aloe vera jel ve kenevir tohumu yağı ile zenginleştirilmiş nanoemülsiyondan elde edilen kaplamanın hızlı ve yavaş dondurmada alabalık filetolarında kaliteye etkisinin yorumlanmasında etkili olabilecek çoklu parametrelerle aydınlatılmaya çalışılmıştır.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Su Ürünlerinde Bozulma

Su ürünleri zayıf bağ dokusu, pH değeri, yüksek su ve enzim aktivitesi sebebiyle enzimatik, oksidatif ve bakteriyel etkilerinde rol almasıyla bozulmaya karşı oldukça hassastır. Bozulmanın temelinde bakteriyel aktiviteler önemli bir yer tutmaktadır. Yeni hasat edilen balık kas dokusu steril olmasına rağmen deri, solungaç ve bağırsaklarında çeşitli bakteriler (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Serratia* ve *Micrococcus* spp.) bulunmaktadır (Nambiar vd., 2019; Ajayeoba vd., 2020). Bakteriler bu bölgelerden kan damarları yolu ile balık kasına nüfus eder ve spesifik alkollerin (esas olarak etanol), aldehyitlerin, asitlerin, ketonların, kükürt ve nitrojen bileşiklerinin oluşumu nedeniyle duysal kaliteyi etkileyen çok sayıda hoş olmayan kokuya neden olmaktadır (Ikape, 2017; Çağlak ve Karslı, 2020).

Bozulmanın temelinde yer alan bir diğer etmen ise taze balık kasında bulunan proteolitik enzimlerdir. Bu enzimler balıkta kas dokuyu parçalar ve dokunun yumuşamasına dolayısıyla kalite kayıplarına neden olur. Ayrıca bozulmanın ileri ki safhalarında bakteri enzimleri de devreye girmektedir (Ghaly vd., 2010; Sriket, 2014). Taze balık kasında bakterilerin çoğalması protein parçalanmasına ve trimetilamin (TMA) bileşiğinin üretimine yol açmaktadır. Bu nedenle TMA seviyeleri balıklarda bozulmanın boyutunu belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir göstergedir. Amonyak benzeri istenmeyen tatlar, patojen bakteriler (*Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas* spp., psikrotolerant Enterobacteriaceae, *P.phosphorum* ve *Vibrio* spp.) tarafından enerji üretmek için kullanılan bir bileşik olan trimetilamin oksidin (TMAO) indirgenmesi yoluyla oluşturulan TMA tarafından üretilmektedir (Yi vd., 2021; Debbarma, 2022). Su ürünlerinde tazeliğin bir diğer göstergesi olan toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ise protein ve nitrojenli bileşiklerin indirgenmesi sonucu ortaya çıkan amonyak ve trimetilaminin oluşmasını göstermektedir (Prabhakar vd., 2020). Çeşitli su ürünleri için TVB-N kabul edilebilirlik üst sınırı 30 ila 45 mg TVB-N/100g arasındadır. *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens* gibi diğer patojen bakteriler bozulmanın ilerleyen dönemlerinde hızla büyürler ve metabolik faaliyetler sonucunda proteinlerin ve lipidlerin parçalanmasından sorumlu olurlar. Bozulmanın son dönemlerinde patojen bakterilerin ortamda çok fazla oluşu balığın

organoleptik özelliklerinin kaybına yol açmaktadır (Tonkin, 2012; Yeşilsu ve Polat; 2013).

Bozulmanın temelinde yer alan önemli unsurlardan biri de oksidasyondur. Çoklu doymamış yağ ve fosfolipid içeriği çok fazla miktarda olan balıklar oksidatif bozulmalara karşı oldukça hassaslardır. Lipit oksidasyonu, prooksidan maddelerin varlığında lipitlerin parçalanarak oksidatif ürünlerin meydana geldiği ve acılaşmaya yol açan bir kalite bozukluğu olarak bilinmektedir. Lipit oksidasyonu sürecinde balık kasında bulunan myofibriller proteinlerin ihtiva ettiği antioksidan etki gösteren bazı kükürtlü aminoasitlerin lipid oksidasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (Ghaly vd., 2010; Olatunde ve Benjakul, 2018; Işık vd., 2020; Alak vd., 2024). Fakat ortamda lipit oksidasyon ürünlerinin fazla oluşu ve antioksidan özellik gösterecek proteinlerin miktarının az oluşuyla balık kasında protein oksidasyonu gözlenebilmektedir. Balık kasında hızlı bir şekilde meydana gelen lipit oksidasyonu sonucu oluşan lipit serbest radikalleri protein oksidasyonunu tetikleyerek reaksiyonu hızlandırır akabinde hem lipitlerin hemde protein yapılarının zarar gördüğü bir durum söz konusu olmaktadır. Sonuç olarak, balık etinde işleme şartlarına/teknolojisine bağlı olarak kalite kayıpları gözlenmektedir (Tokur ve Korkmaz; 2007; Dominguez vd., 2021; Kontominas vd., 2021; Nawaz vd., 2022). Kalite kayıplarına sebebiyet veren lipit oksidasyonu derecesinin tespitinde yaygın bir indikatör olan Tiyobarbitürük asit (TBA) dikkate alınmaktadır. Su ürünleri için TBA değeri, 1–3 mg MDA/kg değeri arasında “iyi kalite”, 3–5 mg MDA/kg değerleri arasında “orta kalite” 5–8 mg MDA/kg değerleri arası “düşük kalite” olarak kabul edilir ve 7 mg MDA/kg değerini aşan ürünler ise “tüketilemez” olarak sınıflandırılmaktadır (Bligh vd., 1959; Tokur vd., 2006; Çağlak vd., 2017; Ergür 2019).

1.1.1. Lipit Oksidasyonu

Balık eti, çoklu doymamış yağ asitlerini (n-3, n-6 PUFA) içeren %4-30 civarında lipit, %17-22 civarında protein ve %75-80 oranında su içermektedir. Kimyasal bileşiminde bulunan esansiyel aminoasitleri ile çoklu doymamış yağ asitlerinden dolayı, besinsel değeri yüksek protein ve yağ içeriği ile su ürünlerini diğer gıdalara kıyasla daha ayrılcıklıdır (Korkmaz, 2022; Nowacka vd., 2023). Bu ayrılcıklı gıda grubunun depolanması, taşınması ve işlenmesi sırasında belirli bir derecede bozulma meydana gelmektedir ve bu durum kalitenin bozulmasına ve gıda değerinin büyük ölçüde azalmasına neden olarak su ürünleri endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Getu vd., 2015). Su ürünleri, besin değerlerini, duyu kalitelerini ve dokusal özelliklerini olumsuz yönde etkileyen çeşitli faktörlerin etkisi altında lipit ve protein oksidasyonuna karşı oldukça hassastır (Hematyar vd., 2019).

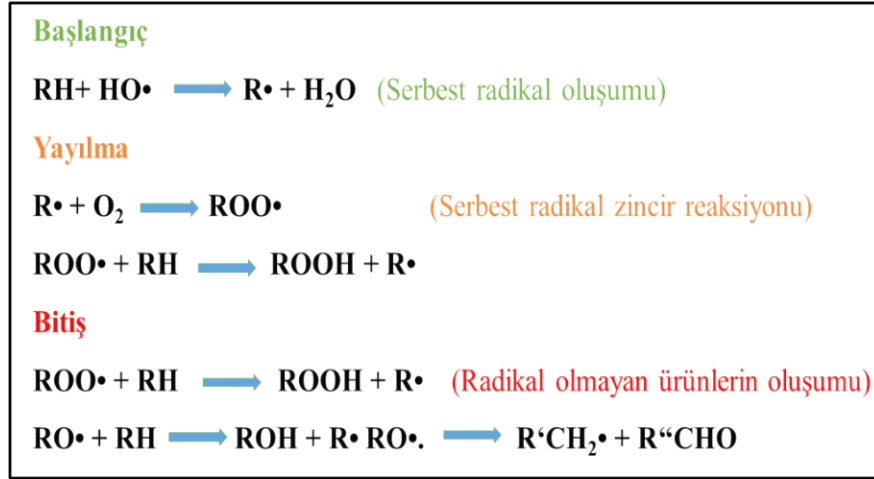
Balıklarda yağ miktarı proteinde olduğu gibi sabit değildir. Balığın türü, yaşı, büyüklüğü, bulunduğu çevrenin fiziksel ve kimyasal şartları, beslenme koşulları, mevsim gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Yağ tabakası deri altında ya da dokuda bulunmasına göre balıklar yağlı veya yağsız olarak sınıflandırılmaktadır. Yağ tabakası deri altında ise yağlı, karaciğer ve kas dokusunda bulunuyorsa yağsız balık olarak yer almaktadır. Uzun zincirli doymamış yağ asitlerinden özellikle eikosapentaenoik (EPA, C20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n-3) içeren balıkların oksidatif bozulmalara karşı hassas olduğu ve lipit oksidasyonun bir sonucu olarak duyu ve fizikokimyasal özelliklerinde değişiklikler meydana gelmektedir (Khalili Tilami vd., 2018).

Lipid oksidasyonu, herhangi bir sayıda karbon-karbon çift bağı içeren lipitlerin oksidatif bozulmasıdır. Lipit oksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma evrelerinden oluşmaktadır. Lipit oksidasyonu başlatıcı ajanları ışık, ısı ve metal iyonları prooksidan (oksidasyon başlatıcı) olarak tetiklenir. Atmosferik üçlü oksijen (O_3 -Ozon), lipitlerin oksidasyonunda rol oynayan en yaygın oksijen türüdür, ancak ışığa duyarlı reaksiyonda, hem singlet (reaktif) hem de üçlü oksijen, lipitlerle daha fazla etkileşime sahip iki oksijen türüdür (Frankel, 1984; Foote, 1985). Singlet oksijenin linoleik asitlerle üçlü oksijene göre daha hızlı reaksiyona girdiği bilinmektedir (Rawls ve Santen, 1970). Bir diğer prooksidan olan metal iyonları ise balık kasında önemli bir

lipit oksidasyon reaksiyonuna sebebiyet vermektedir. Metaller kesim sonrası işlemlerden sonra açığa çıkan hem demirinin (ferröz (+2)) ferrik (+3)'e dönüşerek otoksidasyon sürecini başlattır. Hem proteinler (hemoglobin [Hb] hem de miyogloblin) balık filetosu ve diğer kaslı gıdalardaki lipit oksidasyonunu arttırabilmektedir (Kanner, 1987). Richards ve Hultin (2002), yaptıkları çalışmada kesim sonrası yağlı bir balık filetosundaki kan kalıntısının, depolanma esnasında lipit oksidasyonunu katalize ettiğini ve kan kalıntısının olmadığı +2 °C'de depolama sırasında kıyılmış alabalık kasında ise lipit oksidasyonunu geciktirdiğini bildirmiştir. Maqsood ve Benjakul (2014), kanı akıtılmamış balık örneklerinde lipit oksidasyonunun başlatılması ve yayılmasının, kan alınmış numunelere kıyasla daha belirgin olduğunu ifade etmişlerdir.

Lipit oksidasyonunun başlama evresinde, doymamış yağ asiti bulunan ortamda prooksidan sebebiyle yağ asitinden bir H iyonu uzaklaşır ve açığa çıkan çift bağ oksijen atomuyla etkileşime girer. Ortamda açığa çıkan singlet oksijenin serbest halde bulunan H ile tepkimesi sonucu hidroperoksitlerin (-ROOH) oluşumu gerçekleşir. Başlama süreci genellikle yavaştır. Yayılma aşamasında daha fazla radikal, peroksit ve hidroperoksit oluşturmak için oksijen tüketilir ve hızlı bir şekilde başka bir lipit grubundan (-RH) bir hidrojen atomunun uzaklaşması ve başka bir oksijen molekülünün zincire dahil olması ile reaksiyon devam eder. Yayılma aşamasında hidroperoksit oluşum hızı ve miktarı hem substrat konsantrasyonuna hemde RH grubundan H atomunun uzaklaştırılması esnasında RH bağının kırılma kuvvetine bağlıdır (Farhoosh, 2021).

Bitiş aşaması ise ortamda oksitlenebilir bir substrat veya oksijenin tükenmesine bağlı olarak, hidroperoksit ayrışmasıyla ilişkilidir. Hidroperoksitlerin radikal türlere ayrışması, prooksidanların aracılık ettiği yüksek enerji girdisini gerektirir. Hidroperoksit ayrışması serbest radikallerin, peroksil radikalinin (ROO*), alkoksil radikalinin (RO*) ve suyun miktarında önemli bir artışa yol açarak oksidasyon döngüsünü daha da artırır. Çoğunlukla kararsız olan hidroperoksitler, yüksek ısı ve metal aracılığı ile daha sonra ikincil bileşik olan hidrokarbonlar, alkoller, esterler, asitler, aldehit, keton yapılara dönüşmektedir.

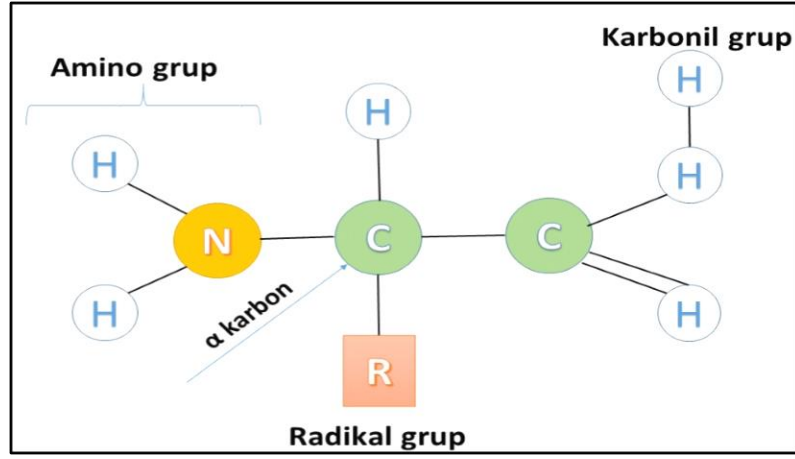


Şekil 1. Lipit oksidasyonu evreleri

Oksidasyon sonrası oluşan bu yan ürünler hem balık kalitesi hemde insan sağlığı açısından önemlidir. Literatürde et ürünlerinde lipit oksidasyonu üzerine yapılan çalışmalarda oksidasyonun üründe kötü koku, renk ve dokusal değişime neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca protein çözünürlüğü ve su tutma kapasitesi gibi özelliklerin olumsuz etkilendiği ve akabinde besinsel değerindeki kayıplara bağlı olarak biyoyararlılığının azaldığı bildirilmiştir. Oksidasyon sonrası ortaya çıkan 4-Hidroksinonenal, malonaldehit gibi birincil veya ikincil yan bileşikler kansorejen maddelerdir. Bu tarz bileşikler insan vücudunda oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki, prooksidanları destekleyen ve/veya antioksidanları olumsuz yönde etkileyen ve potansiyel olarak hasara yol açarak oksidatif stresi arttırmaktadır. Ayrıca bu bileşikler hücresel sinyal yolağını etkilediği, genetik materyal olan DNA'ya zarar verdiği ve tüm bunlara bağlı olarak inflamatuvar hastalıklar, kanser, diyabet, otizm, alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı, ateroskleroz, kalp yetmezliği, yağlı karaciğer, kronik yorgunluk sendromu, obezite ve depresyon gibi çeşitli hastalıklara da sebebiyet vermektedir (Jackson ve Penumetcha, 2019; Huang ve Ahn, 2019).

1.1.2. Protein Oksidasyonu

Bir karbon atomuna amin, karboksil gruplarının ve farklı radikal grupların eklenmesiyle oluşan monomer birimler aminoasit olarak tanımlanmaktadır. Bu monomer birimlerin bir araya gelerek oluşturduğu yapılara ise protein adı verilmektedir (Demir ve Karcı, 2006).



Şekil 2. Aminoasitin yapısı

Yüksek besin değerine sahip olan proteinler gıda türlerinde emülsiyon oluşumu, köpük oluşumu, jelleşme, viskozite, tekstür, aroma bağlama vb. gıda işleme teknolojisi açısından da önem taşıyan fonksiyonel özelliklere sahiplerdir (Castro ve Sato, 2015; Kartal vd., 2023). Beslenmede protein ihtiyacının karşılandığı gıda türlerinin başında hayvansal kaynaklar gelmektedir. Son zamanlarda insan beslenmesinde hayvansal protein tüketim açığının giderilmesinde zengin protein içeriğine sahip su ürünleri ön plandadır (Damodaran, 2008; Ergün, 2009).

Balık kası sarkoplazmik, myofibriller ve stroma grubu proteinleri ihtiva etmektedir. Biyokimyasal olayları yürüten sarkoplazmik proteinler toplam proteinlerin %25-30'unu oluşturmakta, düşük iyonik şiddete sahip tuz çözeltilerinde çözünebilen proteinlerdir. Bu proteinler özellikle hemoglobin, myoglobin, stokrom-C, myoalbumin, globulin ve çeşitli enzimlerin yapısında yer alır ve kırmızı kaslarda beyaz kaslara göre daha yoğun bulunan bu protein balık kasına özgü renkten sorumludur. Miyofibriler proteinler ise balık kas dokusunda toplam proteinin %70-80'ini oluşturmakta, kontraktıl sistemi (kasın kasılma durumu) düzenlemekte ve 0,3–1,0 iyonik şiddetli tuzlu su çözeltilerinde çözünabilmektedir. Bu protein grubu başlıca aktin, myosin, tropomyosin, aktomyosin ve titin (connectin) içermektedir. Stroma proteinleri sarkoplazmik ve myofibriler proteinlerin dışında kompleks bir yapı sergeleyen kollajen ve elastin karması olan proteinlerdir. Kas dokusunda yer alan bu proteinlerin serbest radikal reaksiyonlarına karşı hassas oluşu su ürünlerinin hem kalitesi hem de işlenme özellikleri için elzemdir (Işık, 2020).

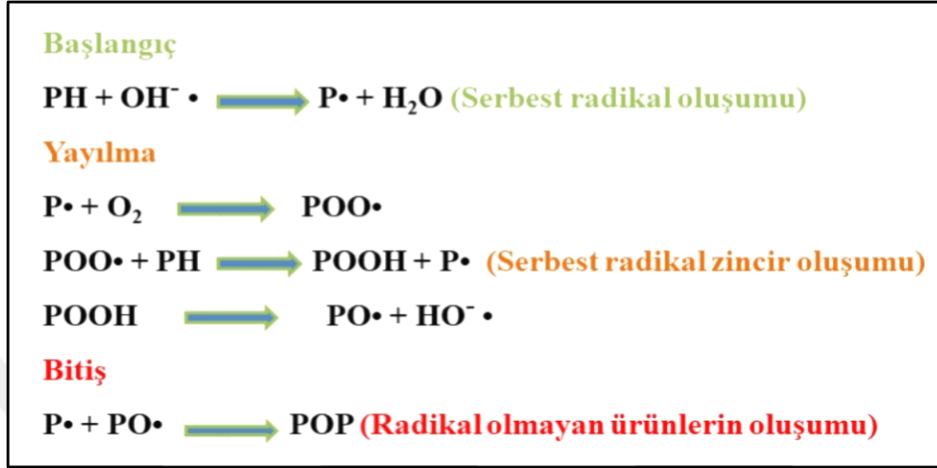
Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türleri (ROT; OH[•], H₂O₂) veya oksidatif stresin ikincil yan ürünleriyle reaksiyona girmesi sonucu indüklenen kovalent modifikasyon olarak bilinmektedir (Shacter, 2000). Yüksek miktarda protein içeren et ve et grubu gıdalarda kalitenin tespitinde protein oksidasyonu güncel olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda protein oksidasyonu doğrudan reaktif oksijen türlerinin oluşmasına sebebiyet veren tüm etkileşimler ve ajanlar aracılığıyla veya dolaylı olarak lipid peroksidasyon ürünleri yoluyla tetiklenebilmektedir. Serbest radikal oluşturan sistemlere yakın olan kas proteinleri oksidasyona karşı duyarlıdır. Protein oksidasyonu, lipid oksidasyonundan daha kompleks bir süreç olsa da benzer şekilde başlama, yayılma ve sonlanma evrelerinden meydana gelmektedir ve etki eden çeşitli çevresel faktörler Tablo 1’deki gibidir (Estévez, 2011).

Tablo 1. Protein oksidasyonun etkilendiği çevresel faktörler

Protein Oksidasyonun Etkilendiği Çevresel Faktörler
Et türü
Yağ miktarı
Yağ asidi kompozisyonu
pH
İşleme koşulları
Su aktivitesi
Ortamda bulunan katalizör ve inhibitör maddeler

Protein oksidasyonunun başlama evresinde ortamda bulunan reaktif oksijen türleri (OH[•], H₂O₂) aminoasit yapısında bulunan α- karbonundan bir H atomu serbest halde bulunan OH[•] bağlandıktan sonra aminoasitten ayrılır ve ortamda H₂O molekülü ve serbest radikaller (P[•]) meydana gelir (Neuzil vd., 1993). Meydana gelen bu radikaller oksijen molekülünün varlığında peroksit radikaline (POO[•]) dönüşmektedir. Bağ yapmak isteyen serbest peroksit radikalleri başka moleküllerin H atomuna bağlanır ve hidroperoksitlerini (POOH) ve protein radikalini (P[•]) oluşturur. Kararsız formda olan hidroperoksit radikallerinin parçalanması sonucu bazı aminoasitlerin karbonil türevlerine dönüşmektedir.

Protein oksidasyonu sürecinde denatürasyon, proteinlerin doğal kuaterner yapılarında kayıp, proteoliz sınırlanması gibi olumsuz sonuçlar görülmektedir (Kayalı ve Çakatay, 2004; Zungur Bastıoğlu, 2019).



Şekil 3. Protein oksidasyonunun evreleri

Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RAT) canlı vücudunda solunum sisteminde yer alan mitokondriyal elektron taşıma döngüsünün son ürünleri olarak vücutta ortaya çıkar ve tabii olarak hayvansal dokularda da doğal olarak bulunabilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROT) normal aerobik metabolizma ürünleri tarafından üretilmesi kaçınılmazdır ve stres koşulları altında artmaktadır. İnsan vücudunda düşük antioksidan ve yüksek konsantrasyonda ROT bulunması durumunda hücre bileşeni olan mikromoleküllerde (lipid, protein ve nükleik asitler gibi) hasar meydana gelmektedir. Bu hasara bağlı olarak astım, arterosklerozis, diyabet, kanser ve sinir sistemi hastalıkları başlamakta veya tetiklenmektedir. Bu kapsamda insanlar tarafından ROT bulunduğu gıdaların tüketilmesi insan sağlığı için olumsuz etki oluşturmaktadır (Atalay ve Erge, 2018).

Literatüre bakıldığında protein oksidasyonunun su ürünleri kalitesi üzerindeki etkileri, lipid peroksidasyonunun etkileriyle karşılaştırıldığında yeterince anlaşılmamıştır. Protein oksidasyonu ile su ürünleri kalitesi ve içsel moleküler düzenleyici mekanizmalar arasındaki bağlantının kapsamlı bir şekilde anlaşılması, su ürünlerinin kalitesinin iyileştirilmesi ve yüksek katma değerli ürünlerin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Estévez ve Luna, 2017).

1.2. Su Ürünlerinde Dondurma Teknolojisi

Su ürünleri yüksek protein, doymamış yağ asitleri (eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA)), zengin vitamin ve mineral içeriğinden ötürü dünya genelinde fazlasıyla talep gören ve tüketilen önemli besin bileşenleridir. Bununla birlikte, bu ürünlerin zayıf bağ dokusu, yüksek oranda su içeriği nedeniyle çabuk bozulabilirliği farklı muhafaza tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Su ürünlerinde başlıca muhafaza yöntemleri; soğutma ve dondurma teknolojisi, tuzlama, kurutma, tütsüleme (dumanlama), konserve, marinat ve surimi teknolojisi gibi yöntemlerdir. Su ürünleri için dondurarak muhafaza teknolojisi balık etinin besleyici değerinin, tazeliğinin korunmasında uygulanan en etkin ve en yaygın yöntemlerin başında yerini almıştır. Dondurarak muhafaza hem gıda ürününün ihracatında hemde daha sonra işleme amacıyla depolanması için önerilmektedir. Balıkların dondurulmasında genelde üç ayrı tip metot uygulanmaktadır. Bunlar bir soğutucu ekipman ile soğutulmuş havanın kullanıldığı donma işlemi ise endüstride en çok kullanılan yöntem olup birincisi -40 °C ve -20 °C arasındaki havanın 1-6 m/s hızla uygulanması olan soğuk hava akımlıdır. İkincisi dondurulma imkânı olmayan ambalajlı ve şekilsiz gıdaların dondurulmasında spiral bantlı dondurucu uygulamasını içeren yöntemdir. Üçüncüsü ise plakalı ve ambalajlanmış veya ambalajsız ürünün soğutulmuş sıvı içerisine daldırılmasına dayanan immersiyon (daldırma) yöntemidir (Ekici ve Yapar, 2004).

Avlandıktan hemen sonra pre-rigor döneminde donmamış balık etinin kas dokularında varolan hücresel sıvılar hücre içi kas proteinlerine bağlı olup kas hücrelerinin ve hücre zarının bütünlüğünü sağlamaktadır. Hücresel sıvılar, ölüm sonrası süreçte hücre dışı boşluklara nüfuz eder. Dondurarak muhafazada balık etinde bulunan serbest su buz kristallerine dönüşür ve hem ortamdaki su aktivitesi hem de sıcaklığın azalmasıyla bozulmaya neden olan kas proteinlerinin denatüre olması, oksidatif süreçler ve mikrobiyal bozulmaların yavaşlatılması veya tamamen durdurulması ile balık etinin besinsel değeri sabit kalmaktadır. Balıklar yaklaşık %75 oranında su içerir ve bu su, ihtiva ettiği çözünmüş ve kolloidal maddelerden dolayı dondurma anında donma sıcaklığı 0 °C'nin altındaki (-1 ve -5 °C arası) sıcaklıklarda buza dönüşmekte ve bu olaya donma zonu denilmektedir. İdeal dondurma işleminde donma zonunun maximum iki saatte geçilmesi gerekmektedir. Balık etinin hücre içi

veya dışındaki boşluklarda oluşan buz kristallerinin boyutları dondurma hızına bağlı olarak değişiklik gösterirken dondurma anındaki sıcaklığa göre ise buz miktarında değişiklikler gözlenmektedir. Yavaş hızda dondurmada büyük buz kristalleri oluşurken hızlı dondurmada çok sayıda ince ve küçük buz kristalleri oluşmaktadır. Büyük buz kristalleri, hücresel boyutta özellikle proteinaz ve proooksidanları serbest hale getirerek proteinlerin bulunduğu kas doku yapısında geri dönüşü olmayan hasarlara yol açmaktadır. Buna bağlı olarak çözündürme işleminden sonra ise damlama kaybının artmasına, dehidrasyona, doku yumuşamasına, renk bozulmasına, protein denatürasyonuna, oksidasyon gibi ürünlerde depolama sırasında kalite kayıplarına yol açmaktadır. Balık eti ideal bir dondurma sürecinden geçmiş ise çözülme sürecinde oluşan buz kristalleri erir ve denatüre olmayan kas proteinleri sayesinde doku yeniden kaybettiği suyu emer ve donmadan önceki formunu alır. Aksi takdirde kas proteinleri dondurma ve depolama sürecinde denature olduğunda su tutma yetenekleri azalmaktadır. Ayrıca dokular arası oluşan buz kristallerinin yeri boşluk olarak kalır dolayısıyla kas dokularında hasar gözlenmektedir (Ertbjerg ve Puolanne 2017). Kas dokuda var olan myofibriller proteinlerin denatürasyonu sonucu su tutma kapasiteleri azalır, kas dokusu çözülme sırasında korunamaz ve geri emilemeyen su damlama kaybı olarak ortaya çıkar. Bu tür kaliteyi etkileyen hasarlar donma hızına, dondurma sıcaklığına, depolama sıcaklığındaki dalgalanmalara ve çözülme koşullarına bağlıdır. Codex International Food Standards (1989) ve the International Refrigeration Association' a göre ideal dondurma sıcaklığının -18 °C veya daha düşük sıcaklıklar olduğu bildirilmiştir. Depolama sıcaklığının yaklaşık -40 °C civarında olması denatürasyon hızının yavaşlamasına böylece balık eti kalitesinin bu sıcaklık bandında uzun süre korunabilmesine olanak sağlamaktadır. Bununla birlikte -40 °C'de planlanan muhafaza işlemleri ekonomik olarak önemli sorunları beraberinde getirmektedir (Li ve Sun 2002; Nakazawa, ve Okazaki, 2020).

Bu nedenle, dondurma, depolama ve çözündürme işlemlerini kapsayan süreçte artan oksidasyon ve doku hasarını önlemek için, hızlı ve homojen dondurma işlemi gerçekleştirerek donma sırasında küçük buz kristalleri oluşumunun sağlanması önem arz etmektedir. Dondurma işlemi ve depolama sırasında kaliteye etki eden bir takım olumsuzluklar meydana gelmektedir. Bunlar yağ oksidasyonu, protein denatürasyonu, suyun süblimasyonu, buz kristallerinin rekristalizasyonu, su kaybı, renk ve tekstürde

değişimlerdir. Su ürünleri dondurma teknolojisinde ekonomik ve bahse konu kalite kayıplarının önlenmesi, tüketici ihtiyaçlarını karşılamak ve gıda güvenliğinin artırılması adına nanoteknoloji tabanlı bir ürün olan nanoemülsiyonların geliştirilmesi ve uygulamaları son yıllarda önem kazanmıştır (Chaudhary vd., 2022).

1.3. Nanoemülsiyonlar

Nanoteknoloji, dünya çapında birçok endüstride hızlı ve etkin olarak yer alan bir teknolojidir. Bu teknoloji nanometre ölçeğinde yeni özelliklere sahip nanoemülsiyon, nanopartikül, nanoküre, nanolif, nanosüspansiyon gibi malzemeler oluşturmak ve gıda, tarım, tıp, ilaç gibi endüstrilerde üretim sürecini kolaylaştırmak, son ürün ve süreçlerin kalitesini iyileştirmek için kullanılmaktadır. Son yıllarda gıda kalitesi ve sağlık faydaları hakkında tüketici endişeleri, araştırmacıları gıdanın besin değerini ve güvenliğini korurken kalitesini, raf ömrünü arttırabilmeye yönelik yeni teknikler, yöntemler ve ürünler geliştirmeye yönlendirmiştir. Gıda endüstrisinde bir koruma tekniği olarak esansiyel yağların kullanımı son yıllarda artış göstermiştir (Seow vd., 2014; Sharma vd., 2022). Ancak, esansiyel yağların yüksek reaktivitesi ve hidrofobikliği nedeniyle gıda ve içecek ürünlerine doğrudan eklenmeleri zor olmaktadır. Biyolojik faaliyetlerini korumak ve aynı zamanda gıda uygulamaları ile uyumlu hale getirilmesi için nanoenkapsüle edilen esansiyel yağların gıdaların organoleptik özellikleri üzerindeki olumsuz etkisi azaltılabilmektedir. Bu kapsamda nanoteknolojiden yararlanılmış ve toksik olmaması, yüksek sıcaklık ve basınçta kararlı bir yapı sergilemesi ile nanomalzemeler kapsamında nanoemülsiyonlar iyi bir çözüm kaynağı haline gelmiştir (Reis vd., 2022)

Nanoemülsiyonlar, yaklaşık 100 nm damlacık boyutu ve ≤ 500 nm damlacık çapına sahip dağınık sistemler olarak adlandırılır (Azmi vd., 2019). Nanoemülsiyonlar, yüzey aktif madde, yağ ve suyun bulunduğu tek bir faz olarak oluşan karışmayan sıvılardır. Bu bileşenlerin kombinasyonu, emülsiyon üzerinde yüksek termodinamik, kararlılık, fizikokimyasal ve biyoaktif (antioksidan, antimikrobiyal, hidrokolloid vb.) özellikler sağlar (İlyasoğlu ve El, 2010).

Nanoemülsiyonda yer alan yağ fazı triasilgliseroller, diaçilgliseroller, monoasilgliseroller ve serbest yağ asitlerinden oluştuğu gibi polar olmayan esansiyel yağlar, mineral yağlar, lipit ikameleri, mumlar, yağda çözünen vitaminler ve çeşitli

lipofilik bileşenlerden de oluşabilmektedir. Kullanılan yağın fizikokimyasal özellikleri (viskozitesi, kırılma indisi, yoğunluğu, faz davranışı ve arayüzey gerilimi vb.) nanoemülsiyonun oluşumunu, stabilitesini ve fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Polar çözücü olarak su ve buna ek olarak yardımcı çözücü olarak karbohidrat, protein, alkol gibi maddeler içeren faz ise emülsiyonun polaritesini, reolojisini, faz davranışını, arayüzey gerilimini ve iyonik gücünü belirler. Temelinde nano boyuttaki damlacıkları içeren nanoemülsiyon yapısı su ve yağ fazının zaman içerisinde topaklaşma, kümeleşme ve yerçekimine bağlı olarak ayrılmaya maruz kalabilir sonuç olarak Ostwald olgunlaşması adı verilen ortalama damlacık boyutunda artış meydana gelebilmektedir. Ostwald olgunlaşmasının önüne geçebilmek için yüzey aktif madde olan stabilizatörler (emülgatörler, ağırlıklandırıcı maddeler, olgunlaşma geciktiriciler ve doku değiştiriciler) kullanılmaktadır (Tontul, 2020; Wooster vd., 2008). Bir yüzey aktif madde olan emülgatörler su ve yağ fazları arası yüzey gerilimini azaltan küçük ve stabil damlacıkları meydana getiren damlacıklar arasındaki çarpışmayı ve birleşmeyi önleyerek nanoemülsiyonların kinetik stabilitesini sağlayan stabilizatörlerdir (Mason vd., 2006).

Emülgatörler kimyasal yapılarına göre sentetik, doğal, ince dağılmış katılar ve yardımcı maddeler olarak 4'e ayrılmaktadır. Sentetik emülgatörler kendi arasında anyonik, katyonik, iyonik olmayan ve amfoterik/zwitteriyonik olarak 4 grupta incelenir. Anyonik özellikli sentetik emülgatörler negatif yüklü olup karboksilat, sülfonat , sülfat ve fosfat gruplarını ihtiva etmektedir. Katyonik özellikli olanlar, pozitif yüklü, antiseptik ve antibakteriyel özelliklere sahip olan sentetik emülgatör grubudur. Herhangi bir elektrik yüküne sahip olmayan iyonik sentetik emülgatörler ise bünyesinde yalnızca lipofilik (doymuş/doymamış yağ asitleri veya yağ alkoller) ve hidrofilik kısımlar (poli oksitilen, poli oksitpropilen veya polioller) bulundurmaktadır. Amfoterik/zwitteriyonik sentetik emülgatörler ise hem pozitif hem de negatif yüklüdür bulunduğu ortamın pH'ına bağlı olarak katyonik, anyonik veya iyonik forma dönüşebilen özelliktedirler. Gıda endüstrisinde en çok tercih edilen sentetik emülgatörler; mono ve diglisitlerin asetik asit esterleri, mono ve diglisitlerin sitrik asit esterleri, yağlı alkol etoksilatlar, SDS (sodyum dodesil sülfat), Tween20-40-60 ve 80'dir (Sarathchandraprakash vd., 2013; Aswathanarayan ve Vittal, 2019; Marhamati vd., 2021).

Bitki, hayvan, bakteri, maya, mantar gibi doğal kaynaklardan üretilen doğal emülgatörler ise proteinler, fosfolipidler, poliskkaritler, lipopolisakkaritler, proteinler, glikolipitler, lipoproteinler ve lipopeptitlerdir. Nişasta, selüloz, pektin, arap zamkı ve galactomannan gibi doğal hidrokolloidlerde emülsifiye edici özelliktedir (Öztürk ve McClements, 2016). Emülsifiye edici özelliğinin zayıf olduğu bir emülgatörün kullanıldığı nanoemülsiyon üretiminde yardımcı emülsifiye edici maddelerle birleştirilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda yardımcı maddeler adı verilen çeşitli yağ asitleri (örneğin stearik asit), yağlı alkoller (örneğin stearyl veya setil alkol) ve yağ esterleri (örneğin gliseril mono stearat) kullanılmaktadır (Liu vd., 2019).

Nanoemülsiyon hazırlarken kullanılan yüzey aktif madde yağda çözünebilen özellikte ise emülsiyonun dış fazı (sürekli faz) yağ ve suda çözünebilen bir yüzey aktif madde kullanıldığında ise sudur. Bu durum nanoemülsiyonun formunu belirler ve yağ fazı sürekli su fazında dağıldığında O/W emülsiyonu, su fazı sürekli yağ fazında dağıldığında ise W/O olarak adlandırılır (Patel ve Joshi., 2012).

Günümüzde nanoemülsiyon üretim yöntemlerinde, ultrasonikasyon, yüksek basınçlı homojenleştirici ve mikro akışkanlaştırma gibi bir mekanik cihazın kullanımına dayalı olan yüksek enerji yöntemleri ile faz ters çevirme bileşimi, faz ters çevirme sıcaklık ve solvent difüzyonu (kendi kendine emülsifikasyon) tekniklerini içeren düşük enerji yöntemleri kullanılabilmektedir (Behrend vd., 2000). Yüksek enerji yöntemlerinde mekanik bir cihazın oluşturduğu yüksek gerilim ile yağ fazının parçalanarak su fazıyla etkileşime girmesini kapsayan yöntemdir. Gıda endüstrisi genelde su içinde yağ (O/W) nanoemülsiyonları hazırlamak için bu yöntemden yararlanmaktadır (Gutiérrez vd., 2008; Liu vd., 2019). Ultrasonikasyon yönteminde 20 kHz'den daha yüksek frekansa sahip ses dalgalarının mekanik titreşimi sonucu yağ damlacıkları parçalanır (Behrend vd., 2000). Sonikasyon süresi, emülgatörün konsantrasyonu, dağılmış ve sürekli fazın viskozite oranı ve uygulanan dalgaların genlik seviyesi nanoemülsiyonun özelliklerini etkilemektedir. Yüksek basınçlı homojenleştirme yönteminde nanoemülsiyon, 10 ila 350 MPa arasında değişen bir kuvvet ile kesme, çarpışma ve kavitasyon tekniğini içeren mekanik bir cihazda yüksek hızda sürekli bir akışla elde edilir. Bu yöntem orta ila düşük viskoziteli malzemeler için uygundur. Damlacıklarının stabilitesi yüzey aktif maddenin adsorbsiyon hızına ve döngü sayısına bağlı iken damlacık boyutu sistemin sıcaklık ve basıncına bağlıdır.

Doğrudan emülsifikasyon olarak bilinen mikro akışkanlaştırıcı yönteminde nanoemülsiyon üretimi yağ ve su fazının kuvveti 2000 psi'ye kadar yüksek basınç pompası yardımıyla mikro kanallara ulaşması ve birleşmeleri sonucu çok ince damlacıklar halinde elde edilir (Villalobos-Castillejos vd., 2018). Düşük enerjili yöntemlerde ise enerji bileşenlerin kimyasal potansiyelinden sağlanır ve temelinde yağ-su sisteminin sıcaklığı veya bileşimi değiştirilerek elde etme prensibine dayanır. Bu yöntem ile nanoemülsiyon eldesi sıcaklık, bileşim ve çözünürlük gibi fizikokimyasal özelliklere bağlıdır. Faz ters çevirme bileşimi yönteminde düşük maaliyetli olan organik çözücü kullanımına gerek duyulmadan bu yöntem temelinde emülgatörün hidrofilik-lipofilik davranışının değiştirilmesi yer almaktadır. İyonik özellikte bir emülgatör ile hazırlanan bir O/W emülsiyonuna tuz eklenmesiyle emülgatörün (yüzey aktif madde) elektrik yükü değişir ve emülsiyon formu W/O formuna veya yüksek tuz içeriğine sahip W/O emülsiyonun su ile seyreltilerek su içinde yağa dönüştürülebilmesi faz ters çevirme bileşimi olarak yer almaktadır. Faz ters çevirme sıcaklığı yönteminde ise sıcaklığın etkisi ile nanoemülsiyon faz sistemi değiştirilir. Bu kapsamda O/W formunda bir nanoemülsiyon için düşük sıcaklıkta W/O formda bir nanoemülsiyon için yüksek sıcaklıkta çalışılması gerekmektedir. Su, yağ fazının ve emülgatörün sabit bir sıcaklıkta manyetik bir cihazla hafifçe karıştırılması emülgatörün sulu faza girerek yağ-su arayüzey alanının genişlemesi sonucu yağ damlacıklarını oluşturulmasına bağlı olarak kendiliğinden emülsiyon yöntemi ile mümkündür (Patel ve Joshi., 2012; Che Marzuki vd., 2019).

Nanoemülsiyonlar, gıda endüstrisinde yenilebilir filmler/kaplamalar olarak taze meyve, sebze, et ve gıdaların muhafazasında kullanılmaktadır. Küçük damlacık boyutu, şeffaf görünüm, optimize edilebilir özelliklerinin yanısıra nanoemülsiyonlar içerdiği bileşenlerin lipofilik faktörlerini barındıran ayrıca fonksiyonel özelliklerini ve stabilitelerini arttırmak için ideal nanoteknolojik ürünlerdir. Gıdanın duyuusal özelliklerinin korunmasında oldukça etkin olan nanoemülsiyonlar basit ambalajlamayla kıyaslandığında daha az oksidasyona neden oldukları bilinmektedir (Ahari ve Naeimabadi, 2021). Nanoemülsiyonlar, basit emülsiyonlarla karşılaştırıldığında yüksek sindirilebilirlik, biyoyararlanım ile etkin kapsüllenme ve dağıtım özelliklerinden dolayı daha fazla tercih edilmektedir. Nanoemülsiyonlar, nanoboyutta damlacık boyutu ve geniş yüzey alanı sayesinde zayıf çözünen

bileşenlerin emilimini, kapsüllenmesini, çözünürlüğünü, biyoerişilebilirliğini, geçirgenliğini ve biyoyararlanımını arttırıcı özelliği ile ideal bir nanoteknoloji ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır. Biyoaktif özellikli maddelerin nanoemülsiyona dahil edilmesi onu hem işleme koşullarından korur hemde depolama sırasında değişen sıcaklık, ışık, pH ve oksidatif koşullara karşı uzun raf ömrü sağlar. Nanoemülsiyonlarda gıdanın ihtiva ettiği bileşenlerle uyumluluk aranırken ve gıdanın tat, görünüm ve doku gibi organoleptik özellikleri üzerinde minimum etkiye sahip olanı tercih edilmektedir (Liu vd., 2019).

Nanoemülsiyonların ticari kullanımını sağlamak için nanoemülsiyon uygulamalarının, uygun taşıyıcılarının keşfedilmesi, tüketimin optimize edilmesi, üretim ve işlemedeki engellerin ortadan kaldırılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Nanoemülsiyon uygulamalarının su ürünlerinin lezzetini etkilemeden raf ömrünü uzatmak için kullanılması gibi avantajlarından dolayı yeni ve popüler yöntemler arasında yer almaktadır. Fakat nanoemülsiyonların özel hazırlama tekniklerinin gerekliliği, pahalılığı, Ostwald damlacık büyümesi gibi temel stabilite problemlerini çözmek amacıyla biyoaktif özellikleri olan farklı nanoemülsiyon bileşenleri ve nanomülsiyon teknikleri kullanarak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (İlyasoğlu ve El, 2010).

1.4. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Salmonidae familyasında bulunan Kuzey Amerika kökenli bir yetiştiricilik ürünüdür. Çevre koşullarına kolay adapte olmasıyla, 9-12 ay gibi kısa sürede ideal porsiyon ağırlığa (250-300 g) ulaşmakta, hastalıklara karşı dirençli olması nedeniyle yetiştiriciliği hız kazanarak bir endüstri halini almıştır. Dünya gökkuşağı alabalığı yetiştiricilik sıralamasında ilk sırada Şili (326.054 ton), ikinci İran (193.852 ton) ve Türkiye (165.683 ton) üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye, AB gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinin yaklaşık %78'ini, Dünya'da gökkuşağı alabalığı üretiminin de %15'ini oluşturmaktadır (FAO, 2023). Dünya gökkuşağı alabalığı üretiminde ülkemiz ikinci, Avrupa birliği dahil Avrupa'da ise birinci konumda yer almaktadır. TÜİK verilerine göre 2000 yılında 44.533 ton alabalık üretimi yaparken 2022 yılında bu rakam 145 bin 649 ton olarak belirlenmiştir (TÜİK, 2023).

Birçok ülkede kültürü yapılan bu balık özellikle restaurantlarda, balık severler tarafından tüketilir. Gökkuşığı alabalığı taze ya da farklı işleme teknolojileri aracılığıyla (tütsülenmiş, konserve veya dondurulmuş, buğulanmış, kızartılmış, kaynatılmış, mikrodalgada veya fırınlanmış) hazırlanarak tüketilebilir (Frimodt., 1995). Ülkemizde üretilen alabalıklar ise iç ve dış tüketime, taze soğutulmuş, dondurulmuş ve füme olarak sunulmaktadır (Açıl ve Demirci, 1984; Babadoğan, 1998; Aydın, 2000; Adıgüzel ve Akay, 2005; Alp ve Çaklı, 2023).

1.5. Aloe Vera Bitkisi

Aloe vera, suyun az olduğu tropik ve subtropikal bölgelerde yetişen, çok yıllık ve zambak familyasına ait (Liliaceae) hidrokolloid özellikli bir bitkidir (Şekil 4). Etli, kalın, üçgen ve dikenli yapraklara sahip bu bitki 60–100 cm yüksekliğe kadar büyüeyebilen Mısır, Hint, Çin ve Avrupa’da 5000 yılı aşkın süredir özellikle hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Aloe vera cinsi yaklaşık 450 türden oluşur (Benzidia vd., 2019; Muñiz-Ramirez vd., 2020).



Şekil 4. Aloe vera bitkisi

Aloe vera *Barbadensis Miller* ise bu cinse ait etli bir türünü oluşturmaktadır. Bitki dış ve iç katmandan oluşmaktadır. Dış katman yeşil renkten oluşan kabuk kısmı iken iç katman aloe vera jeli olarak adlandırılan yumuşak ve renksiz müsilağdan oluşmaktadır (Boudreau ve Beland, 2006). Aloe vera bitkisinin çoğunlunu oluşturan müsilağ %95 su ve geri kalan kısım lipitler, amino asitler, steroller, vitaminler, glikomannan, organik asitler ve fenolik bileşik gibi çeşitli biyoaktif bileşikleri içermektedir. Kabuk kısmı ise protein ve karbonhidrat bakımından zengindir. Aloe

vera jeli, hem ticari olarak hem de tedavi edici özellikleri nedeniyle en yaygın kullanılan türdür (Eshun ve He, 2004; Boudreau ve Beland, 2006). Aloe verada bulunan çeşitli kimyasal bileşikler, bunların ilgili sınıflarını ve işlevlerini göstermektedir. Çeşitli alternatif tıp tedavilerinde (homeopatik, allopatik ve ayurveda) yumuşatıcı, anti-inflamatuar, müshil, anti-mikrobiyal, afrodisyak, antifungal, antioksidan gibi terapötik etkilerinden dolayı aloe verayı ilaç olarak uygulamışlardır. Zengin içerik yapısının kozmetik değerlere de sahip olduğu bildirilmektedir (Rodriguez vd., 2010; Benzidia vd., 2019; Muñiz-Ramirez vd., 2020). Ayrıca Aloe vera besin değeri yüksek gıda katkı maddesi olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Su ürünleri gibi çabuk bozulan gıda ürünlerinin güvenliğini ve kalitesini sağlamak amacıyla hazırlanması ve gıdaya kolay uygulanabilir oluşu ile antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı Aloe vera jeli araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Eshun ve He, 2004; Serrano vd., 2006; Başyigit Kılıç vd., 2020).

1.6. Kenevir Tohumu Yağı

Kenevir (*Cannabis sativa* L.), tek yıllık, otsu, dioik, çiçekli bir bitki olup uzun zamandır gıda ve ilaç kaynağı olarak Avrupa ve Çin’de yetiştirilmekte ve son yüzyılda Kuzey Amerika’da endüstriyel bir ürün olarak giyim ve yem alanında kullanılmaktadır. Yüksek oranda δ -9-tetrahidrokannabinol (THC) içeren bu bitkinin tüketimi sonucu gözlenen baş dönmesi, ağız kuruluğu, oryantasyon bozukluğu, öfori, bilinç/zihin bulanıklığı ve sersemlik gibi olumsuz durumlardan ötürü 1930’lu yıllarda yasaklanmıştır (Hartsel vd., 2019). THC içeriğinin %0,3’ten daha az olan kenevir çeşidinin keşfedilmesi 1990’lu yılların sonunda yasal güncellemeyle birlikte Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri’nde üretimine, tüketimine ve kullanılmasına zemin hazırlamıştır. Ülkemizde de 2019 yılında Türkiye’de Endüstriyel Kenevir Yetiştiriciliği Raporu ve Eylem Planı ile üretilmesi ve yaygınlaştırılmasına karar verilmiştir (Başer vd., 2020; ElSohly vd., 2017).



Şekil 5. Kenevir tohumu ve yağı

Kenevir tohumu, %35,5 yağ, %24,8 protein ve %27,6 oranında karbohidrat, lif ve eser elementler içermektedir. Kenevir tohumu yağını esansiyel olmayan linoleik (18:2 n-6, ağırlıkça %55'te) ve alfa-linolenik (18:3) yağ asitleri oluşturmaktadır (Şekil5). Değerli yağ asitleri içeriğinden dolayı kenevir tohumu yağı antikanser, antienflamatuvar, antitrombotik, antiosteoporotik, antialerjik, sinir sistemi ve kalp damar sağlığını koruyucu etkileri, içerdiği terpenler ve fitosterol içeriği ile antienflamatuvar, antialerjik, sitoprotektif, antiviral, antifungal, antienflamatuvar ve antihiperlipidemik gibi çeşitli özellikleri içerdiği belirtilmektedir (Ali vd., 2012; Mechoulam, 2019; Rock ve Parker, 2021).

1.7. Literatür Araştırması

Durmuş, (2020), portakal, greyfurt, mandalina ve limon esansiyel yağlarından elde ettikleri nanoemülsiyonlarla daldırma yöntemiyle kapladıkları gökkuşağı alabalığı filetolarının buzdolabında 4 ± 2 °C'de raf ömrünü araştırmışlardır. Esansiyel yağları içeren nanoemülsiyonların hem fizikokimyasal hem de mikrobiyolojik bakımdan pozitif etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu kapsamda filetoların raf ömrünü kontrol grubu için 10 gün, tween 80 (yüzey aktif madde) grubu için 12 gün, portakal ve limon uygulama grupları için 14 gün, mandalina ve greyfurt grupları için 16 gün olarak tespit etmişlerdir. Gökkuşağı alabalığı filetolarının soğuk muhafazasında nanoemülsiyon hazırlamak için tüm turuncgil esansiyel yağlarının etkili olduğunu açıklamışlar fakat özellikle mandalina ve greyfurt EO'larının nanoemülsiyon formülasyonlarını önermişlerdir.

Büyük yılanbaşı (*Channa marulius*) balığının raf ömrünü uzatmaya yönelik bir çalışmada Anwer vd., (2021), susam yağı (SY) ve kolza yağı (KY) kullanarak farklı oranlarda (Kontrol (K), T1 (%20 SY), T2 (%25 SY), T3 (KY %20) ve T4 (KY %25)) nanoemülsiyonları hazırladıktan sonra 30 dk boyunca kaplama işlemi uyguladıkları filetoları vakum paketlenme yöntemiyle -40 °C'de depolamışlardır. 15 günlük bir depolamanın sonunda yağ içerikli nanoemülsiyon ile kaplanan filetoların oksidasyon stabilitesini azalttığı ve antioksidan aktivitesini arttırdığı bulunmuştur. Her iki yağın karşılaştırılması sonucu susam yağının balık filetoları için iyi bir koruyucu olduğunu ifade etmişlerdir.

Chuesiang vd., (2020), levrek (*Lates calcarifer*) filetolarını Hindistan cevizi yağı, palm çekirdeği yağı ve ayçekirdeği yağı ile hazırladıkları ve karakterize ettikleri nanoemülsiyon ile kaplamanın ardından soğuk depolama ($4\pm0,5$ °C) şartlarında renk, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini araştırmışlardır. Nanoemülsiyon karakterizasyon araştırmalarında hindistan cevizi yağı içeren nanoemülsiyonun 219 ± 5 nm, palm çekirdeği yağı nanoemülsiyonun 228 ± 8 nm ve ayçekek yağı nanoemülsiyonunun 322 ± 6 nm olarak çaplarını belirtmişlerdir. Tüm nanoemülsiyonlarla kaplanmış balık filetolarının düşük derecede lipit oksidasyonuna sahip olduğunu ayrıca kaplamaların damlama kaybına ve renk değişikliğine pozitif yönde etki ettiğini ortaya koymuşlardır. Hindistancevizi yağı içeren nanoemülsiyonların 24 günlük soğuk depolama süresince en çok antimikrobiyolojik etki gösterdiğini ve balık kalitesinin korunması için umut verici bir alternatif araç olarak kullanılabilirliğini vurgulamışlardır.

Gharibzahedi vd., (2017), ısırgan otu yağı (NO) (%2, 3,5 ve 5) ve hünnap sakızını (JG) (%4, 8 ve 12) ile hazırladıkları nanoemülsiyon kaplamanın 4 °C'de 15 günlük depolama boyunca Mersin Morinası (*Huso huso*) balığının kalite parametrelerini araştırmışlardır. Hünnap sakızının nanoemülsiyona eklenmesi ısırgan otu yağının koruyucu özelliğini arttırdığı ve en çok koruyucu aktivitenin %3,5 NO ve %12 JG içeren nanoemülsiyon grubu olarak bulunmuştur. Hazırlanan nano kaplamaların balık eti depolaması sırasında gıda kaynaklı bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Balığın raf ömrünün, kontrole kıyasla önemli ölçüde uzatılabileceğini açıklamışlardır.

Liu vd., (2021), kıl kuyruğu (*Trichurus haumela*) balığının kalitesini korumak ve 4 °C'de raf ömrünü arttırmak amacıyla hazırladıkları yenilebilir bir kaplama olarak öjenol-kitosan nanoemülsiyonun etkilerini araştırmışlardır. Tiyobarbitürik asit (TBA), toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N), su tutma kapasitesi (WHC), elektriksel iletkenlik (EC), toplam bakteri sayısı (TVC) ve duyuşal parametrelerin incelendiği çalışma sonucunda öjenol-kitosan nanoemülsiyon kaplamasının, tek başına kitosan nanoemülsiyonundan daha iyi koruyucu etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle, öjenol-kitosan nanoemülsiyonuna dayalı bir kaplama, kıl kuyruklu balığın kalitesini korumak ve soğuk depolama sırasında raf ömrünü uzatmak için etkili bir gıda sınıfı biyokoruyucu olabileceğini ifade etmişlerdir.

Das vd., (2023), çabuk bozulabilen bir gıda olan karideslerin kalitesi ve raf ömrünü arttırmaya yönelik bir çalışmada jelatin ve nane yağının eklenmesiyle hazırladıkları nanomülsiyonun boyutunu $115 \pm 3,7$ nm, polidispersite indeksini 0,632, ζ potansiyelini -24,76 mV ve beyazlık indeksini 86,19 olarak tespit etmişlerdir. Kontrol grubu olarak herhangi bir işlem yapılmayan karides ve deney grubu olarak hazırlanan nanoemülsiyon ile kaplanan karides arasında depolama süresince nanoemülsiyonlu grupta fizikokimyasal özelliklerde belirgin bir iyileşme olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca nanoemülsiyonun *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Jamali vd., (2023), mikrobiyal büyümeyi kontrol etmek ve dolayısıyla taze, dondurulmuş ve işlenmiş balık ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü arttırmaya yönelik yüksek oranda antimikrobiyal bileşik içeren zencefil esansiyel yağı nanoemülsiyonunu içeren aloe vera jel ile yenilebilir bir kaplama elde etmişlerdir. Bu kapsamda nanoemülsiyon ile kapladıkları alabalık filetolarını buzdolabında (4 °C) 12 gün boyunca muhafaza etmişlerdir. Yenilebilir kaplamalı gruplarda, kontrol grubuna kıyasla toplam aerobik mezofilik bakteri, psikrotrofik bakteri, Enterobacteriaceae ve laktik asit bakterileri açısından yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği ifade edilmiştir. Ayrıca kontrol ve aloe vera kaplamalarında diğer uygulamalara göre kalite kaybının daha erken gözlemlendiğini açıklamışlardır. Çalışma neticesinde zencefil esansiyel yağının nanoemülsiyonda uygun şekilde kapsüllenebildiği ve yüksek miktarda

antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinden dolayı balık filetosu için raf ömrü üzerinde olumlu etkileri olduğunu tespit etmişlerdir.

Yazgan vd., (2017), su içinde yağ formunda hazırladıkları Ayçiçek yağı bazlı nanoemülsiyonlar ile kapladıkları çipura ve levrek filetolarının mikrodalga ile pişirme sonrası buzdolabında (2 ± 2 °C) muhafazası sonucu antimikrobiyal ve fizikokimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Kaplamanın kalite üzerinde olumlu etkileri olduğu özellikle buzdolabında saklama ve mikrodalgada pişirme sırasında protein denatürasyonu üzerinde engelleyici bir etkisinin olduğunu ifade etmişlerdir.

Özoğul vd., (2017), biberiye, defne, kekik ve adaçayı kullanarak hazırlanan nanoemülsiyonların gökkuşağı alabalığının kalitesi üzerindeki antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini araştırdıkları çalışmada nanoemülsiyonların gökkuşağı alabalığının organoleptik kalitesini arttırdığını ve kontrol grubunda 14 gün, uygulama grubunda ise 17 günlük bir raf ömrü sağlayabildiğini tespit etmişlerdir. Nanoemülsiyonların biyokimyasal parametrelerin değerlerini azaltıcı ve bakteri üremesini yavaşlatıcı etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Biberiye ve kekik esansiyel yağı içeren nanoemülsiyonların diğer esansiyel yağlara göre daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Çorapçı, (2022), kuşburnu tohumu yağı (RSO) nanoemülsiyonlarının Levrek filetosunun kalitesi üzerindeki etkisini 4 ± 1 °C'de araştırmışlardır. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N), pH, su aktivitesi, renk ve mikrobiyolojik (toplam psikrofilik bakteri (TPB), toplam maya ve küf (TYM), *Pseudomonas* türleri, laktik asit bakterileri (LAB), toplam koliform bakterileri (TCB) ve *Staphylococcus aureus*) parametrelerinin incelendiği çalışmada en düşük TVB-N değerini 40,41 mg/100 g olarak nanoemülsiyon uygulanan grupta tespit ederlerken, depolamanın son gününde bu değer kontrol grubunda 49,68 mg/100 g olarak ifade edilmiştir. Kuşburnu tohum yağı içeren nanoemülsiyonlarla kaplanan levrek filetolarının mikrobiyolojik değerlendirme sonucu TMAB değerlerine göre raf ömrünün 2 gün uzadığını ve toplam psikrofilik bakteri değerlerinin ise sınır değere 11. gün sonunda ulaştığını ifade etmişlerdir.

Sharifimehr vd., (2019), zengin protein ve omega 3 kaynağı olan pembe karideslerin kalitesinin stabilitesine yönelik farklı oranlarda hazırlamış oldukları öjenol ve aloe vera jel ile zenginleştirilmiş yenilebilir nanoemülsiyon kaplamanın etkinliğini araştırmışlardır. Yüksek aloe vera konsantrasyonlarının karides

örneklerinde damlama kaybını, pişirme kaybını, pH artışını ve oksidasyon oranlarını önemli ölçüde azaltabildiğini böylece nanoemülsiyon kaplamanın soğuk depolamaya bağlı olarak karidesin kalitesini yükselttiğini ifade etmişlerdir.

Sánchez vd., (2020), yaptıkları çalışmada biyoaktif özelliklere sahip balık jelatininin (FG; %0,1) ve aloe vera jeli (AV; %4) ilavesiyle elde ettikleri yenilebilir filmlerin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini araştırmışlardır. Sonuç olarak FG/AV filmlerinin hidrofilikliğinin ve çözünürlüğünün arttığını tespit etmişlerdir. Yüksek bir termal stabiliteye sahip FG/AV filmlerinin *S. aureus*'a karşı inhibe edici özelliğinin olduğunu bu kapsamda filmlerin meyve ve sebzelerin hasat sonrası kalitesini artırmak için potansiyel etkili bir malzeme olarak önerilebileceğini bildirmişlerdir.

Jarzębski vd., (2021), çalışmalarında *Aesculus hippocastanum* L. özünü (AHE) ile stabilizatör sıvı faz olarak su ve hyaluronik asitin kullandığı ve farklı konsantrasyonlarda kenevir tohumu yağı (HSO) ilave ettikleri nanoemülsiyonların optimizasyonunu araştırmışlardır. Ayrıca AHE'nin anti-inflamatuar özelliklerinin, sağlık açısından faydalı yeni emülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesine fırsat sağladığını tespit etmişlerdir. Saponin içeren bitki ekstraktlarının, nanoemülsiyon stabilizatörleri olarak kullanılmaya yönelik umut verici doğal yüzey aktif maddeler olduğunu belirtmişlerdir. AHE ve HA bileşiminin yeni biyomedikal ve gıda formülasyonlarının geliştirilmesinde faydalı etkileri olabileceğini AHE ve HA'nın emülsiyon sistemlerinde kenevir tohumu yağı ile kombinasyonunun genel olarak besinsel faydaları artırabilir ve bu da onları gıda formülasyonlarında mükemmel adaylar haline getirebilir olduğunu vurgulamışlardır.

Bir grup araştırmacı peynir altı suyu protein nanofibrilleri ve maş fasulyesi protein nanopartiküllerinin bir arada olduğu kompleksi endüstriyel kenevir (*Cannabis sativa* L.) (IHEO) esansiyel yağı ile zenginleştirerek fonksiyonel nanomalzeme elde etmişlerdir. Elde edilen nanomalzemenin toplam canlı ve psikrotrofik bakterilere karşı inhibisyon aktivitesi sonucu aktif malzeme kaplamalarına dahil edilerek gökkuşağı alabalık filetolarının raf ömrünü uzatmaya yönelik araştırmada bulunmuşlardır. Kaplanmış alabalıkların depolama sırasında PV (peroksit değeri), TBA (tiyobarbitürik asit) ve TVB-N (toplam uçucu bazik nitrojen) değerlerinin artışını engelleyici rolüne bağlı olarak gökkuşağı alabalığı filetolarının raf ömrünün uzamasında etkili olduğunu

geliştirilen nanomalzeme ile balıkların kaplanmasında ideal bir malzeme olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (Majidiyan vd., 2022).

1.8. Çalışmanın Amacı

Dondurulmuş ürünlerin kalitesinde donma hızına bağlı olarak meydana gelen büyük/küçük buz kristallerinin sebep olabileceği olumsuz etkiler protein oksidasyonu ile birlikte toksik peptidler meydana getirmektedir. Böylece üründe oksidasyonun ilerlemesiyle duysal ve tekstürel kalite problemleri ortaya çıkmaktadır. Toksik peptidler yüksek miktarda içeren ürünler gıda güvenliği açısından risk teşkil etmektedir. Tüm bu nedenler göz önünde bulundurulduğunda su ürünleri başta olmak üzere diğer hayvansal ürünlerde de, üretim ve depolama süresince protein oksidasyonun incelenmesi büyük bir önem teşkil etmektedir. Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda donmuş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarında protein oksidasyonu üzerine detaylı bir inceleme yapılacak ve hidrokolloid-antioksidan özellikli nanoemülsiyon kaplamanın oksidasyon süreci üzerindeki etkinliği tartışılacaktır. Çalışma materyali olarak gökkuşağı alabalığının tercih edilmesi, özellikle son zamanlarda değerli besin içeriği ile gökkuşağı alabalığının Türk somonu adı altında artan üretim potansiyelidir. Ayrıca ülke ekonomisine önemli katkısının olması ve bu talebi karşılayabilmek adına balığın depolama, işleme ve nakli esnasında kalitesinin korunarak raf ömrünü uzatmaya yönelik çalışmaların gerekliliğindendir. Son yıllarda gıda ve ilaç endüstrilerinde hem üreticiler hem de tüketiciler tarafından doğal bitkisel katkı maddelerine artan bir ilgi mevcuttur ve bu çerçevede çalışmada bitkisel tabanlı nanoemülsiyon kaplama için hidrokolloid özelliğinden dolayı aloe vera jeli ve çok yönlü kullanıma sahip oluşu ve yüksek antioksidan potansiyelinden dolayı kenevir tohumu yağı tercih edilmiştir. Çalışmada bitkisel tabanlı nanoemülsiyon kaplama ile sanayide en çok kullanılan dondurma sıcaklıklarından olan yavaş dondurma (-20 °C) ve hızlı dondurma (-40 °C) sıcaklıkları belirlenmiştir. Ev ve endüstri seviyesindeki bu dondurma sıcaklıklarının seçilmesindeki amaç çalışma sonucu elde edilecek pozitif sonuçların bu seviyelerde yararlanılabilir veriler olmasındandır.

Literatür verileri incelendiğinde de hızlı ve yavaş dondurulan balıkların çözünme sonrası protein oksidasyonuna bağlı meydana gelen kalite değişimlerinin nedenlerinin açık ve yeterli bir şekilde açıklanmadığı görülmektedir. Bu çalışmadan elde edilecek çıktılar ile protein oksidasyonunun sürecini yavaşlatabilme ve balık filetosunda dondurmaya bağlı kalite kayıplarının önüne geçebilecek verilerin ortaya koyulması hedeflenmektedir. Ayrıca hızlı dondurma işlemine tabii tutulmuş balıkların kalitesinin detaylandırılması ve yavaş dondurulmuş balıklarla karşılaştırılması konusundaki literatürde var olan boşluklar da doldurulmuş olacaktır.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyaller

2.1.1. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

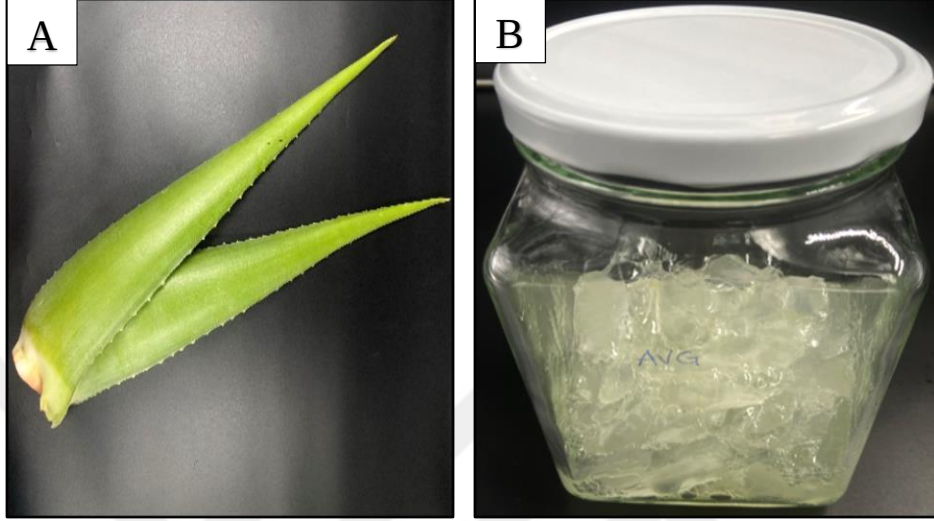
Çalışma grupları baz alınarak ortalama ağırlığı 69,51 g ve boyu 17,34 cm olan 120 adet derisiz gökkuşığı alabalığı filetosu (60 adet balıktan elde edilen) kullanılmıştır. Alabalık filetoları Rize-Fındıklı’da bulunan özel bir işletmeden kaplama işlemi öncesi ön soğutma koşullarında, hijyenik şartlar altında (Şekil 6) temin edilmiştir. Soğuk zincir korunarak Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri İşleme Teknolojisi laboratuvarına getirilmiştir.



Şekil 6. Derisiz gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetosu (Orijinal resim)

2.1.2. Aloe vera (*Barbadensis Miller*) bitkisi

Barbadensis Miller Stockton cinsi aloe vera bitkisi tamamen saf halde Antalya’da bulunan yerel üretici olan bir firmadan temin edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Aloe vera (*Barbadensis Miller*). A: bitkisi ve B: jeli (Orijinal resim)

2.1.3. Kenevir (*Cannabis sativa L.*) tohumu yağı

Kenevir tohumu yağı ise katkı maddesi ve koruyucu içermeyecek şekilde %100 saf olarak ticari firmadan (Tazemiz) temin edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Kenevir (*Cannabis sativa L.*) tohumu yağı (Orijinal resim)

2.2. Metot

2.2.1. Uygun Kaplama Dozunun Belirlenmesi İçin Farklı Oranlarda Nanoemülsiyonların Hazırlanması

Farklı formülasyonlardaki HA1, HA2, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA8 ve HA9 nanoemülsiyonlar Sharifimehr vd., (2019)'ın önerdiği metodun modifiye edilmesi ile hazırlanmıştır (Tablo 2). Bir behere öncelikle aloe vera jeli (AVG) ardından iyonik olmayan, düşük molekül ağırlıklı bir yüzey aktif madde olan tween 80 (T80) ve saf su eklenmiş ve sonrasında hazırlanan çözelti 3dk boyunca 400 rpm'de WiseTis marka homojenizatör cihazıyla homojenize edilirken kenecir tohumu yağı eş zamanlı olarak bir şırınga ile damla damla ilave edilmiştir (4:1 oranında Tween 80/kenecir tohumu yağı). Parçacık boyutunu küçültmek ve nano ölçekli bir damlacık elde etmek için emülsiyon, 15 dakika boyunca (2 sn açık 2 sn kapalı) 500 W gücünde ve 20 kHz frekansında, beherin tabanından 1 cm uzakta olacak şekilde bir ultrason probu (SONICS, vibra-cell, 500) ile 25 °C'de sıcaklıkta işleme alınmıştır (Şekil 9). Yüksek enerjili bu yöntemde açığa çıkan ısıyı minimuma indirmek ve nanoemülsiyonun yapısını korumak için numune kabını buz içeren daha büyük bir beher içine yerleştirilerek süreç yürütülmüştür. İşlem sonunda su içinde yağ (O/W) yapısında nanoemülsiyon grupları elde edilmiştir (Şekil 10).

Tablo 2. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait içerikler

Formülasyonlar	Aloe vera jel (%)	Kenecir tohumu yağı: T80 (1:4) (%)	Saf su (%)
HA1	1	20	79
HA2		25	74
HA3		30	69
HA4	2	20	78
HA5		25	73
HA6		30	68
HA7	3	20	77
HA8		25	72
HA9		30	67



Şekil 9. Ultrasonikatör yardımıyla nanoemülsiyon eldesi

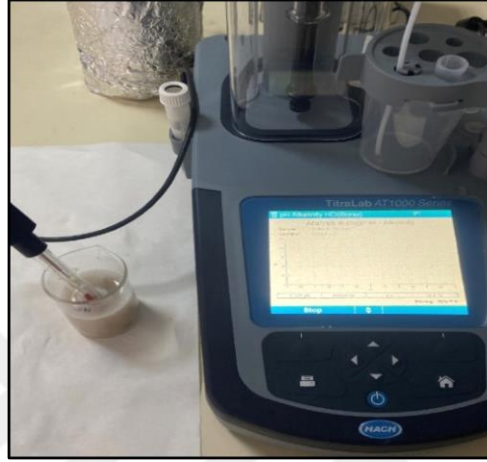


Şekil 10. Farklı formülasyonlarda hazırlanan aloe vera jeli-kenevir tohumu yağı katkılı nanoemülsiyonlar

2.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Karakterizasyonu

2.2.2.1. pH

Formülasyonların pH değeri oda sıcaklığında ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) marka HACH TitraLab AT1000 pH metre cihazı ile Curran vd., 1980 metoduna göre ölçülmüştür (Şekil 11).



Şekil 11. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların pH analizi

2.2.2.2. Viskozite (mPa.S)

Viskozitedeki değişimler Talegaonkar vd., (2010)'e göre bir viskozite cihazı (SOIF NDJ-8S ($10^{-2} \times 10^6$ mPa.s) 30rpm/3s⁻¹ min - 3 numaralı rotor) ile belirlenerek, 3 numaralı mil ile 30 rpm'de 3 s⁻¹ ($10^{-2} \times 10^6$ mPa.s ölçüm aralığı) kesme hızı altında ölçülmüştür (Şekil 12).



Şekil 12. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların vizkozite analizi

2.2.2.3. Bulanıklık (NTU)

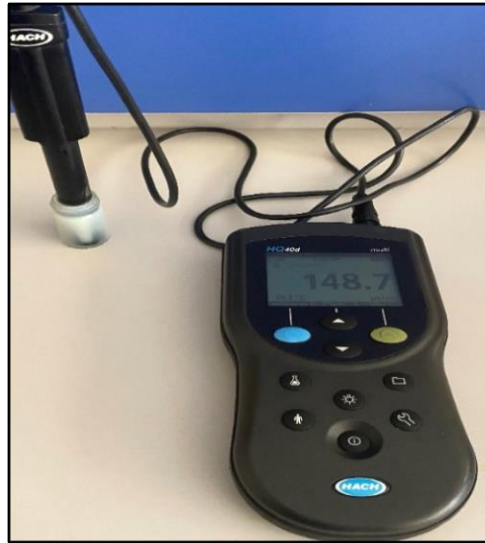
Bulanıklık her nanoemülsiyon formülasyonunun distile su ile 1:9 oranında seyreltilmesinden sonra oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) UV-spektrofotometrede (WTW, Turb555) ölçülmüştür. Daha sonra 3 tekrarla yapılan bu analizde, her sonuç seyreltme katsayısı ile çarpıldı ve istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Şekil 13).



Şekil 13. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların bulanıklık analizi

2.2.2.4. İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

Elektriksel iletkenlik, 25 ± 2 °C’de, HACH, HQ40d markalı cihaz probunun nanoemülsiyon formülasyonuna direkt daldırılması ile ölçüm yapılmıştır (Şekil 14).



Şekil 14. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların iletkenlik analizi

2.2.2.5. Renk ve Beyazlık İndeksi

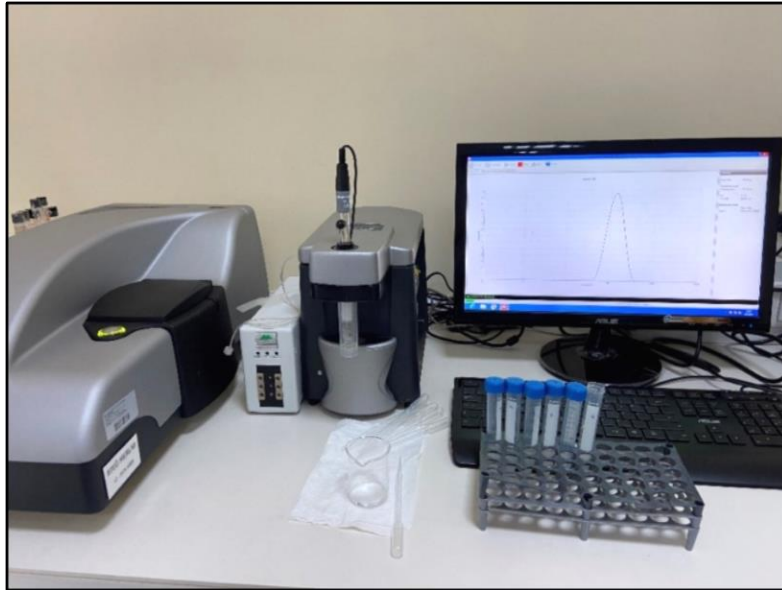
Formülasyonların L*, a*, b* renk değerleri Konica Minolta (CR-200, Osaka, Japan) kolorimetre cihazı kullanılarak ölçülmüştür. L*, a* ve b* değerleri International Commission on Illumination "CIELAB" (Commision Internationale de l'Eclairage), standartına göre verilmiştir. Bu kapsamda L* (aydınlık): L*= 0, karanlık; L*=100, beyazlık; A*; +a*= kırmızı, -a*=yeşil: ve b*; +b*=sarı, -b*= mavi aralığını belirtmektedir (Gobantes vd.,1998; Amanatidou vd., 2000).

Beyazlık indeksini (WI) hesaplamak için CIE L*, a* ve b* değerlerinden yararlanılmıştır (Vargas, vd., 2008):

$$WI = 100 - ((100-L^*)^2 + (a^{*2}+b^{*2}))^{0.5}$$

2.2.2.6. Boyut Dağılımı Analizi

Nanoemülsiyon formülasyonlarının parçacık boyutu, zeta potansiyeli, polidispersite indexi (Pdl) zetasizer cihazı olan Malvern Zetasizer Nano ZSP (United Kingdom) ile belirlenmiştir (Şekil 15). Formülasyonlar ultra saf su ile 1:9 oranında seyreltilmiştir. Zeta sizer ölçümü için DTS1070 hücrede 25 °C'de 633 nm'de 173° ölçüm açısında değerlendirilmiştir (Zhang, vd., 2017). Bu analiz Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 15. Farklı formülasyonlara sahip nanoemülsiyonların parçacık boyutu analizi

2.2.2.7. FourierDönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

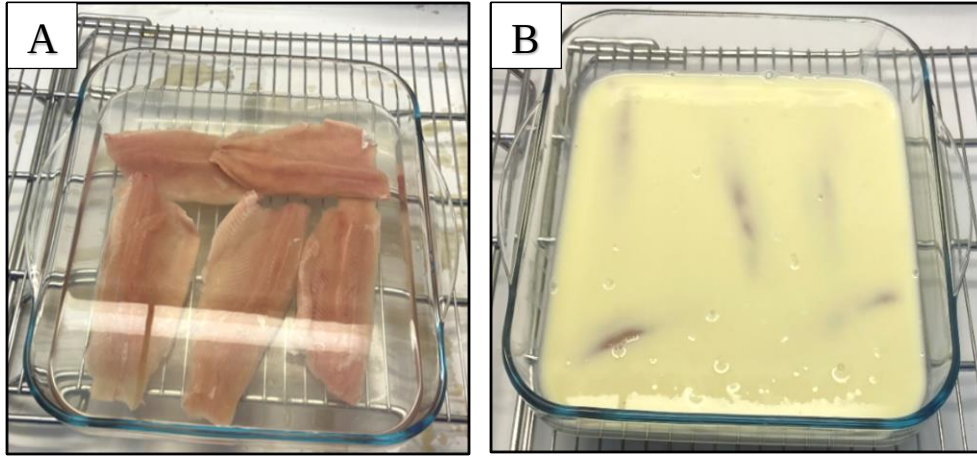
Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizleri FT-IR Cihazı - Perkin Elmer Spectrum 100 cihazı ile $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte tarama yapılarak belirlenmiştir. Zeta sizer ölçümleri, $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de DTS1070 kılcal zeta hücresinde toplanmıştır ve 633 nm lazer kullanılarak 173° dedektör açısıyla 3×12 ölçüm alınmıştır. Bu analiz Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.8. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Nanoemülsiyonların morfolojisinde Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DAYTAM) bulunan transmisyon elektron mikroskobu (TEM, Hitachi HighTech HT7700, Japonya) kullanılmıştır. TEM tespiti için nanoemülsiyonlar ultra saf su içerisinde dağıtıldı ve bir damla seyreltilmiş nanoemülsiyon, 400 ağ gözü karbon kaplı bakır ızgaraya yerleştirildi. Izgara daha sonra gece boyunca oda sıcaklığında kurutulmuştur. TEM görüntüleme 120 kV 'da gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. Gökkuşığı Alabalığının Nanoemülsiyon ile Kaplanması

Farklı formülasyonlarda hazırlanan nanoemülsiyonların karakterizasyon analiz sonuçlarının değerlendirilmesi neticesinde en uygun nanoemülsiyonun HA8 grubu olduğu belirlenmiş ve kaplama çözeltisi olarak kullanılmıştır. HA8 nanoemülsiyon çözeltisine daldırma yöntemi uygulanarak filetoların tüm yüzeylerine kaplanma işlemi uygulanmıştır. Kontrol grubu örnekleri için saf su kullanılarak kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 16). Kaplama işleminde filetolar balık eti ağırlığının %10 oranında steril şartlarda hazırlanmış nanoemülsiyon içerisinde 5 dakika bekletilerek uygulama yapılmıştır. Ardından filetolar Laminar marka flow kabin içerisinde nanoemülsiyon kaplamanın daha iyi nüfuz etmesi için 5 dakika boyunca bekletilmiştir (Şekil 17) (Yazgan, 2013).



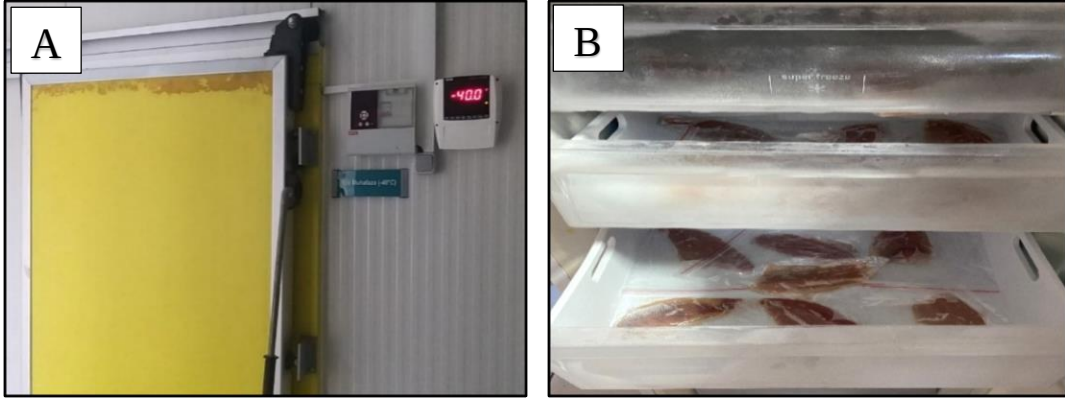
Şekil 16. Alabalık filetolarının kaplanması. A:Filetoların saf su ile kaplanması, B:Filetoların nanoemülsiyon ile kaplanması



Şekil 17. Kaplama sonrası filetoların bekletilmesi

2.2.4. Kaplanan Filetoların Hızlı (-40 °C) ve Yavaş (-20 °C) Sıcaklıklarda Dondurulması

Kaplama işlemi yapılan ve kurutulan filetolar akabinde şeffaf steril polietilen torbalarda paketlenmiştir. Filetolara yavaş dondurma uygulaması için -20 °C’de bir dondurucuda (Vestel) dondurulurken hızlı dondurma işlemi için -40 °C’deki Alfa-laval marka dondurucu kullanılmıştır. Numunelerin merkezi sıcaklığı, kablosuz bir sıcaklık probu ile dondurma süresi boyunca kaydedilmiştir. -40 °C’de her bir hızlı donan numunenin merkezi sıcaklığı -20 °C 'ye ulaştığında numuneler hemen geleneksel bir dondurucuya (-20 °C) taşınmıştır (Şekil 18). Tüm yavaş ve hızlı donan örnekler, çalışma süresince (6 ay) -20 °C saklanmıştır.



Şekil 18. Filetoların dondurulması. A: Hızlı (-40 °C) ve B: Yavaş (-20 °C) dondurulması

2.2.5. Dondurulan Filetoların Buzdolabı Sıcaklığında (+4 °C) Çözündürülmesi

Çalışmada depolama süresi boyunca belirlenen aralıklarda fileto kalitesinin ve raf ömrünün belirlenmesi amacıyla biyokimyasal, fizikokimyasal ve kimyasal analizler yapılmıştır. Her ay analiz öncesi dondurulmuş filetolar buzdolabında (4 ± 1 °C)'ta iç sıcaklık takibi yapılarak -1 °C'ye düşünceye kadar bekletilip ardından analizlere tabii tutulmuştur (Şekil 19) (Anderson vd.,2004).



Şekil 19. Analiz öncesi dondurulan filetoların buzdolabı sıcaklığında (+4 °C) çözündürülmesi

2.2.6. Nanoemülsiyon ile Kaplanmış Filetolara Ait Kalite Analizleri

2.2.6.1. pH Değeri Analizi

pH ölçümü Curran vd., (1980)'in uyguladığı yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Yönteme göre homojenize edilecek örnekleri 1:1 oranında distile su ile sulandırılarak ve pH metre (Mettler Seven Compact - Toledo AG 8603) ile ölçülmüştür.

2.2.6.2. Damlama Kaybı Analizi

Damlama kaybı (pasif su kaybı) için dondurulmuş fileto numuneleri önce tartılmıştır. Ardından herhangi bir temasa maruz bırakılmamış polietilen poşetler içinde askıya alınmıştır. +4 °C'de 24 saat boyunca bekletilen numuneler kâğıt havlu ile dikkatlice kurulandıktan sonra tekrar tartılmıştır. Damlama kaybı (%), askı öncesi ve sonrası ağırlıklar arasındaki farkın askı öncesi ağırlığına oranı olarak hesaplanmıştır (Honikel, 1998).

Damlama kaybı (%) = $[(\text{Askı öncesi ağırlık} - \text{Askı sonrası ağırlık}) / \text{Askı öncesi ağırlık}] \times 100$

2.2.6.3. Su Tutma Kapasitesi Analizi

5 gr örnek tartılıp ve 4500 g/dk 10 °C 30 dk santrifüj edilmiştir. İşlem sonrası süpernatant uzaklaştırılıp ve pellet kısmı tartılıp aşağıdaki formüle göre su tutma kapasitesi hesaplanmıştır (Parnell-Clunies vd., 1986).

Su Tutma Kapasitesi (%) = $[1 - (\text{pellet ağırlığı} / \text{örneğin ilk ağırlığı})] \times 100$

2.2.6.4. Su Aktivitesi Analizi

Su aktivitesi ölçümleri Aqualab su aktivitesi ölçüm cihazı ile 25 °C ($\pm 0,2$ °C)'de yapılmıştır (Çağlak ve Karşı, 2013). Ölçüm öncesinde cihaz hazır kalibrasyon çözeltileri (Decagon Devices, Inc. 2365 NE Hopkins Court Pulman WA 99163) kullanılarak kalibre edilmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Filetoların su aktivitesi ölçümü

2.2.6.5. Renk Analizi

Örneklerin renk yoğunluklarının ölçümünde Minolta (CR-200, Minolta Co, Osaka, Japon) kolorimetre cihazı kullanılarak L^* , a^* ve b^* değerleri tespit edilmiştir. L^* , a^* ve b^* değerleri üç boyutlu renk ölçümünü esas alan Uluslararası Aydınlatma Komisyonu CIELAB (Commision Internationale de l'E Clairage) tarafından verilen kriterlere göre yapılmıştır (Amanatidou vd., 2000, Gobantes vd., 1998).

2.2.6.6. Tekstür Profil Analizi (TPA)

Tekstür profil analizi, tekstür analiz cihazı (CT3, Brookfield Engineering Laboratories, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 21). Balıklardan çıkarılan silindirik boyutlu (20 mm çap ve 20 mm yükseklik) örnekler 50,8 mm'lik silindirik prob (TA 25/1000, Brookfield Engineering Laboratories, USA) kullanılarak iki sıkıştırma çevrimi ile analize tabi tutulmuştur. İşlem şartları: ön test hızı 2 mm/s, test hızı ve test sonrası hızı 1 mm/s, birinci ve ikinci sıkıştırma arası süre 3 s ve sıkıştırma oranı %50 olacak şekilde ayarlanmıştır. Analiz sonucunda tekstürel parametreler olan sertlik (hardness), yapışkanlık (adhesiveness), esneklik (resilience), kohesivlik (cohesiveness), elastikiyet (springiness), çiğnenebilirlik (chewiness) ve sakızımsılık (gumminess) değerleri tespit edilmiştir (Bourne, 1978; Akköse, 2017).



Şekil 21. Filetoların tekstür profil analizi

2.2.6.7. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Seviyesinin Belirlenmesi

Tiyobarbitürik asit (TBA) analizi Tarladgis vd., (1960)'nin önerdiği yöntemle yapıldı. Bu metoda göre homojenize edilmiş örnekten 10 g tartılarak, üzerine 97,5 ml saf su ile 2,5 ml 4N HCl ilave edilip ve kaynatma balonuna aktarılarak 50 ml destilat toplanana kadar destilasyon işlemine tabi tutuldu. Toplanan destilattan 5 ml alınıp üzerine 0,02 M tiyobarbitürik asit reaktifi ilave edilerek 35 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Soğuyan destilatların spektrofotometrede 538 nm dalga boyunda optik dansitesi okunacak ve elde edilen sonuçlar 7,8 katsayısı ile çarpılarak 1000 g örnekteki malondialdehit miktarı mg olarak belirlenmiştir.

$$\text{TBA mg malondialdehit/kg} = A_{538} \times 7,8$$

A_{538} = Örneğin absorbans değeri

2.2.6.8. Toplam Uçucu Bazik Asit (TVB-N) Seviyesinin Belirlenmesi

Çalışma gruplarında uçucu bazik azot (TVB-N) Varlık vd., (1993)'e göre yapılmıştır. Bu yöntemle göre homojen hale getirilmiş 10 g örnek destilat balonu içerisine aktarılmış ve üzerine 1 g magnezyum oksit (MgO), köpürmeyi önlemek için birkaç damla silikon yağı ve 100 ml saf su ilave edilmiştir. Destilatların biriktirileceği ve titrasyonun yapılacağı 50 ml'lik hacime sahip geniş boyunlu bir erlenmayer içerisine 10 ml %3'lük borik asit (H_3BO_3), 8 damla taşıro indikatörü ve yaklaşık 100 ml saf su ilave edilerek destilat çıkış borusunun ucu, içerisindeki çözeltiye daldırılacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 22). Destilasyon balonu içerisindeki örnek 15-20 dk.

destilasyona tabi tutulup elde edilen destilat 0,1 N HCl ile titre edilmiştir. Toplam TVB-N miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{TVB-N (mg N/100)} = A \times 1,4 \times 100 / B$$

A: ml olarak harcanan 0,1 N HCl

B: Örnek ağırlığı



Şekil 22. Toplam uçucu bazik asit (TVB-N) analizi

2.2.6.9. Miyofibril Protein Ekstraksiyonu ve Parçalanma İndeksinin (MFI) Belirlenmesi

MFI belirlenmesi, soğuk MFI tamponla (100 mM KCl, 1 mM EGTA, 1 mM MgCl_2 ve 1 mM NaN_3 içeren 40 mL 0,02 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.0)) homojenize edilen örnekler santrifüjlendikten (4 °C'de 1000 x g'de 15 dakika) sonra elde edilen peletin süspanse edildikten sonra 540 nm'de kaydedilen absorbans değerinin seyreltme faktörü (200) ile çarpılması ile ifade edilmiştir (Culler vd., 1978).

2.2.6.10. Karbonil Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Çalışmada 2,4-ditiyofenilhidrazin (DNPH) yöntemi dikkate alınarak Miyofibril protein (MP) örnekleri için karbonil konsantrasyonu belirlenmiştir. Yöntemde 10 mM DNPH çözeltisine MP süspansiyonu ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Karışım daha sonra %20 trikloroasetik asit ile 5 dakika yıkanarak santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen pelet 3 ml 6 M

guanidin eklenerek 37 °C'de inkübe edilip ve soğutma işlemini takiben 370 nm'de okumalar yapılarak nM karbonil/mg protein olarak ifade edilmiştir (Oliver vd., 1987).

2.2.6.11. Sülfhidril Gruplarının ve Disülfid Bağlarının Belirlenmesi

MP'nin disülfid konsantrasyonunun belirlenmesinde, 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) reaksiyonu dikkate alınmıştır (Ellman, 1959). MP solüsyonu 4,5 ml 0,2 M Tris-HCl 3 mM etilen diamin tetra asetik asit ve 8 ml üre içeren %1 sodyum dodesil sülfat tamponu ile karıştırılıp daha sonra bu karışımdan 4 ml alınarak ve 0.5 ml tampon B (10 mM Tris-HCl, 10 mM DTNB, pH 8.0) eklenmiştir. Ardından 40 °C'de 25 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda, spektrofotometrede 412 nm'de okunan numunelerin absorbans değeri ile disülfid konsantrasyonu belirlenmiştir.

2.2.7. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen veriler, sonuçların paralellerinin (n:2-3) ortalama ± standart sapması alınmıştır. Örnekler arası farkı saptamak amacı ile varyansları homojen bulunan gruplara önemlilik testi uygulanmıştır. Bu önemlilik testi için 'One Way Anova' testi uygulanmış, önem derecesi $p < 0,05$ olarak kullanılmıştır. İstatistiki analizde JMP 54 5.0.1 SAS (SAS Institute Inc, NC, ABD) paket programı kullanılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000).

3. BULGULAR

3.1. Nanoemülsiyon Formülasyonlarına Ait Karakterizasyon Analiz Bulguları

Balık filetosu kaplamada kullanılmak üzere yüksek enerjili bir teknik olan ultrasonikasyon ile hazırlanan suda yağ formundaki bitkisel bazlı nanoemülsiyonların [%1, %2 %3 AVG, (HSO:T80/1:4)] karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, her nanoemülsiyon formülasyonu için pH, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyel değerleri, viskozite, türbidimetre, iletkenlik, renk ve beyazlık indeksi belirlenmiştir. Nanoemülsiyonu oluşturan malzemelerin saflık derecesini belirlemek için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve morfolojik karakterizasyonu için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulgular Tablo 3, Tablo 4, Şekil 24 ve Şekil 25’de sunulmuştur.

Kaplamada kullanılmak üzere nanoemülsiyon eldesi için $0,17\pm0,01$ polidispersite indeksi ve TEM analizi sonucu homojen dağılım göstermesiyle ideal karakterizasyon parametrelerine %5 HSO ve %3 AVG içeren HA8 grubu nanoemülsiyon formülasyonunun sağladığı tespit edilmiş ve kaplama malzemesi olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

3.1.1. pH, Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Analiz Bulguları

Çalışma sonunda elde edilen nanoemülsiyon formülasyonlarına ait pH, damlacık boyutu (nm), polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli (mV) değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Nanoemülsiyonların pH değerleri minimum 4,74 (HA1) ile maximum 4,88 (HA6) arasında bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,05$).

PDI değeri damlacıkların damlacık boyut dağılımı olarak tanımlanır ve emülsiyonun homojenliğini ve kararlılığını belirlemede önemli bir parametredir. Mevcut çalışmada, HA8 emülsiyonu için minimum PDI değeri $0,17\pm0,01$ olarak bulunmuştur ($p<0,05$).

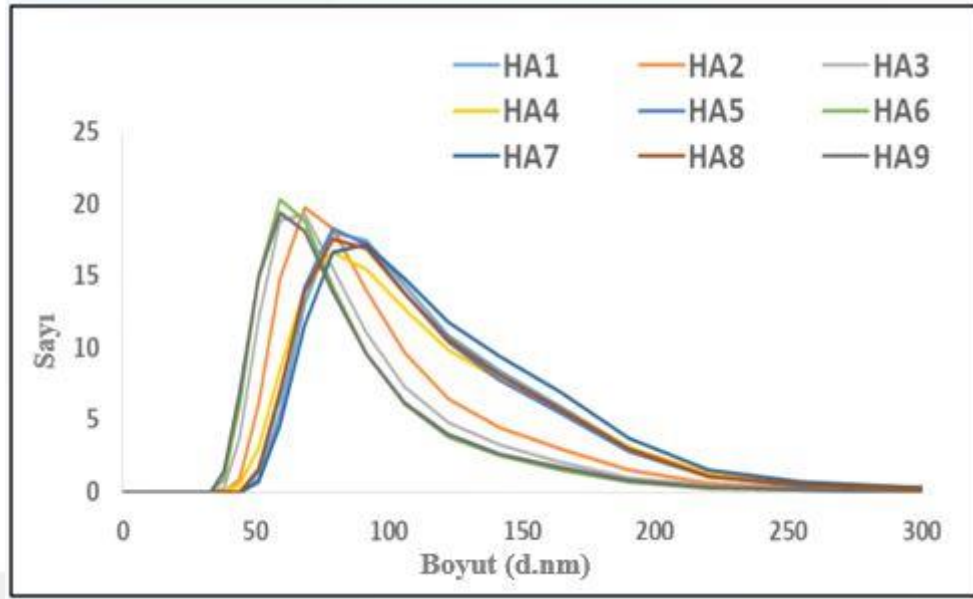
Çalışmamızda, % 1, % 2 ve % 3 aloe vera jel kullanımında emülgatörün artmasıyla damlacık boyutunun azaldığı tespit edilmiştir. Nanoemülsiyonların damlacık boyutu Şekil 23’de verilmiştir. Damlacık boyutunun minimum $118,9 \pm 1,0$ (HA6) ve maximum $170,5 \pm 2,3$ nm (HA1) aralığında olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Zeta potansiyel değeri, nanoemülsiyon sistemlerinde iç fazı oluşturan damlacıkları dış fazdan ayıran arayüzde bulunan elektrik potansiyelidir. Tüm nanoemülsiyon grupları için zeta potansiyel değeri nispeten düşük değerler gösterirken (HA1; $-4,89 \pm 0,12$, HA2; $-4,82 \pm 0,19$, HA3; $-4,53 \pm 0,85$, HA4; $-5,09 \pm 1,54$, HA5; $-4,73 \pm 0,22$, HA6; $-4,17 \pm 0,14$, HA7; $-4,96 \pm 0,31$, HA8; $-4,20 \pm 0,31$, HA9; $-4,02 \pm 0,14$ mV) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait pH, parçacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI), zeta (ζ) potansiyel değerleri

Formülasyonlar	pH	Parçacık boyutu (nm)	Polidispersite indeksi (PDI)	Zeta (ζ) potansiyel (mV)
HA1	$4,74 \pm 0,02^E$	$170,5 \pm 2,30^A$	$0,26 \pm 0,01^A$	$-4,89 \pm 0,12^A$
HA2	$4,75 \pm 0,00^{DE}$	$142,8 \pm 1,30^D$	$0,21 \pm 0,00^B$	$-4,82 \pm 0,19^A$
HA3	$4,81 \pm 0,02^{BC}$	$127,7 \pm 0,90^E$	$0,20 \pm 0,01^B$	$-4,53 \pm 0,85^A$
HA4	$4,75 \pm 0,02^{DE}$	$160,0 \pm 1,40^B$	$0,20 \pm 0,01^B$	$-5,09 \pm 1,54^A$
HA5	$4,76 \pm 0,02^{CDE}$	$145,5 \pm 0,60^D$	$0,19 \pm 0,02^{BC}$	$-4,73 \pm 0,22^A$
HA6	$4,88 \pm 0,02^A$	$118,9 \pm 1,00^F$	$0,19 \pm 0,00^{BC}$	$-4,17 \pm 0,14^A$
HA7	$4,76 \pm 0,01^{DE}$	$160,7 \pm 1,90^B$	$0,20 \pm 0,01^{BC}$	$-4,96 \pm 0,31^A$
HA8	$4,80 \pm 0,02^{BCD}$	$152,3 \pm 0,30^C$	$0,17 \pm 0,01^C$	$-4,20 \pm 0,31^A$
HA9	$4,83 \pm 0,02^{AB}$	$121,3 \pm 0,90^F$	$0,20 \pm 0,01^B$	$-4,02 \pm 0,14^A$

Veriler ortalama ($n = 3$) $\pm$ standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C,...) istatistiksel farklılıkları belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 23. Nanoemülsiyonların damlacık boyutu sayısı grafiği

3.1.2. Viskozite, Bulanıklık, İletkenlik, Renk ve Beyazlık İndeksi Analiz Bulguları

Tüm nanoemülsiyon formülasyonlarına ait viskozite, bulanıklık, iletkenlik, renk (L^* , a^* ve b^*) ve beyazlık indeksi (WI) değerleri Tablo 4’de verilmiştir.

Viskozite, nanoemülsiyonların fiziksel kararlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Su fazını aloe vera jeli ve lipit fazını kenevir tohumu yağının oluşturduğu HA1, HA2, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA8 ve HA9 su içinde yağ nanoemülsiyonlarının viskozite değeri 2,00-2,30 mPa.s aralığında belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan emülgatörün ve yağ oranının artmasıyla grupların viskozite değerlerinde de artışa neden olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Emülsiyonların bulanıklığı NTU cinsinden hesaplanmış ve buna göre en yüksek bulanıklık 99,90 NTU ile HA4 grubunda, en düşük bulanıklık ise 99,13 NTU ile HA6 grubunda tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yağ fazı ve emülgatör oranının yüksek olduğu HA3, HA6 ve HA7 gruplarının bulanıklığı diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Nanoemülsiyon çalışmalarında iletkenliğin belirlenmesi emülsiyon tipi hakkında bilgi verir. Yüksek iletkenlik değerleri O/W emülsiyonlarını, düşük değerler ise W/O emülsiyonlarını gösterir. Buna göre çalışmamızda elde edilen yüksek iletkenlik değerleri (146,17 ila 152,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$) O/W nanoemülsiyonlarını temsil etmektedir ($p>0,05$).

Mevcut çalışmada, HA2 ve HA3'ün L* değerleri diğer nanoemülsiyonlardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). En düşük ve en yüksek L* değerleri sırasıyla HA3 (73,94) ve HA7'de (88,20) belirlenmiştir ($p<0,05$). Elde edilen a* ve b* renk ölçümlerinin çıplak gözle gözlenen renkle uyumlu olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, hazırlanan nanoemülsiyonların a* parametresi yeşilliği temsil eden negatif değerleri, b* parametresi ise sarılığı temsil eden pozitif değerleri ortaya koymuştur. Nanoemülsiyon gruplarının değeri -2,22 ile -1,48 arasında, b* değeri ise 13,62 ile 17,48 arasında belirlenmiştir. Gruplar arasında a* değeri açısından istatistiksel bir fark ($p>0,05$) gözlenmezken, b* değerlerinde önemli fark ($p<0,05$) gözlenmiştir. Beyazlık indeksi (WI), gruplara göre istatistiksel olarak farklılık göstermiş ($p<0,05$) ve 68,7 (HA3) ile 81,9 (HA7) değerleri arasında tespit edilmiştir.

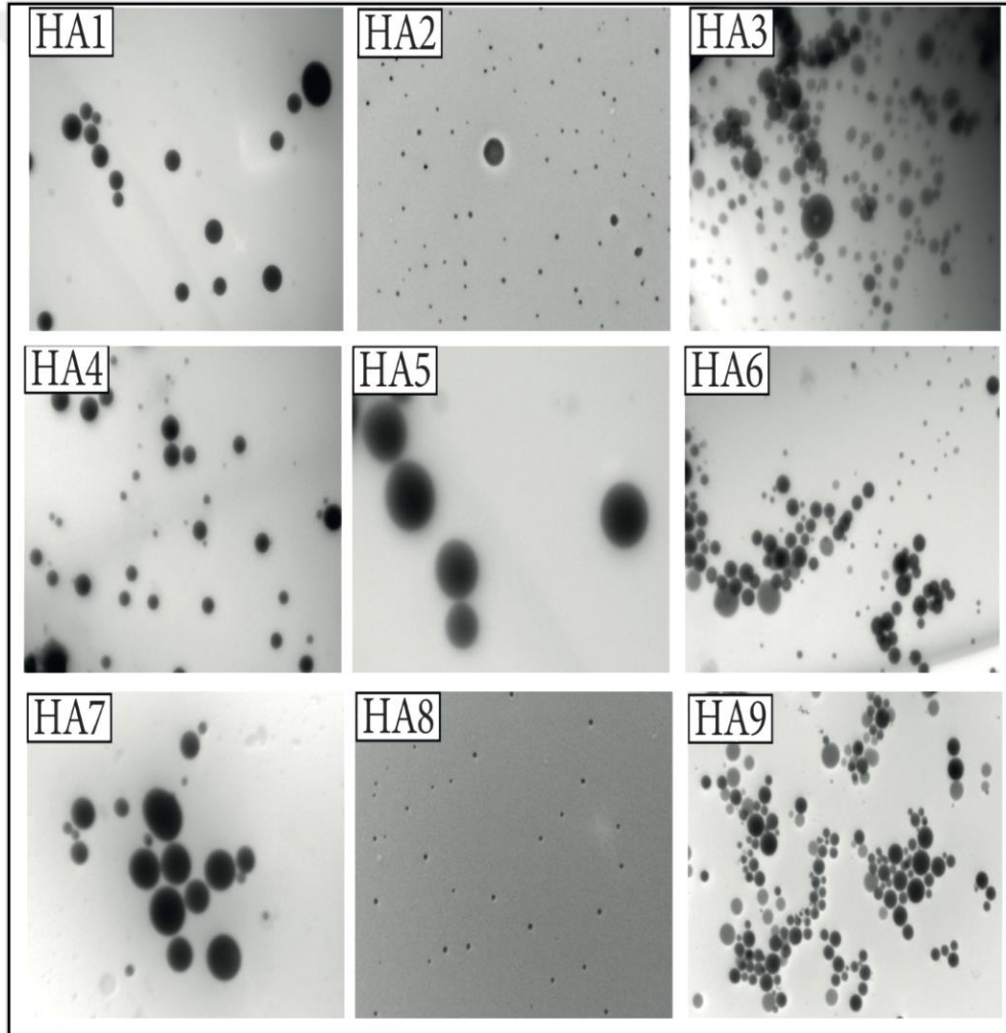
Tablo 4. Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait viskozite, bulanıklık, iletkenlik, renk ve beyazlık indeksi değerleri

Formülasyonlar	Viskozite (mPa.s)	Bulanıklık (NTU)	İletkenlik (μ S/cm)	Renk		
				L* (Aydınlık)	a* (Kırmızı/Yeşil)	b* (Mavi/Sarı)
HA1	2,00 $\pm$ 0,00 ^C	99,90 $\pm$ 0,13 ^A	148,07 $\pm$ 2,41 ^{AB}	84,22 $\pm$ 2,21 ^{AB}	-1,78 $\pm$ 0,73 ^A	17,48 $\pm$ 1,59 ^A
HA2	2,00 $\pm$ 0,00 ^C	99,49 $\pm$ 0,01 ^A	146,17 $\pm$ 1,00 ^B	75,06 $\pm$ 1,22 ^C	-2,22 $\pm$ 0,70 ^A	14,88 $\pm$ 1,25 ^{AB}
HA3	2,10 $\pm$ 0,00 ^B	99,25 $\pm$ 0,21 ^A	152,53 $\pm$ 1,69 ^A	73,94 $\pm$ 1,62 ^C	-1,88 $\pm$ 0,54 ^A	17,22 $\pm$ 1,43 ^A
HA4	2,00 $\pm$ 0,00 ^C	99,92 $\pm$ 0,01 ^A	148,73 $\pm$ 2,03 ^{AB}	87,92 $\pm$ 2,33 ^A	-2,08 $\pm$ 0,40 ^A	15,40 $\pm$ 0,94 ^{AB}
HA5	2,10 $\pm$ 0,00 ^B	99,66 $\pm$ 0,07 ^A	147,87 $\pm$ 1,55 ^{AB}	85,02 $\pm$ 2,78 ^{AB}	-1,64 $\pm$ 0,32 ^A	14,08 $\pm$ 1,34 ^B
HA6	2,30 $\pm$ 0,00 ^A	99,13 $\pm$ 0,01 ^A	148,87 $\pm$ 1,89 ^{AB}	81,96 $\pm$ 1,68 ^B	-1,48 $\pm$ 0,32 ^A	13,68 $\pm$ 1,70 ^B
HA7	2,00 $\pm$ 0,00 ^C	99,78 $\pm$ 0,23 ^A	149,00 $\pm$ 2,19 ^{AB}	88,20 $\pm$ 1,10 ^A	-1,92 $\pm$ 0,40 ^A	13,62 $\pm$ 1,90 ^B
HA8	2,10 $\pm$ 0,00 ^B	99,45 $\pm$ 0,49 ^A	149,00 $\pm$ 2,19 ^{AB}	85,08 $\pm$ 1,91 ^{AB}	-1,92 $\pm$ 0,40 ^A	15,62 $\pm$ 1,03 ^{AB}
HA9	2,30 $\pm$ 0,00 ^A	99,35 $\pm$ 0,07 ^A	151,07 $\pm$ 2,21 ^{AB}	84,94 $\pm$ 2,52 ^{AB}	-1,98 $\pm$ 0,54 ^A	17,38 $\pm$ 1,11 ^A

Veriler ortalama (n= 3) $\pm$ standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) istatistiksel farklılıkları belirtir (p<0.05).

3.1.3. Transmisyon Elektronik Mikroskobu (TEM) ile Elde Edilen Morfolojik Karakterizasyon Analiz Bulguları

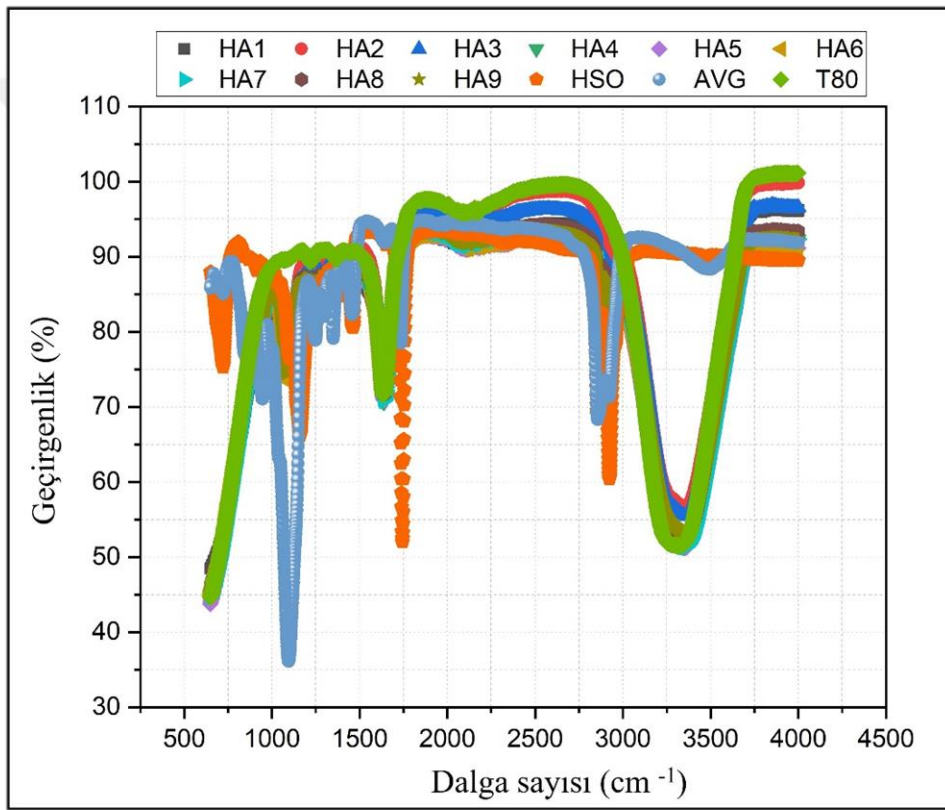
Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüleme tekniği yardımıyla nanoemülsiyonların morfolojisi, damlacık boyut dağılımı belirlenmiştir. Şekil 24'de görüldüğü gibi damlacıkların küresel şekilli ve 200 nm'den küçük olduğu bulunmuştur. Bu, damlacık boyut analizi ile belirlenen damlacık boyutu ölçümlerinin doğruluğunu göstermektedir. Damlacıklar HA2 ve HA8 gruplarında homojen olarak dağılmışken, diğer gruplarda (HA1, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA9) kümeleşmeye uygun görüntüler gözlenmiştir.



Şekil 24. Nanoemülsiyonların TEM görüntüleri

3.1.4. Fourier Dönüştümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analiz Bulguları

HSO spektrumu, C-H bağlarından (yaklaşık 3250 cm^{-1}), C=O'dan (1750 cm^{-1} 'de), AVG spektrumundan C=C bağlarından (yaklaşık 1000 cm^{-1}), C-H'dan (yaklaşık 2750 cm^{-1}) ve C-H'dan (yaklaşık 1750 cm^{-1}) ve N-H'dan (3250 cm^{-1}) gelen T80'den gelen net sinyaller tespit edilmiştir (Şekil 25). Benzer şekilde, HSO, AVG ve T80'in fonksiyonel gruplarının incelenen nanoemülsiyonlarda korunduğu, ancak bazı gelen sinyallerin (maksimum tepe noktaları) nispeten düşük olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 25. Nanoemülsiyon formülasyonları, HSO, AVG ve T80'in FT-IR grafiği

3.1.5. Nanoemülsiyon Kaplama İşlemi Uygulanmış Alabalık Filetolarına Ait Besin Bileşimi Analiz Bulguları

Taze alabalık filetosu başlangıç analizi ile birlikte dondurulmuş depolama süresince $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulan kontrol grubu (20C), $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulan kontrol grubu (40C), aloe vera jel-kenevir tohumu yağı ilaveli $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulan grup (20N) ve aloe vera jel-kenevir tohumu yağı ilaveli $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulan (40N) balık fileto gruplarının yüzde protein, yağ, nem ve kül değerleri çalışmada incelenmiştir.

Taze alabalık filetosunun yüzde protein, yağ, nem ve kül değerleri sırasıyla %18,88, %4,28, %76,91 ve %1,72 bulunmuştur. Deney gruplarına ait yüzde protein, yağ, nem ve kül değerleri Tablo 5’de verilmiştir. Aylar arası istatistiksel olarak farklılık gözlenmezken ($p>0,05$) gruplar arası önemli farklılık ($p<0,05$) tespit edilmiştir.



Tablo 5. Depolama süresince çalışma gruplarında besin bileşimi analizi değerlerinde meydana gelen değişimler

% Ham Protein Gruplar					% Ham Yağ Gruplar				
Aylar	20C	20N	40C	40N	20C	20N	40C	40N	
Taze	18,88±2,41A ^a	18,88±2,41A ^a	18,88±2,41A ^a	18,88±2,41A ^a	4,28±0,17A ^a	4,28±0,17A ^a	4,28±0,17A ^a	4,28±0,17A ^a	
1	18,44±1,33A ^a	19,15±0,97A ^a	18,88±0,72A ^a	19,21±1,54A ^a	4,30±0,42A ^a	4,36±0,58A ^a	4,47±0,61A ^a	4,37±0,87A ^a	
3	18,16±1,06A ^a	19,31±0,72A ^a	18,31±1,09A ^a	19,17±1,39A ^a	4,34±0,45A ^a	4,31±0,22A ^a	4,25±0,55A ^a	4,27±0,46A ^a	
6	17,19±0,78A ^a	18,82±1,48A ^a	17,78±1,64A ^a	18,72±1,22A ^a	4,20±0,62A ^a	4,38±1,07A ^a	4,26±0,31A ^a	4,46±0,39A ^a	

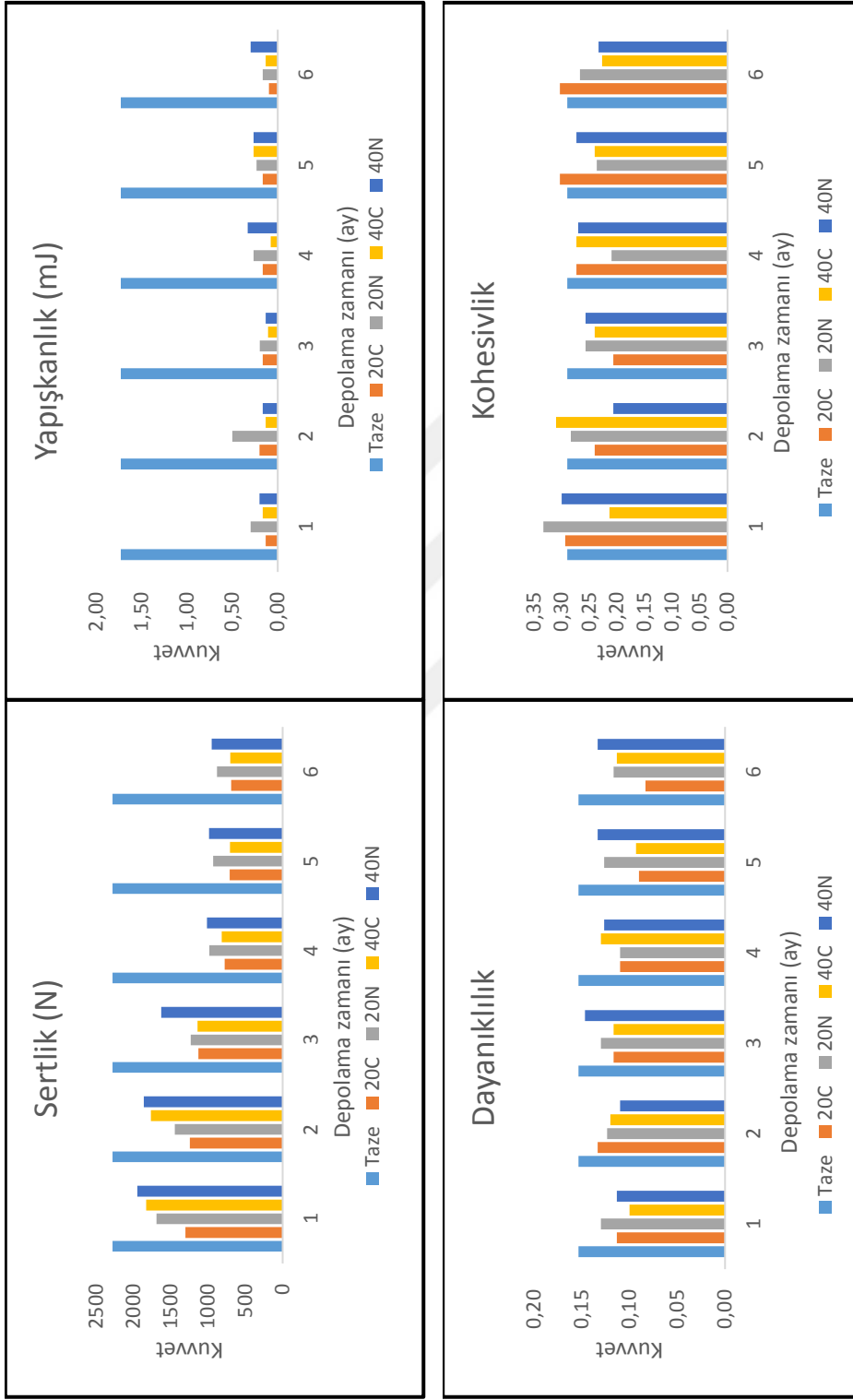
% Kül Gruplar					% Nem Gruplar				
Aylar	20C	20N	40C	40N	20C	20N	40C	40N	
Taze	1,72±0,06A ^a	1,72±0,06A ^a	1,72±0,06A ^a	1,72±0,06A ^a	76,91±0,72A ^a	76,91±0,72A ^a	76,91±0,72A ^a	76,91±0,72A ^a	
1	1,78±0,10A ^a	1,32±0,03B ^c	1,44±0,06BC ^b	1,51±0,07B ^b	74,37±1,32AB ^a	74,33±0,91A ^a	76,44±0,80AB ^a	75,43±0,98A ^a	
3	1,32±0,00C ^a	1,23±0,07C ^a	1,27±0,03C ^a	1,30±0,04C ^a	76,66±0,75A ^b	74,72±0,97A ^b	76,58±0,71AB ^b	72,67±0,57B ^a	
6	1,52±0,02B ^a	1,62±0,08A ^a	1,55±0,01B ^a	1,63±0,06AB ^a	73,27±0,20B ^c	76,43±1,90A ^a	74,97±0,80B ^{ab}	74,62±0,21AB ^b	

20C: -20 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama (n= 3) ± standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir (p<0,05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir (p<0,05).

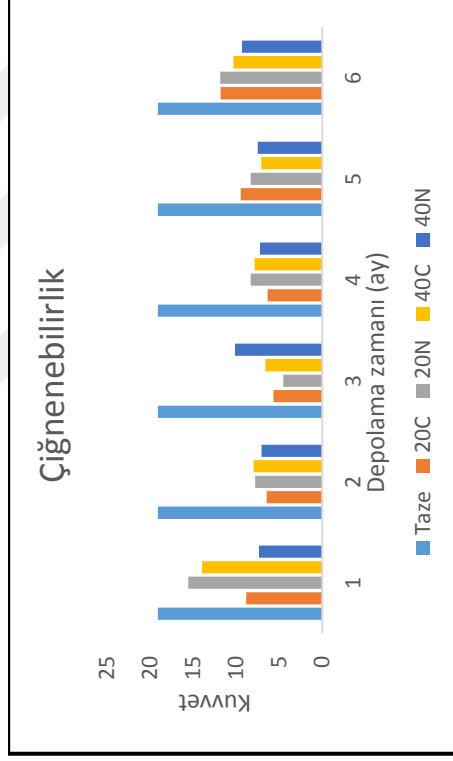
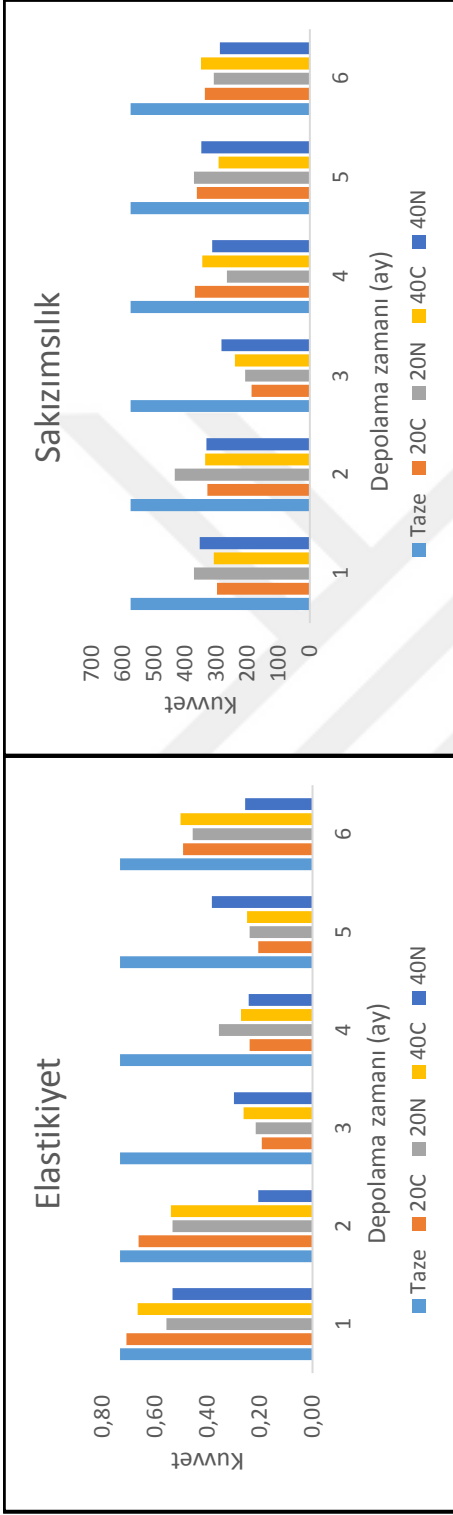
3.2.2. Nanoemülsiyon Kaplama İşlemi Uygulanmış Alabalık Filetolarına Ait Fizikokimyasal Analiz Bulguları

3.2.2.1. Tesktür Analiz (TPA) Bulguları

Su ürünlerinde elastikiyet, sertlik, yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik gibi dokuya özgü özellikler balık ürünlerinin kalitesinin göstergesidir (Zhu vd., 2022). Bu kapsamda dondurma hızı ve nanoemülsiyon ile kaplamanın fileto kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla filetoların sertlik (N), yapışkanlık (mJ), dayanıklılık, kohesivlik, elastikiyet, sakızımsılık, çiğnenebilirliği kapsayan tekstrüel özellikleri araştırılmıştır. Bu özelliklere ait sonuçlar tüm gruplar için Şekil 26’da verilmiştir.



Şekil 26. Gruplar arasında depolama süresince tekstür profil analizi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği
 20C: -20 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup,
 40N: -40 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.



Şekil 27. Gruplar arasında depolama süresince tekstür profil analizi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği (Devam)
 20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

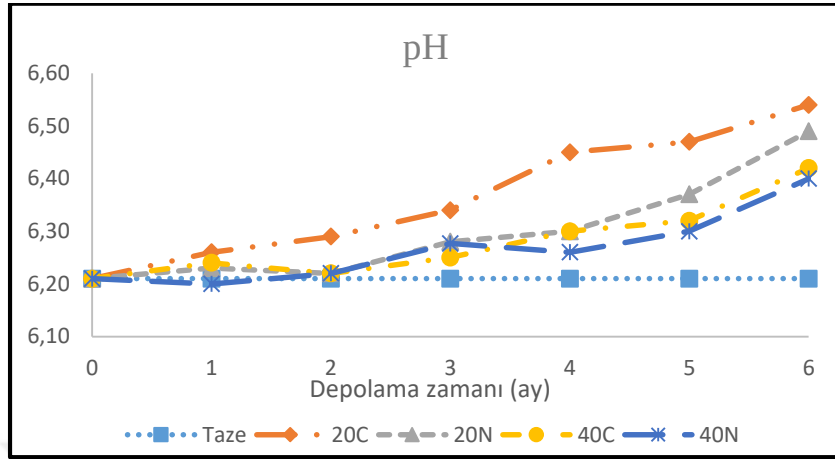
3.2.2.2. pH Analiz Bulguları

Depolama süresi boyunca grupların pH değerinde meydana gelen istatistiksel farklar Tablo 6’da, Şekil 28’ de ise veriler grafiksel olarak gösterilmiştir. Başlangıçta taze alabalığın pH değeri 6,21 olarak bulunmuştur. -20 °C ‘de dondurulan kontrol grubu (20C), -40 °C ‘de dondurulan kontrol grubu (40C), aloe vera jel-kenevir tohumu yağı ilaveli -20’de dondurulan grup (20N) ve aloe vera jel-kenevir tohumu yağı ilaveli -40’de dondurulan (40N) gruplarına ait pH değeri ise depolamanın birinci ayında sırasıyla 6,26, 6,23, 6,24 ve 6,20 olarak bulunmuştur. Tüm grupların pH değeri taze alabalığın pH değerine kıyasla artış gösterirken depolamanın son ayında pH değeri maximum 6,54 (20C) minimum 6,40 (40N) olarak bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 6. Depolama süresince çalışma gruplarında pH değerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	pH Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	6,21±0,01E ^a	6,21±0,01D ^a	6,21±0,01C ^a	6,21±0,01C ^a
1	6,26±0,02DE ^a	6,23±0,01CD ^{ab}	6,24±0,01C ^{ab}	6,20±0,02C ^b
2	6,29±0,02CD ^a	6,22±0,01CD ^{ab}	6,21±0,02C ^b	6,22±0,03C ^{ab}
3	6,34±0,01C ^b	6,28±0,02CD ^b	6,45±0,02A ^a	6,30±0,01B ^b
4	6,45±0,01B ^a	6,30±0,02BC ^b	6,30±0,02B ^b	6,26±0,01BC ^b
5	6,47±0,03B ^a	6,37±0,01B ^b	6,32±0,01B ^{bc}	6,30±0,02B ^c
6	6,54±0,01A ^a	6,49±0,02A ^{ab}	6,42±0,01A ^b	6,40±0,01A ^b

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama ($n= 3$) $\pm$ standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p<0.05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p<0.05$).



Şekil 28. Gruplar arasında depolama süresince pH değerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

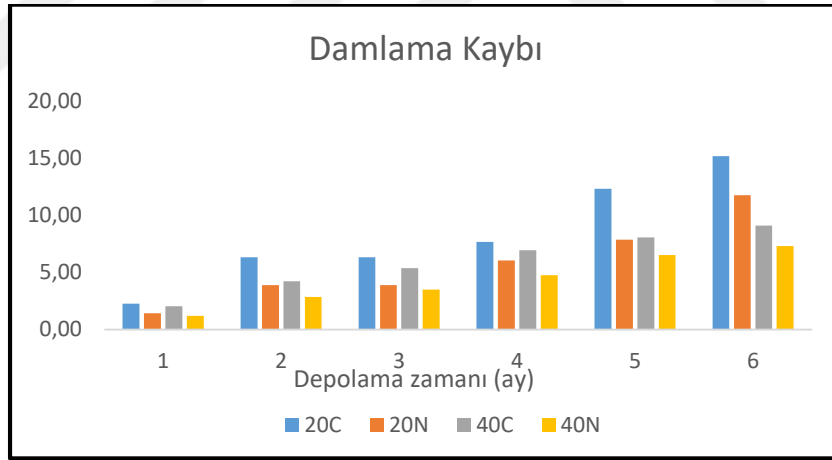
3.2.2.3. Damlama Kaybı Analiz Bulguları

Dondurulmuş filetolarda damlama kaybını ortaya koymak için 1., 2., 3., 4., 5., ve 6., aylarda her gruptan alınan filetolar tartılarak, plastik bir torbaya konulmuştur. Askıya alınmış ve 24 saat boyunca buzdolabında 4°C’de saklanmıştır. Akabinde filetolar emici kağıt ile silinip ve tekrar tartılmıştır. Bu kapsamda damlama kaybında meydana gelen değişimler Tablo 7’de meydana gelen istatistiksel değişimler ise Şekil 28’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar neticesinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 7. Depolama süresince çalışma gruplarında damlama kaybı değerlerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Damlama Kaybı Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	*	*	*	*
1	2,25±0,13D ^a	1,41±0,08E ^b	2,03±0,09F ^a	1,20±0,38D ^b
2	6,33±1,00C ^a	3,87±0,08D ^{bc}	4,21±0,06E ^b	2,83±0,16C ^c
3	6,33±1,00C ^a	3,88±0,08D ^b	5,38±0,33D ^a	3,50±0,08C ^b
4	7,68±0,05C ^a	6,04±0,28C ^b	6,94±0,55C ^{ab}	4,75±0,35B ^c
5	12,30±1,17B ^a	7,86±0,25B ^b	8,06±0,27B ^b	6,51±0,46A ^b
6	15,17±0,26A ^a	11,75±1,46A ^b	9,09±0,46A ^c	7,31±0,13A ^c

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama (n= 3) ± standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir (p<0.05).



Şekil 29. Gruplar arasında depolama süresince damlama kaybında meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

3.2.2.4. Su Aktivitesi Analiz Bulguları

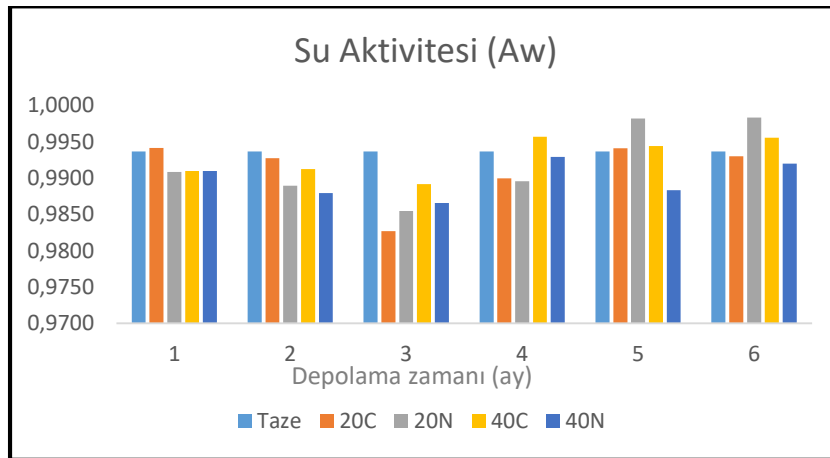
Su aktivitesi, gıdalar içerisindeki suyun buhar basıncının aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı olarak bilinmektedir. Başlangıçta taze alabalık filetosunda 0,9936 olarak bulunan su aktivitesi değeri depolamanın 6. ayında 20C grubunda 0,9930, 20N grubunda 0,9983, 40C grubunda 0,9955 ve 40N grubunda 0,9919 olarak bulunmuştur

ve depolama süresince tüm gruplara su aktivitesi değerinde meydana gelen istatistiksel değişimler Tablo 8’de, değişimlerin grafiği Şekil 29’da verilmiştir. Elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde tespit edilen farklılıklar, istatistiki bakımdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 8. Depolama süresince çalışma gruplarında su aktivitesi değerlerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Su Aktivitesi Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	0,9936±0,01A ^a	0,9936±0,01B ^a	0,9936±0,02AB ^a	0,9936±0,01A ^a
1	0,9941±0,01A ^a	0,9908±0,02C ^a	0,9909±0,01AB ^a	0,9909±0,01AB ^a
2	0,9927±0,01A ^a	0,9889±0,02D ^{bc}	0,9912±0,02AB ^{ab}	0,9879±0,01BC ^c
3	0,9826±0,02B ^c	0,9854±0,02E ^b	0,9891±0,02B ^a	0,9865±0,01C ^b
4	0,9899±0,01AB ^c	0,9895±0,01CD ^c	0,9956±0,02A ^a	0,9929±0,01A ^b
5	0,9940±0,02A ^b	0,9982±0,03A ^a	0,9944±0,02AB ^b	0,9883±0,01BC ^c
6	0,9930±0,03A ^b	0,9983±0,01A ^a	0,9955±0,03A ^{ab}	0,9919±0,02AB ^b

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. *Analiz yapılmadı. Veriler ortalama ($n=3$) ± standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p<0.05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p<0.05$).



Şekil 30. Gruplar arasında depolama süresince su aktivitesi değerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

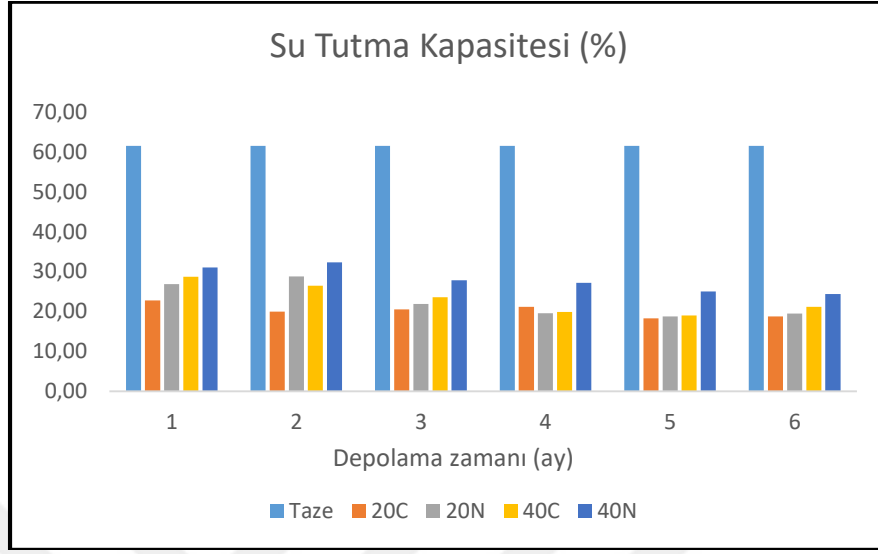
3.2.2.5. Su Tutma Kapasitesi (%) Analiz Bulguları

Dondurulmuş depolama süresince balık kasındaki miyofibriler proteinlerin bozulması sonucu proteinlerin agregasyonuna dolayısıyla proteinlerin fonksiyonel özelliklerinden biri olan su tutma kapasitesinde değişiklikler meydana getirdiği bilinmektedir. Çalışmamızda taze alabalık filetosunun %61,52 olan su tutma kapasitesi değeri depolamanın 6. ayında 20C grubunda %18,79, 20N grubundan %19,47, 40C grubunda %21,16 ve 40N grubunda %24,36'a kadar düşük göstermiştir. Tüm veriler ele alındığında hem depolama süresince hemde gruplar arası istatistiksel olarak farkların anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 9. Depolama süresince çalışma gruplarında su tutma kapasitesi (%) değerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Su Tutma Kapasitesi (%)			
	Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	61,52±1,30A ^a	61,52±1,30A ^a	61,52±1,30A ^a	61,52±1,30A ^a
1	22,80±0,36B ^b	26,84±4,75BC ^{ab}	28,73±1,33B ^{ab}	31,02±1,55BC ^a
2	19,97±0,94BC ^c	28,84±1,22B ^b	26,46±0,06BC ^b	32,29±2,09B ^a
3	20,57±1,74BC ^b	21,90±0,42CD ^b	23,60±1,52CD ^b	27,88±1,29CD ^a
4	21,19±2,65BC ^b	19,61±0,83D ^b	19,91±1,34E ^b	27,24±1,09CD ^a
5	18,31±1,88C ^b	18,76±1,45D ^b	19,04±1,25E ^b	25,07±2,25D ^a
6	18,79±0,52BC ^c	19,47±1,13D ^{bc}	21,16±0,65DE ^b	24,36±0,69D ^a

20C: -20 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C'de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C'de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama ($n=3$) ± standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p<0.05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p<0.05$).

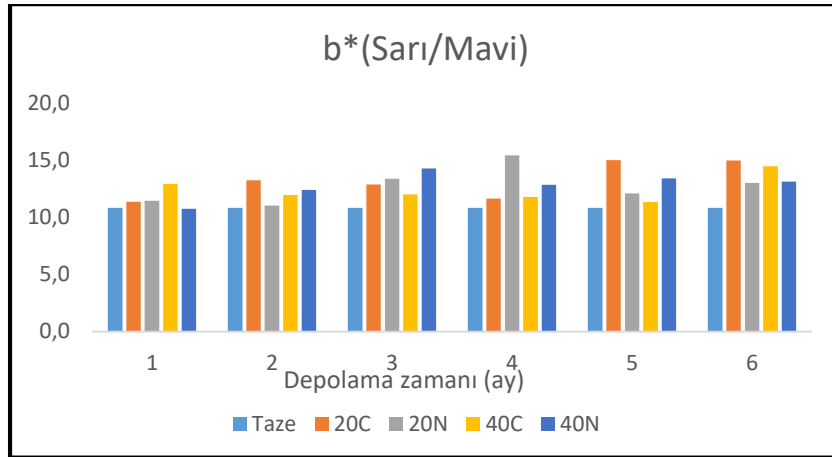
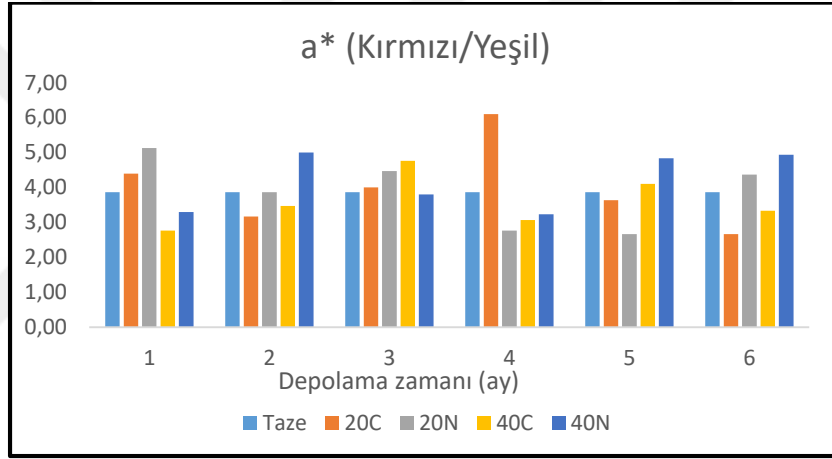
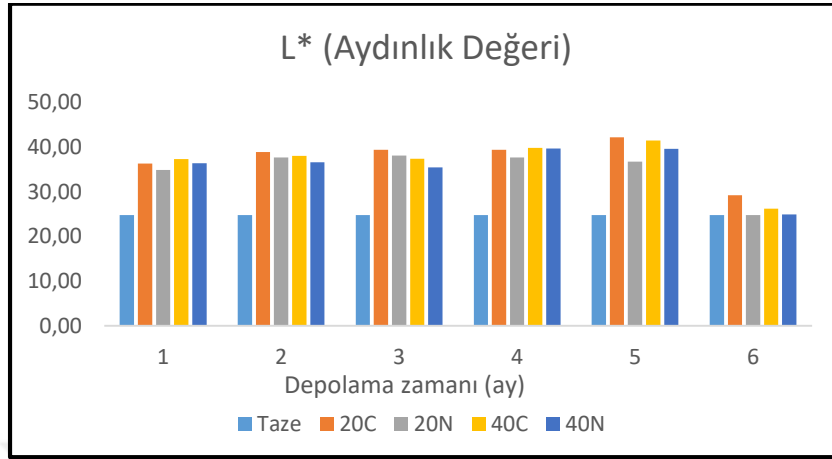


Şekil 31. Gruplar arasında depolama süresince su tutma kapasitesine ait değerlerde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

3.2.2.6. Renk Analiz Bulguları

Renk ölçümlerinde L* değeri beyazlık veya parlaklık koyuluk değerini a* değeri kırmızı ve yeşilliği ifade etmekle birlikte (+a) kırmızı, (-a) değeri yeşilliği, b* sarılık ve maviliği temsil etmektedir. Çalışma süresince tüm gruplarda L*, a* ve b*’ye ait değerlerde depolamanın ilk ayına nazaran farklılıklar gözlenmiştir ve bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 32. Gruplar arasında depolama süresince renk ölçümüne ait L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

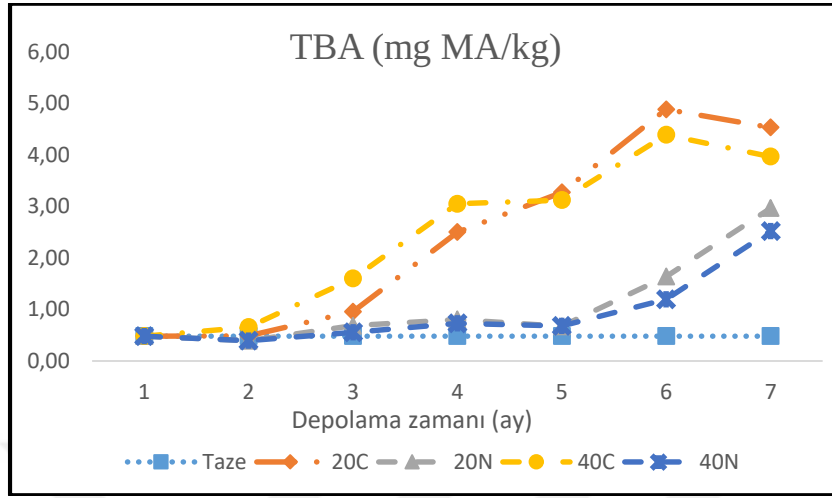
3.2.2.7. Tiyoobarbitürük Asit (mg MA/kg) Analiz Bulguları

Aloe vera jel ve kenevir tohumu yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonun ve dondurma hızının gökkuşağı alabalığı filetosu üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada tüm gruplara ait TBA değerleri Tablo 10’da verilmiştir. Depolamanın başlangıcında taze alabalık filetosunda (Taze) $0,48 \pm 0,03$ mg MA/kg olan TBA değeri diğer depolama aylarında özellikle 2. aydan sonra kademeli olarak artış göstermiştir ($p < 0,05$). Depolamanın son ayında bariz bir şekilde kontrol grubunda daha fazla artış tespit edilirken nanoemülsiyon ile muamele edilen gruplarda (20N ve 40N) daha az artış görülmüştür. Son ayda maximum TBA değerleri 20C’de $4,54 \pm 0,22$ mg MA/kg, 20N’de $2,97 \pm 0,07$ mg MA/kg, 40C’de $3,97 \pm 0,08$ mg MA/kg ve 40N’de $2,52 \pm 0,11$ mg MA/kg seviyelerine ulaşmıştır.

Tablo 10. Depolama süresince çalışma gruplarında TBA (mg MA/kg) değerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Tiyoobarbitürük Asit (mg MA/kg) Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	$0,48 \pm 0,03D^a$	$0,48 \pm 0,03DE^a$	$0,48 \pm 0,03E^a$	$0,48 \pm 0,03DE^a$
1	$0,48 \pm 0,04D^{ab}$	$0,40 \pm 0,11E^b$	$0,66 \pm 0,03E^a$	$0,40 \pm 0,05E^b$
2	$0,96 \pm 0,06D^b$	$0,69 \pm 0,06CD^c$	$1,60 \pm 0,19D^a$	$0,56 \pm 0,07CDE^c$
3	$2,50 \pm 0,21C^b$	$0,81 \pm 0,09C^c$	$3,06 \pm 0,07C^a$	$0,73 \pm 0,08C^c$
4	$3,27 \pm 0,61B^a$	$0,67 \pm 0,10CD^b$	$3,13 \pm 0,01C^a$	$0,68 \pm 0,10CD^b$
5	$4,89 \pm 0,06A^a$	$1,64 \pm 0,12B^c$	$4,39 \pm 0,03A^b$	$1,20 \pm 0,01B^c$
6	$4,54 \pm 0,22A^a$	$2,97 \pm 0,07A^c$	$3,97 \pm 0,08B^b$	$2,52 \pm 0,11A^d$

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama ($n = 3$) $\pm$ standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p < 0,05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 33. Gruplar arasında depolama süresince TBA değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

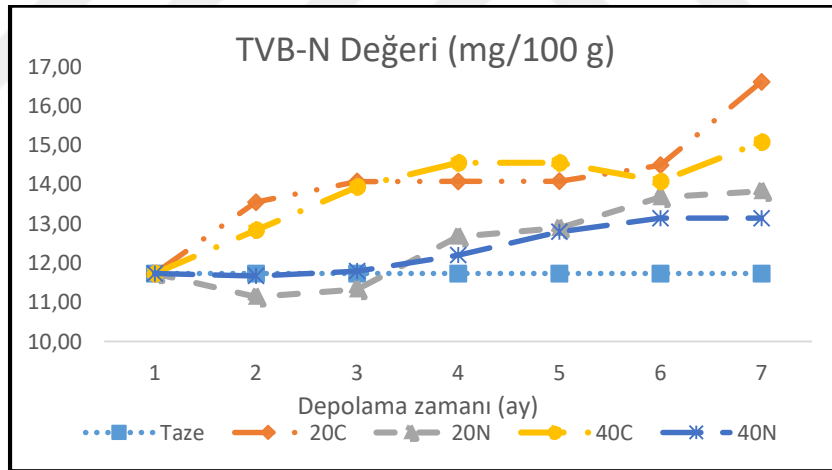
3.2.2.8. Toplam Uçucu Bazik Asit (TVB-N) Analiz Bulguları

TVB-N değeri su ürünlerinde bozulma indikatörü olarak değerlendirilmektedir. Taze balıkta 5 ile 25 mg/100 g aralığındadır. Tüketilebilir bir balıkta kabul edilen TVB-N üst limiti 35 mg/100 g olarak bilinmektedir. Taze filetoya ait TVB-N değeri $11,73 \pm 0,81$ mg/100 g olarak bulunmuştur. Tüm gruplarda depolama süresince kademeli olarak artış göstermiştir ($p < 0,05$). Son ayda 20C, 20N, 40C ve 40N’de sırasıyla $16,61 \pm 1,09$, $13,83 \pm 1,02$, $15,08 \pm 1,00$ ve $13,14 \pm 0,81$ olarak bulunmuştur. Gruplara ait TVB-N değerleri tüketilebilirlik sınırları içerisinde yer almaktadır. Nanomülsiyonlu gruplarda TVB-N değişimleri diğer gruplara nazaran daha sınırlı seviyede olduğu belirlenmiştir.

Tablo 11. Depolama süresince çalışma gruplarında TVB-N (mg/100 g) değerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	TVB-N Değeri (mg/100 g)			
	Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	11,73±0,81C ^a	11,73±0,81B ^a	11,73±0,81C ^a	11,73±0,81A ^a
1	13,55±0,81B ^a	11,14±0,05B ^c	12,83±0,78BC ^{ab}	11,67±0,00A ^{bc}
2	14,07±0,06B ^a	11,33±0,24B ^b	13,93±0,04AB ^a	11,79±0,90A ^b
3	14,08±0,00B ^a	12,67±0,00AB ^{ab}	14,55±0,81AB ^a	12,20±1,62A ^b
4	14,08±0,00B ^{ab}	12,89±0,47AB ^{bc}	14,55±0,81AB ^a	12,79±0,25A ^c
5	14,49±0,04B ^a	13,67±1,00A ^a	14,08±0,00AB ^a	13,14±0,81A ^a
6	16,61±1,09A ^a	13,83±1,02A ^b	15,08±1,00A ^{ab}	13,14±0,81A ^b

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Veriler ortalama (n= 3) ± standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir (p<0.05).



Şekil 34. Gruplar arasında depolama süresince TVB-N değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

3.2.2.9. Miyofibril Parçalanma İndeksi (MFI) Analiz Bulguları

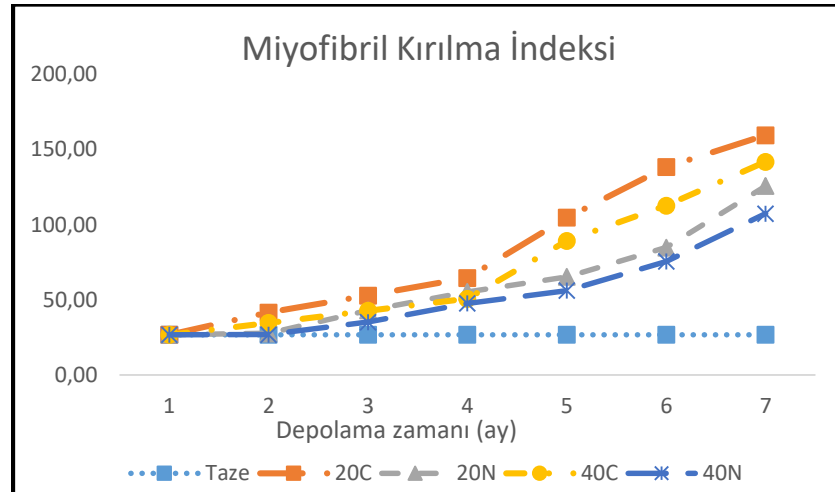
Miyofibril parçalanma indeksi, protein denatürasyonunu ve etin yumuşamasının bir indeksi olan MP bozulma endeksini temsil etmektedir. Çalışmada kas hücresindeki miyofibrillerin ve iskelet proteinlerinin bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla tüm deney gruplarında miyofibril kırılma indeksi değeri araştırılmıştır. Bu kapsamda taze alabalıkta

bu değer 26,81 iken depolama süresi boyunca artış göstermiştir. Bu artış son ay değerlerine bakıldığında yavaş ve hızlı dondurulan kontrol (20C ve 40C) gruplarında yüksek, hızlı ve yavaş dondurulan nanoemülsiyonlu (20N ve 40N) gruplarda düşük olduğu tespit edilmiştir. Özellikle 3. ve 4. aylarda kontrol gruplarındaki net artış, nanoemülsiyonlu gruplarda 4. ve 5. ayda gözlenmiştir. Bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 12. Depolama süresince çalışma gruplarında miyofibril parçalanma indeksi değerlerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Miyofibril Parçalanma İndeksi			
	Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	26,81±0,51G ^a	26,81±0,51F ^a	26,81±0,51G ^a	26,81±0,51F ^a
1	41,63±2,06F ^a	27,80±2,31F ^c	34,73±0,50F ^b	26,91±0,86F ^c
2	52,90±0,78E ^a	43,03±2,46E ^b	42,83±2,42E ^b	35,23±2,71E ^c
3	64,53±1,53D ^a	55,37±2,12D ^b	50,73±0,64D ^c	47,63±0,85D ^c
4	104,70±0,46C ^a	65,27±2,02C ^c	89,20±1,78C ^b	56,17±0,95C ^d
5	138,20±1,57B ^a	84,73±2,42B ^c	112,63±2,28B ^b	75,50±1,54B ^d
6	159,37±1,36A ^a	125,70±1,57A ^c	141,80±1,05A ^b	107,33±2,58A ^d

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p<0.05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p<0.05$).



Şekil 35. Gruplar arasında depolama süresince miyofibril parçalanma indeksi değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup

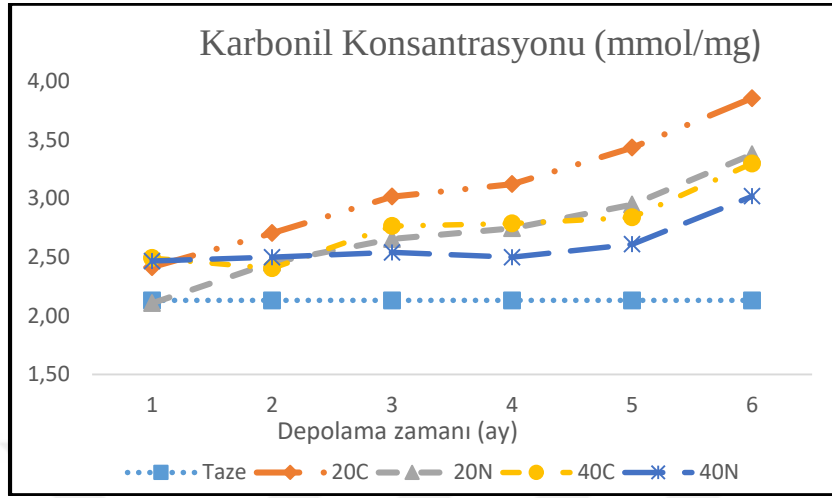
3.2.2.10. Karbonil Konsantrasyonu Analiz Bulguları

Karbonil bileşikleri protein oksidasyonu süresince oluştuğu bilinmektedir. Bazı amino asitlerin (lisin, histidin, prolin ve arginin gibi), yan zincirleri karbonilasyon işleminde önemli rol oynamaktadır. Bu kapsamda çalışmamızda protein oksidasyonunun belirlenebilmesi için karbonil konsantrasyonu tayini yapılmıştır. Çalışmamızda karbonil konsantrasyonu depolama sürecine bağlı olarak artış göstermiştir. Fakat bu artış depolamanın son ayında nanoemülsiyon ile muamele edilen gruplarda saf su ile muamele edilen gruplara nazaran daha düşük seyretmiştir. Karbonil konsantrasyonun takip edildiği çalışmada kontrol gruplarında bu değer 2. ve 3. aylarda, nanomülsiyonlu gruplarda ise 5. ve 6. aylarda artan değerler olarak tespit edilmiştir. Kontrol grupları ve nanoemülsiyon grupları arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 13. Depolama süresince çalışma gruplarında karbonil konsantrasyon değerinde meydana gelen değişimler

AYLAR	Karbonil Konsantrasyonu (mmol/mg)			
	Gruplar			
	20C	20N	40C	40N
Taze	2,13±0,06F ^a	2,13±0,06D ^a	2,13±0,06D ^a	2,13±0,06C ^a
1	2,41±0,01E ^{ab}	2,11±0,24D ^b	2,49±0,01C ^a	2,47±0,06BC ^a
2	2,71±0,08D ^a	2,45±0,06CD ^b	2,41±0,09C ^b	2,50±0,10BC ^{ab}
3	3,02±0,06C ^a	2,66±0,09BC ^{ab}	2,77±0,03B ^{ab}	2,54±0,31BC ^b
4	3,12±0,01C ^a	2,75±0,01BC ^b	2,79±0,06B ^b	2,50±0,05BC ^c
5	3,43±0,02B ^a	2,95±0,02B ^b	2,84±0,08B ^b	2,61±0,15AB ^c
6	3,86±0,19A ^a	3,38±0,27A ^b	3,30±0,11A ^b	3,02±0,15A ^b

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir ($p<0,05$). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir ($p<0,05$).



Şekil 36. Gruplar arasında depolama süresince karbonil konsantrasyonu değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup

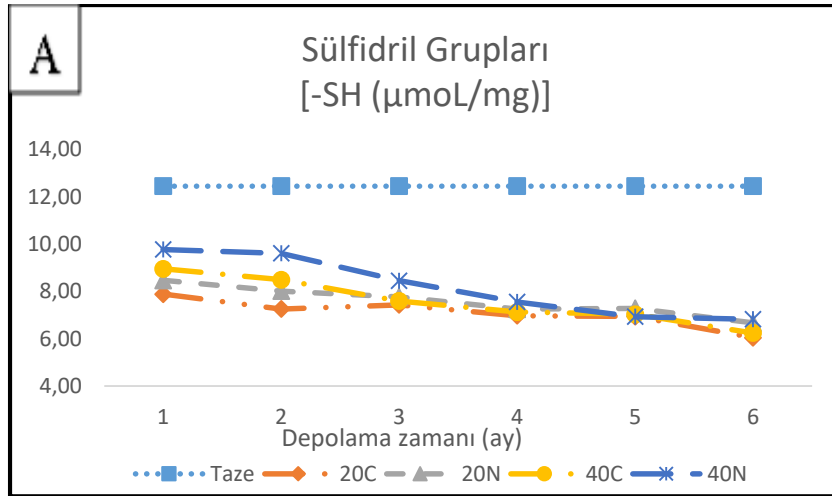
3.2.2.11. Sülfhidril Grupları ve Disülfid Bağları Analiz Bulguları

Protein bozulmasının en önemli göstergeleri arasında sülfhidril grubunun kaybı olduğu belirtilmektedir. Sülfhidril grubunun kaybına bağlı olarak disülfid bağlarının sayısındaki artış olduğu bu değişimi ortaya koymaktadır. Depolama süresince sülfhidril gruplarındaki azalışla birlikte disülfid bağlarının miktarında artış görülmüştür. Protein oksidasyonunun en önemli göstergesi olan bu durum nanoemülsiyon uygulanan gruplara kıyasla kontrol gruplarında daha fazla görüldüğü ortaya koyulmuştur. İstatiksel açıdan incelendiğinde her iki parametre için gruplar arası depolama süresi boyunca olan farklılık anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 14. Depolama süresince çalışma gruplarında sülfidril grup ve disülfür bağ değerinde meydana gelen değişimler

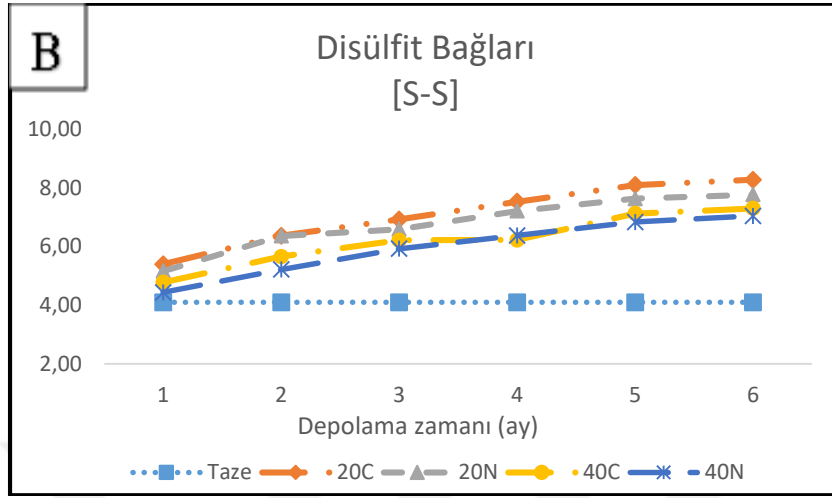
Gruplar					
Sülfidril Grupları [SH (μmol/mg)]	Aylar	20C	20N	40C	40N
Sülfidril Grupları [SH (μmol/mg)]	Taze	12,45±0,64A ^a	12,45±0,64A ^a	12,45±0,64A ^a	12,45±0,64A ^a
	1	7,89±0,13B ^d	8,47±0,12B ^c	8,96±0,15B ^b	9,78±0,28B ^a
	2	7,26±0,54BC ^c	8,02±0,74BC ^{bc}	8,50±0,15BC ^{ab}	9,61±0,09B ^a
	3	7,44±0,02BC ^b	7,77±0,21BC ^b	7,60±0,19CD ^b	8,45±0,25C ^a
	4	6,98±0,11BC ^b	7,25±0,07CD ^b	7,13±0,17DE ^b	7,56±0,08CD ^a
	5	6,94±0,06CD ^a	7,29±0,02CD ^a	7,04±0,44DE ^a	6,94±0,06D ^a
	6	6,05±0,13D ^a	6,67±0,56D ^a	6,25±0,20E ^a	6,83±0,75D ^a
Disülfür Bağları [S-S]	Taze	4,10±0,16E ^a	4,10±0,16E ^a	4,10±0,16D ^a	4,10±0,16C ^a
	1	5,40±0,34D ^a	5,16±1,04DE ^a	4,78±0,21C ^a	4,44±0,03C ^a
	2	7,37±0,08BC ^a	6,37±0,02BC ^b	5,66±0,42B ^c	5,22±0,14BC ^c
	3	6,93±0,15C ^a	5,59±0,05CD ^b	6,22±0,15B ^{ab}	5,93±0,90AB ^{ab}
	4	7,53±0,09B ^a	7,22±0,06AB ^a	6,23±0,03B ^b	6,38±0,21AB ^b
	5	8,10±0,04A ^a	7,64±0,11A ^a	7,13±0,12A ^b	6,84±0,33A ^b
	6	8,29±0,29A ^a	7,78±0,02A ^{ab}	7,31±0,26A ^b	7,05±0,46A ^b

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup. Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c) aynı depolama günündeki gruplar arası istatistiksel farklılıkları belirtir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı grubun farklı depolama günlerindeki istatistiksel farklılıklarını belirtir (p<0.05).



Şekil 37. Gruplar arasında depolama süresince sülfidril grup (A) ve disülfür bağ (B) değerlerinde meydana gelen değişim grafiği

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.



Şekil 38.Gruplar arasında depolama süresince sülfidril grup (A) ve disülfür bağ (B) değerlerinde meydana gelen değişim grafiği (Devam)

20C: -20 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 20N: -20 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup, 40C: -40 °C’de dondurulan saf su ile kaplanmış grup, 40N: -40 °C’de dondurulan nanoemülsiyon ile kaplanmış grup.

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

4.1. Nanoemülsiyon Formülasyonlarına Ait Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmada kaplama materyali amacıyla nanoemülsiyon kullanılmıştır. Aloe vera jeli ve kenevir tohumu ile zenginleştirilen nanoemülsiyonun optimum oranına karar vermek için toplamda 9 adet nanoemülsiyon formülasyonu (HA1, HA2, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA8 ve HA9) hazırlanmıştır. Hazırlanan nanoemülsiyonların karakterizasyon bulguları çerçevesinde;

Nanoemülsiyon formülasyonlarına ait pH değerleri, 4,74 (HA1) ile 4,88 (HA6) arasında bulunmuştur ve gruplar arasında istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). HSO ve T80 konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak pH değeri yükselirken, aloe vera jeli yüzdesinin artmasına bağlı olarak oransal bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte, nanoemülsiyonların asidik yapısının, aloe vera jelinin asidik yapısından ve ihtiva ettiği sitrik, laktik ve süksinik asitler gibi önemli organik bileşiklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Bozzi vd., 2007). Soğuk saklama koşullarında muhafaza edilen karidesin kalite özelliklerini iyileştirmek amacıyla, Sharifimehr vd., (2019) aloe vera jel tozu ve öjenol ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki yenilebilir

nanoemülsiyon kaplamalarının, aloe vera jel tozunun asidik özelliğinden dolayı düşük pH değeri gösterdiğini belirtmiştir. Başka bir çalışmada araştırmacılar, tarçın, biberiye ve kekik esansiyel yağları ile formüle edilen nanoemülsiyonların *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* ile aşılınmış taze kereviz üzerindeki antimikrobiyal etkilerini test ettiler ve pH değerlerinin sırasıyla 4,69, 5,58 ve 5,84 olduğunu buldular (Dávila-Rodríguez vd., 2019). Araştırmacıların okaliptüs globulus yağından elde edilen nanoemülsiyonun 90 gün boyunca stabilitesini ve in vitro güvenliğini araştırdıkları bir çalışmada ise emülsiyonların 4,68 olan başlangıç pH değerinin depolama sonunda 4,21'e düştüğünü belirtmişlerdir (De Godoi vd., 2017). Bir nanoemülsiyonun pH değerinin kullanılan katkı maddelerine bağlı olduğu bilinmektedir ve çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular bu durumla örtüşmektedir.

PDI değeri, damlacıkların damlacık boyutu dağılımı olarak tanımlanır ve emülsiyonun homojenliğini ve stabilitesini belirlemede önemli bir parametredir. Küçük bir PDI değeri, dar bir damlacık boyutu dağılımını temsil eder. Bu çalışmada HA8 emülsiyonu için minimum PDI değeri $0,17 \pm 0,01$ olarak bulunmuştur. PDI 0,3'ten küçük olduğunda, nanoemülsiyon sistemi dar bir boyut dağılımına sahip olduğu görülmüştür. PDI değeri 0,5'ten büyükse, sistem büyük boyutlu dağılım olarak adlandırılır. Nanoemülsiyon yapılarında boyut dağılımlarının üniform olarak ifade edilebilmesi için PDI değerinin 0,5'ten küçük olması beklenmektedir (Lee vd., 2020; Pongsumpun vd., 2020). PDI değerleri incelendiğinde tüm gruplar içerisinde HA1 grubu için maksimum $0,26 \pm 0,03$ olduğu tespit edilmiş olup, nanoemülsiyonların üniform partiküller oluşturma eğiliminde olduğu görülmüştür ve elde edilen sonuçların literatür ile uyumluluğu belirlenmiştir (Ahmad vd., 2019). Nanoemülsiyon sistemlerinde viskozite değeri ile damlacık boyutu arasında ters bir orantı vardır. Bu kapsamda emülgatör içeriğinin artması ile viskozitenin arttığı ve ortalama damlacık boyutunun küçüldüğü bilinmektedir. Çalışmamızda hem emülgatör hem de yağ oranındaki artış ile artan viskozite, numuneler arasındaki damlacık boyutunun azalması yönünde kendini göstermiştir. Bu yönüyle verilerimizin diğer araştırma verileri ile benzer sonuçlar sergilediği görülmüştür (Demisli vd., 2020; Richa ve Choudhury, 2020; Tahir vd., 2023).

Qushawy vd., (2022), yağlı karaciğer hastalığını (steatohepatit) önlemek için kullanılabilecek bir nanoemülsiyon için doğal bir yağ olan kenevir tohumu yağı

kullanmışlardır ve yüksek basınçlı homojenizasyon tekniğine dayalı dört nanoemülsiyon formülü (NEF1, NEF2, NEF3, NEF4) geliştirmişlerdir. Hazırlanan kenevir tohumu NEF'lerinin damlacık boyutunun $80,7 \pm 3,96$ nm ile $140,9 \pm 5,62$ nm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, artan yüzey aktif madde konsantrasyonunun sulu ve yağlı fazları arasındaki yüzey gerilimini azaltarak, daha küçük damlacık boyutunda nanoemülsiyonların elde edilebileceğini kanıtlamışlardır. Çalışmamızda %1, %2 ve %3 aloe vera jeli kullanımında emülgatör miktarının artması ile damlacık boyutu azalmıştır. Nanoemülsiyonların damlacık boyutunun $118,9 \pm 1,0$ (HA6) ve $170,5 \pm 2,3$ (HA1) nm aralığında olduğu bulunmuştur (Şekil 19). Quashaw vd., (2022) çalışma verileri çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Zeta potansiyel değeri, nanoemülsiyon sistemlerinde iç fazı oluşturan damlacıkları dış fazdan ayıran arayüzde var olan elektrik potansiyelidir. Tüm nanoemülsiyon grupları için zeta potansiyel değeri (HA1; $-4,89 \pm 0,12$, HA2; $-4,82 \pm 0,19$, HA3; $-4,53 \pm 0,85$, HA4; $-5,09 \pm 1,54$, HA5; $-4,73 \pm 0,22$, HA6; $-4,17 \pm 0,14$, HA7; $-4,96 \pm 0,31$, HA8; $-4,20 \pm 0,31$, HA9; $-4,02 \pm 0,14$ mV) nispeten düşük değerler sergilemiştir. Düşük zeta potansiyel değerinin, bunların etrafında katyonik, anyonik veya iyonik olmayan adsorbe edilmiş yüzey aktif maddelerin kullanımına bağlı olduğu Rocha-Filho vd., (2020) tarafından bildirilmiştir ve mevcut çalışmada elde edilen veriler ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir .

Viskozite, nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bir emülsiyonun viskozitesi, emülsiyonun türü hakkında bilgi verir. Düşük viskoziteli emülsiyonlar su içinde yağ (O/W) tipindedir, yüksek viskozite ise yağ tipi sistemde su (W/O) olduğunu gösterir (Yazgan vd., 2019). Su fazının farklı yüzdellerinde aloe vera jeli ve lipid fazının farklı oranlarında kenevir tohumu yağı ilave edilerek hazırlanan HA1, HA2, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA8 ve HA9 su içinde yağ nanoemülsiyonlarının viskozite değeri 2,00-2,30 mPa.s aralığında belirlenmiştir. Emülsiyonun viskozitesinin, kullanılan emülgatörün yapısına ve yağın viskozitesine bağlı olduğu bilinmektedir (Gazolu-Rusanova vd., 2017; Gorjian vd., 2022). Bu çalışmada kullanılan emülgatör ve yağ oranındaki artış, grupların viskozite değerlerinde de artışa neden olmuştur ($p < 0.05$). Ghosh vd., 2013, ultrasonik emülsifikasyon tekniği ile 1:1, 1:2,

1:3 ve 1:4 (h/v) oranlarında hazırlanan tarçın yağı nanoemülsiyonlarının viskozitesinin sırasıyla 1,77, 2,7, 5,75 ve 19,75 cP olduğunu bildirmiştir. Ayrıca viskozitedeki bu azalma eğiliminin artan yüzey aktif madde konsantrasyonundan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Falleh vd., (2021), farklı formülasyonlarda hazırladıkları mersin (*Myrtus communis*) yağı ve nane (*Mentha pulegium*) yağı nanoemülsiyonlarının viskozite değerlerini %5 nane nanoemülsiyonu için maksimum 3,6 mPa.s ve mersin nanoemülsiyonu için 2,5 mPa.s olarak belirlemiş ve stabil bir nanoemülsiyon için düşük viskozitenin önemini vurgulamıştır. Bu çalışmada, tüm nanoemülsiyon grupları için elde edilen düşük viskozite, emülsiyonların O/W tipi ve stabil yapıda olduğu literatür ile desteklenmiştir (Pongsumpun vd., 2020).

Emülsiyonların bulanıklığı NTU cinsinden hesaplanmış ve buna göre en yüksek bulanıklık 99,90 NTU ile HA4 grubunda, en düşük bulanıklık ise 99,13 NTU ile HA6 grubunda tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yağ fazı ve emülgatör oranının yüksek olduğu HA3, HA6 ve HA7 gruplarının bulanıklığı diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur ($p > 0.05$). Yüzey aktif maddenin konsantrasyonu, viskozite ile pozitif bir korelasyona ve bulanıklık ile negatif bir korelasyona sahiptir. Bulanıklıktaki bu azalma, düşük damlacık çapı ile ilişkilidir. Öyle ki, bir emülsiyon sisteminde şeffaflık, nispeten zayıf saçılmaya neden olur ve bu, daha yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonundan kaynaklanır (Ghosh vd., 2013). Kabri vd., (2011), nano-kozmesötik bir ürün için miglyol, kolza tohumu yağı ve somon (*Salmo salar*) yağından hazırlanan nanoemülsiyonların bulanıklık değerinin, formülasyondaki miglyol ve kolza tohumu yağı yüzdesine bağlı olduğunu belirtmiştir. Formülasyondaki miglyol yüzdesi arttıkça bulanıklığın azaldığını, ancak bulanıklığın kolza tohumu yağı yüzdesi ile doğru orantılı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada, nanoemülsiyonların bulanıklığının, artan geçiş sayısı ve homojenizasyon basıncı ile azaldığı bildirilmiştir, bu da damlacık boyutundaki azalma ile açıklanabilmektedir (Uluata vd., 2016). Bu bağlamda çalışma verilerimiz literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Nanoemülsiyon çalışmalarında iletkenlik tayini, emülsiyonun türü hakkında bilgi vermektedir. Yüksek iletkenlik değerleri O/W emülsiyonlarını, düşük değerler ise W/O emülsiyonlarını gösterir (Jiang vd., 2013). Buna göre, çalışmamızda elde edilen yüksek

iletkenlik değerleri (146,17 ila 152,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$) O/W nanoemülsiyonlarını temsil etmektedir ($p>0,05$). İletkenlik değerinin emülsiyonun stabilitesini ve boyutunu etkilediği bilinmektedir. Bununla birlikte, bulgularımıza göre, elektriksel iletkenlikteki değişikliklerin nanoemülsiyonların karakterini ve damlacık boyutunu etkilediği görülmemektedir, çünkü iletkenlikteki artış emülsiyon stabilitesini değerlendirmek için yetersizdir. Yapılan bir çalışmada keten tohumu yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların yüksek iletkenlik değerlerine sahip olduğu ($81,9 \pm 0,035 \mu\text{S}/\text{cm}$ ve $224 \pm 7,830 \mu\text{S}/\text{cm}$) ve nanoemülsiyonların dış fazının su olduğu vurgulanmıştır (Kildaci vd., 2021). Bu çalışmanın sonuçları, çalışmamızda hazırlanan nanoemülsiyonların O/W tipi olduğunu desteklemiştir ve çalışmamızın literatür ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Nanoemülsiyonlar, küçük damlacık yapıları nedeniyle ışığı zayıf yansıtır ve bulanık sistemler olarak bilinir (Graves, 2008). Bu çalışmada, HA2 ve HA3'ün L^* değerleri diğer nanoemülsiyonlardan önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). En düşük ve en yüksek L^* değerleri sırasıyla HA3 (73,94) ve HA7'de (88,20) belirlenmiştir ($p<0,05$). Elde edilen a^* ve b^* renk ölçümlerinin çıplak gözle gözlemlenen renk ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Böylece, hazırlanan nanoemülsiyonların a^* parametresi yeşilliği temsil eden negatif değerler vermiş ve b^* parametresi sarılığı temsil eden pozitif değerleri ortaya çıkarmıştır. Nanoemülsiyon gruplarının değeri -2,22 ile -1,48 arasında, b^* değeri ise 13,62 ile 17,48 arasında tespit edilmiştir. a^* değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark ($p>0.05$) gözlenmezken, b^* değerlerinde fark ($p<0.05$) gözlenmiştir. Tüm nanoemülsiyonların beyazlık indeksi (WI) Tablo 4'de verilmiştir. WI gruplara göre istatistiksel farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$) ve WI değerlerinin 68,7 (HA3) ile 81,9 (HA7) arasında dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Emülsiyonun görünümünün esas olarak yağ damlacıklarının varlığı ile belirlendiği iyi bilinmektedir. Bu nedenle, damlacık boyutu, konsantrasyon ve kırılma indisi gibi parametreler, genel emülsiyonun optik özelliklerini doğrudan etkiler (Chantrapornchai vd., 1998). Bu çalışmada, WI'nin aloe vera jelinin artan yüzdesi ile arttığı ve kenevir tohumu yağı yüzdesine bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Dávila-Rodríguez vd., (2019).yaptıkları çalışmaya benzer şekilde bu çalışma da nanoemülsiyonların optik özelliklerinin nanoemülsiyonların damlacık boyutuna bağlı olduğunu ortaya koymuştur.

Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüleme tekniği yardımıyla nanoemülsiyonların morfolojisi ve damlacık boyutu dağılımı belirlenmiştir. Şekil 24'de gösterildiği gibi, damlacıkların küresel şekilli ve 200 nm'den küçük olduğu bulunmuştur. Bu, damlacık boyutu analizi ile belirlenen damlacık boyutu ölçümlerinin doğruluğunu ortaya çıkarmıştır. Damlacıklar HA2 ve HA8 gruplarında homojen dağılım göstermiş, ancak diğer gruplarda (HA1, HA3, HA4, HA5, HA6, HA7, HA9) aglomerasyona uygun görüntüler elde edilmiştir. Li ve Chiang, (2012), ultrasonik emülsifikasyon tekniği ile ekstrakte edilen D-limonen nanoemülsiyonlarının damlacık boyutunun 100 nm olduğunu ve morfolojisinin küresel olduğunu bildirmişlerdir. Yin vd., (2017), baicalein flavonoid yüklü yağ fazının kenevir yağından oluşan nanoemülsiyonların TEM görüntülerinin neredeyse küresel bir morfolojiye sahip olduğunu açıklamıştır. Önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi, çalışmamız nanoemülsiyonların yağ fazının türünden bağımsız olarak küresel bir morfoloji sergilediğini göstermiştir.

HSO spektrumu, CH bağlarından (yaklaşık 3250 cm^{-1}), C = O (1750 cm^{-1} de), AVG spektrumu C=C bağlarından (yaklaşık 1000 cm^{-1}), CH'den (yaklaşık 2750 cm^{-1}) ve CH'den (yaklaşık 1750 cm^{-1}) ve NH'den (3250 cm^{-1}) T80'den yayılan net sinyaller göstermiştir (Şekil 25). Benzer şekilde, incelenen nanoemülsiyonlarda HSO, AVG ve T80'in fonksiyonel gruplarının korunduğu, ancak bazı gelen sinyallerin (maksimum tepe noktaları) nispeten düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun, düşük yağ ve yüksek su konsantrasyonlarının yanı sıra emülsiyonlara yüzey aktif maddelerin eklenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda tespit edilen aloe vera nanoemülsiyonlarının benzer karakteristik pikleri Devi vd., (2022) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur.

Nanoemülsiyonlar, sulu bir sistemde sonikasyon işlemi ile aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağından hazırlanmıştır. HSO ve AVG içerikli incelenen nanoemülsiyon formülasyonları, damlacık boyutu 118,9 ila 170,5 nm, polidispersite indeksi 0,17 ila 0,26 ve zeta potansiyeli -4,02 ila -5,09 mV arasında değiştiği tespit edilmiştir. AVG ve HSO arasındaki sinerjik etkinin bir sonucu olarak nanoemülsiyonların antioksidan özelliklerinde önemli bir artış gözlenmiştir. Karakterizasyon analizleri sonucunda tüm gruplar kısmen başarılı sonuçlar vermesine rağmen TEM görüntüleri ve PDI değeri

açısından en ideal nanoemülsiyon özelliğinin HA8 (%3 AVG ve %5 HSO içeren) grubunda olduğu tespit edilmiştir. Nanoemülsiyonlardaki yağ fazının morfolojisi, yüksek çözünürlüklü görüntüler elde etmek için kullanılan TEM analizinde uygun görülmüş ve HA8 grubunda homojen bir görüntü elde edilmiştir.

4.2. Besin Bileşimi Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi

Su ürünleri, sağlıklı bir diyetin değerli bir parçası olarak bilinmektedir (Adams ve Standridge, 2006; Holma ve Maalekuu, 2013). Su ürünleri kimyasal kompozisyonu ürün çeşidine ve işleme şekline bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Kılınç ve Çaklı, 2001). Bilinen bir gerçek olarak su ürünlerinin kimyasal bileşiminin büyük bir kısmı su (%66-84), yağ (0,1-22) ve proteinden (%15-24) oluşmaktadır. Balığın kimyasal bileşimi hakkında elde edilen bilgiler balık ve balık ürünlerine yönelik işleme teknolojisinin geliştirilmesinde hayati önem taşımaktadır.

Protein değeri ürün çeşidine bağlı olarak %15-24 arasında değişmektedir. Literatürde Gökkuşuğu alabalığı besinsel kompozisyon analizini içeren birçok çalışma mevcuttur (Marta vd., 2015; Suganthi vd., 2015). Çalışmada taze alabalık filetosuna ait ham protein, ham yağ, %kül ve %nem değerleri sırasıyla $18,88 \pm 2,41$, $4,28 \pm 0,17$, $1,72 \pm 0,06$ ve $76,91 \pm 0,72$ olarak tespit edilmiştir. Tüm gruplarda besinsel kompozisyon değerleri depolama süresince elde edilen veriler ham protein ve ham yağ değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$), %nem ve %kül değerlerine ait farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılığı ortaya koyulmuştur ($p < 0,05$). Özoğul vd., (2016)'nin ayçiçeği, kanola, mısır, zeytin, soya fasulyesi ve fındık yağı gibi ticari yağları içeren hazırladıkları nanoemülsiyonların çiftlik levreğinin kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada Levreğin ham protein, lipid, nem ve kül içerikleri sırasıyla %18,8, %3,91, %75,8 ve %1,34 olarak tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada tarhun esansiyel yağı ile zenginleştirilmiş peynir altı suyu protein izolat bazlı filmin soğutulmuş alabalıkların kalitesi ve raf ömrü üzerindeki etkisini araştırma sonucu olarak balığa ait protein içeriği için $19,8 \pm 0,078$, yağ içeriği için $8,0 \pm 0,255$, kül içeriği için $1,4 \pm 0,014$ ve nem içeriği için $70,2 \pm 0,290$ ortalama değerlerinde olduğunu bildirmişlerdir (Socaciu vd., 2021). Bu çerçevede mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar literatürle paralellik göstermiştir.

4.3. Tekstür Profil Analiz Değerlerine Ait Bulgularının Değerlendirilmesi

Balık etinin dokusu tazeliğın değerli bir göstergesidir (Song vd., 2022). Çalışmada dondurma hızının ve nanoemülsiyon ile kaplamanın fileto dokusuna etkisi incelendiğinde, bu iki etkenin tüm parametreler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Şekil 26). Balık etinin dokusunun hızla bozulması, kaslardan su kaybı ve kas dokularının deformasyonuna bağılı olarak meydana gelen bir süreçtir (Delbarre-Ladrat vd., 2006, Huff-Lonergan ve Lonergan, 2005). Daha zayıf bir bağı dokusu gücü, yumuşak filetoların daha düşük pH'ından kaynaklanabileceğı Song vd., (2022) tarafından bildirilmiştir. Bu görüşün aksine çalışmamızda nanoemülsiyonlu grupların depolamanın son gününde kontrol gruplarına kıyasla daha düşük pH ve daha yüksek sertlik değerine sahip olduğu görülmüştür. Nanoemülsiyonlu gruplara ait düşük pH'ın aloe vera jelinin asidik yapısından ileri geldiğı düşünülmektedir. Bu kapsamda balık filetolarının nanoemülsiyon ile muamelesinin dokusal tazeliğın belirteci olan sertlik değerinde olumlu etki gösterdiği söylenebilir.

Balık etinde postmortem dönemde görülen dokusal ve yapısal değişiklikler nedeniyle, miyofibrillerdeki suyun dağılımı ve hareketliliğı değişkenlik göstermektedir. Bu değişiklik ise filetoların su tutma kapasitesini ve duyusal özelliklerini etkilemektedir (Pearce vd., 2011). Bu kapsamda mevcut çalışmada depolamanın son ayında kontrol gruplarına (20C ve 40C) kıyasla yüksek su aktivitesine sahip nanoemülsiyonlu gruplarda (20N ve 40N) yüksek sertlik ve yapışkanlık değerleri tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Liu vd., (2013) tarafından -3 °C'de aşırı soğutmanın, 0 °C'de buzda depolamaya kıyasla sazan filetolarının biyokimyasal ve fiziksel özellikleri üzerindeki etkisinin incelendiğı çalışmada bildirilmiştir.

4.4. Fizikokimyasal Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

4.4.1. pH Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Çalışmanın başlangıcında taze alabalıkta pH değeri 6,21 olarak tespit edilmiştir. 6 ay boyunca hem -20 °C'de hemde -40 °C'de muhafaza edilmiş filetoların (kontrol ve nanoemülsiyon ile kaplanmış) pH değerlerinin depolama süresince gruplar arasında

istatistiksel olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Depolama süresi boyunca kontrol ve nanoemülsiyon ile kaplanmış gruplara ait pH değerlerinde artış görülmüştür. Balık etinde muhafaza sürecinde mikrobiyal büyümenin sebebiyet verdiği protein yapısının bozulması ile birlikte amonyak ve aminler gibi alkali bileşikler oluşmaktadır. Bu bileşikler ise ürünün pH'ında artışa sebebiyet vermektedir (Kılıç vd., 2014; Mexis vd., 2009, Stammen vd., 1990; Zhao vd., 2021).

Yazgan (2013), nanoemülsiyon uygulamasının balık etinde daha düşük pH'a neden olduğunu ifade etmiştir. Depolama sonunda çipura ve levrek etindeki pH değeri sırasıyla 7,40 ve 7,60 iken, nanoemülsiyon uygulanan gruplarda sırasıyla 7,20 ve 7,33 olduğu rapor edilmiştir. Yuvka (2014), biberiye ve kekik uçucu yağları kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların buzda depolanan alabalık filetoları üzerindeki pH değerinde meydana gelen değişimleri incelediği çalışmasında; depolamanın başlangıcında tüm gruplar için pH değerini 6,89 olarak tespit etmiştir. Depolama boyunca pH değerlerinde düzenli bir artış olduğunu ve nanoemülsiyon uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel farklılıklar olduğunu bildirmiştir. Bir grup araştırmacı etilen-vinil alkolden ürettikleri ve zencefil esansiyel yağı içeren kitosan bazlı çok katmanlı bir filminden oluşan plastik bir torbada 2 °C'de taze cobia (*Rachycentron canadum*) balık bifteklerini muhafaza etmişlerdir. Balık bifteklerinin başlangıç pH değerinin 5,5 olduğunu 30 günlük depolama sonunda tüm gruplarda ortamda oluşan alkali bileşiklerinin ve bakteriyel metabolitlerin etkisi ile arttığını ifade etmişlerdir (Remya vd., 2017). Dong vd., 2019 'nın düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) ve polipropilen (PP) *Allium sativum* özü yağı (AEO) ile yüklenen Attapulgit (AT) ile birleştirilmiş ve şişirilmiş film ekstrüzyon yöntemi ile aktif çift katmanlı filmin geliştirmişlerdir. Filmlerin büyük sarı uskumru (*Pseudosciaena crocea*) filetolarında vakum koşulları altında 4 ± 1 °C'de 10 günlük depolama sırasında filetoların pH değerinde değişiklikleri incelemişlerdir. Filetolara ait pH değerini depolama süresi boyunca tüm gruplar arasındaki pH değerlerinin kademeli olarak arttığını belirtmişlerdir.

Su ürünlerinin kalitesini korumak üzerine yapılan bir çalışmada kitosan bazlı tarçın-perilla esansiyel yağı, Antosiyanidin ve kolajen ile zenginleştirilmiş nanoemülsiyon kompozit kaplamanın kırmızı çipura filetosu üzerinde etkileri incelenmiştir. (F1: kolajen

proteini/kitosan nanopartikülleri/antosiyanın filmi (CN-A), F2: %1 C-PEO Pickering nanoemülsiyonu/kitosan nanopartikülleri film (CN-CPN), F3: %1 C-PEO Pickering emülsiyonu/kitosan nanopartikülleri/antosiyanın filmi (CN-CPN-A)) grupların 14 gün boyunca 4 °C'de depolamışlardır. Çalışmada filetolara ait başlangıç pH değerinin 6,0 iken depolamanın son gününde bu değer mikrobiyal gelişimine bağlı olarak arttığını belirtmiş ve bu üç filmin su ürünlerinin raf ömrünü etkili bir şekilde uzatabildiğini bildirmişlerdir (Zhao vd., 2022). Gümüş sazan balığının (*Hypophthalmichthys molitrix*) buzlu depolama süresince kalite değişimleri üzerinde çay polifenoller (TP) daldırma işleminin etkileri 35 günlük depolama süresince incelendiği bir araştırmada filetolara ait 6,2 olan pH değerinin depolama süresince artış gösterdiğini bildirmişlerdir (Fan vd., 2008).

Balık etinin tazelik göstergesi olarak pH değeri önem arz eder ve bu değer 6,5-7,0 aralığı olarak kabul edilmektedir (Alçiçek vd., 2010). Kontrol ve nanoemülsiyon ile kaplanmış gruplarda bu değer depolamanın son ayında 6,40 (40C) ve 6,54 (20C) olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre tüm grupların tazelik kriterleri için belirtilen değerleri aşmadığı görülmektedir. Bu çalışmada nanoemülsiyon ile kaplanmış filetolara ait pH değerlerinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu kapsamda kenevir tohumu yağı ve aloe vera jeli içerikli nanoemülsiyonların mikrobiyal gelişimin büyümesi üzerine negatif etki gösterdiği ve buna bağlı olarak uçucu bileşiklerin oluşumunun geciktiğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar literatürde belirtilen veriler ile uyumlu bulunmuştur.

4.4.2. Damlama Kaybı Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

Dondurarak muhafaza su ürünleri gibi çabuk bozulabilen gıda grubu için çok fazla talep gören bir muhafaza yöntemidir. Dondurarak muhafaza yönteminde bozulmada etkili olan çoğu bozucu ve patojenik mikrobiyal gelişim -10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda gelişmemektedir. Bu sıcaklıkta, suyun yaklaşık %80'i buza dönüşür akabinde su aktivitesini azalır ve bu da mikrobiyal aktiviteyi engeller. Donma esnasında meydana gelen buz kristalleri üründe bazı dokusal değişikliklere sebep olur (Gökoğlu ve Yerlikaya, 2015). Akabinde bu durum üründe kuruluğu ve sertliği teşvik eder. Bu doku hasarının en

aza indirilmesi hızlı dondurma işlemleriyle sağlanabilir. Hızlı dondurma suyun buza dönüştüğü faz geçiş süresini kısaltır. Böylece daha küçük buz kristallerine ve çözülme işlemi sırasında daha düşük hücre duvarı yırtılmasına ve daha az damlama kaybına yol açar (Soyer vd., 2010; Hall, 2010). Ayrıca suyun buza dönüştüğü faz geçiş süresinin daha kısa olması, proteinlerin donma kaynaklı denatürasyonunu engellemek için çok önemlidir (Kim vd., 2013; Li ve Sun, 2002). Çalışmada -40°C 'de dondurulan gruplara nazaran -20°C 'de dondurulan gruplar daha fazla damlama kaybına maruz kalmıştır. Bu durumun hızlı dondurma işleminin küçük buz kristalleri oluşturması ve dokuların daha az hasar almasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Kiani ve Sun, 2011). Damlama kaybına ait bulgulara hem gruplar hemde aylar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). -20°C 'de dondurulan 20C ve 20N gruplarında damlama kaybı depolamanın ilk ayında sırasıyla $2,25\pm0,13$ ve $1,41\pm0,08$ olarak bulunmuştur. Bu değer son ayda 20C grubunda $15,17\pm0,26$, 20N grubunda $11,75\pm1,46$ olarak tespit edilmiştir. Hızlı dondurma (-40°C) yönteminde yer alan 40C ve 40N grubuna ait damlama kaybına ait birinci ay bulguları sırasıyla $2,03\pm0,0$ $1,20\pm0,38$ iken depolamanın son ayında $9,09\pm0,46$ ve $7,31\pm0,13$ olarak bulunmuştur.

Araştırmacılar son yıllarda su ürünlerinin raf ömrünü uzatmaya yönelik yaptıkları çalışma sonucu doğal koruyuculara olan ilgi artmıştır (Gökoğlu, 2019; Hassoun & Emir Çoban, 2017; Durmuş, 2020; Nisar vd., 2019). Artan ilgi doğal koruyucuların çeşitliliğini de arttırmış ve yaygın olarak en yaygın kaynakları mikroorganizmalar, hayvanlar ve bitkiler kullanılmaktadır (Dehghani vd., 2018; Mei vd., 2019; Olatunde ve Benjakul, 2018). Siyah tohum, üzüm çekirdeği ve jojoba yağları gibi esansiyel yağların ve kitosan gibi doğal katkı maddeleriyle muamele edilmiş sazan filetolarının dondurulmuş muhafa sürecinde kalite niteliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla muamele edilmiş filetoların damlama kaybının daha az olduğunu bildirmişlerdir (Abbas vd., 2021). Dondurulmuş depolama sırasında ton balığı kalitesini arttırmaya yönelik yapılan bir çalışmada bambu yaprağından elde edilen antioksidan, rosmarinik asit ve sodyum laktat ile muamele edilmiş gruplar (UG: muamelesiz grup; CG: rosmarinik asit, sodyum laktat ve bambu yaprağı antioksidanı bileşimiyle muamele edilmiş grup; RG: rosmarinik asitle muamele edilmiş grup; SG: sodyum laktatla muamele edilmiş grup; AG:

bambu yaprağı antioksidanı ile muamele edilmiş grup; WG: suyla muamele edilmiş grup) hazırlanmıştır. 180 gün boyunca -18 °C'de depolanmış ton balığı örneklerinin 30 günlük sürenin başlangıcında, her bir grubun damlama kaybında önemli bir fark görülmediği fakat 90 günlük depolamanın sonunda CG, RG ve AG gruplarındaki damlama kaybının önemli ölçüde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumun dondurarak depolama sırasında proteinlerin etrafındaki hidrofobik ve hidrofilik bağların yıkımını önleyebilen muamele işleminden kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Tüm numunelerin su tutma kapasitesinin depolama sırasında azalan eğilimler gösterdiği açıklamışlardır (Wang vd., 2020; Benjakul vd., 2003).

Bu kapsamda çalışmamızda elde edilen hem -20 °C’de hem de -40 °C’deki kontrol grubuna kıyasla nanoemülsiyon ile muamele edilmiş gruplardaki damlama kaybındaki azalış kenevir tohumu yağı ve aloe vera jelinin damlama kaybına pozitif yönde etki ettiğini ortaya koymaktadır.

4.4.3. Su Aktivitesi Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi

Su aktivitesi, bir dizi biyokimyasal reaksiyon ve bakteri büyümesi mükemmel bir ortam kullanılabilir su miktarı olarak tanımlanmaktadır (Villca vd., 2020). Ürünün su aktivitesi değeri 1'e yakın değerlere sahip ise yüksek bozulabilirlikle, 0'a yakın değerler ise düşük bozulabilirlikle ilişkilendirilmektedir. Su ürünleri yüksek su aktivitesine sahip ürünlerdir (Gökoğlu, 2002). Bu kapsamda ürünün su aktivitesinin tespiti bozulmaya olan yatkınlığının tespitinde önem arz etmektedir. Böylece ürünün raf ömrünün tahmini ve uzun raf ömrü için depolama koşullarının belirlenmesinde de rol oynamaktadır. Mevcut çalışmada, taze filetolara ait su aktivitesi değeri $0,9936 \pm 0,01$ olarak bulunmuştur. Bu değer depolamanın son ayında 20C grubunda, $0,9930 \pm 0,03$, 20N grubunda $0,9983 \pm 0,01$, 40C grubunda, $0,9955 \pm 0,03$, 40N grubunda, $0,9919 \pm 0,02$ olarak bulunmuştur. Depolama süresince tüm gruplarda göreceli değişiklikler gözlemlenmiş ve bu farklılıkların istatistiksel olarak farklar belirlenmiş olsa bile depolama süresince gruplar arasında ayırt edici bir farktan bahsedilmesi düşünülmemektedir ($p < 0,05$) (Çorapçı, 2022;. Strateva vd., 2021).

4.4.4. Su Tutma Kapasitesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Su tutma kapasitesi (WHC) değeri dondurulmuş gıdaların kalitesini belirlemede önem arz etmektedir. Çünkü düşük bir WHC'ne sahip üründe yüksek su sızıntısı, pişirme kaybı gibi kaliteyi olumsuz etkileyen durumlara yol açmaktadır. Düşük WHC balık kasında doğal yapısındaki yüksek su içeriğinin azalmasına ve akabinde tüketici nezdinde istenmeyen aşırı yumuşak veya bozulmaya karşı hassas filetolara neden olur.

WHC değeri üzerinde, ürünün pH değeri ve kas yapısında bulunan miyofibrillerin net yükünün, hücre iskeletindeki mevcut bağlantıların membran geçirgenliğinin ve kas içindeki hücre dışı boşluk miktarının fileto WHC değerlerinde etkili olduğu bilinmektedir. WHC'deki düşüş ayrıca biyokimyasal yolla katepsinlerin birikimi ve miyofibriller proteinlerin denatürasyonu ve agregasyonundan kaynaklandığı bilinmektedir. Protein denatürasyonunun göstergesi olan karbonil içeriğindeki artışlar ve sülfidril içeriğindeki azalmalar, miyofibril proteinlerinin yapısını ve mekansal düzenlenmesini etkileyen ve WHC'lerini azaltan protein çapraz bağları oluşturabilmektedir.

Kas gıdalarının pH, pişirme verimi, su tutma kapasitesi (WHC) ve kimyasal bileşimi (nem, protein, yağ ve kül) gibi fizikokimyasal özelliklerinin kalitelerini ve raf ömürlerini belirlemede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Das vd., 2020). Bu parametrelerin iyileştirilmesi adına literatürde nanoemülsiyon ile muamele edilmiş et ürünlerinde genellikle pişirme kaybını, yağ bağlama, su tutma kapasitesini (WHC) ve dokusal özelliklerini koruduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Bolger vd., 2018; Wu vd., 2016; Durmuş vd., 2019).

Mevcut çalışmada da taze filetoya ait WHC değeri $61,52 \pm 1,30$ olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince nanoemülsiyon ile muamele edilen gruplarda (20N ve 40N) kaliteye etki eden WHC değerinin kontrol gruplarına nazaran (20C ve 40C) yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Dondurma teknolojisinde, dondurma hızı dikkat edilmesi gereken bir husustur. Hızlı dondurma yöntemi, yavaş dondurma yöntemine göre daha küçük, ince ve orantılı buz kristali oluşturmaktadır. Daha büyük buz kristalleri hücrenin içinden dışına su göçüne neden olarak hücrelerde farklı derecelerde su kaybına sebebiyet verir (Ma vd., 2021). Böylece verilen kasda oluşan mekanik zararı en aza indirmekte ve tüm dondurma işlemi sırasında kastaki su kaybını azaltarak, dondurulmuş gıdanın

kalitesini daha etkili bir şekilde artırmaktadır (Zhu vd., 2019; Dalvi-Isfahan vd., 2019; Shi vd., 2018). Bu çalışmada da dondurma hızı açısından incelendiğinde depolamanın son ayında yavaş dondurmaya tabii tutulan 20C ve 20N gruplarında WHC değerinin 40C ve 40N gruplarına nazaran daha düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Bu bağlamda yavaş dondurma hızının 20C ve 20N gruplarında kas dokusunda yapısal deformasyona daha fazla sebep olduğu hızlı dondurma hızının ise daha az deformasyona sebebiyet verdiği düşünülmektedir.

4.4.5. Renk Yoğunluğunun Ölçümü Verilerinin Değerlendirilmesi

Renk, tüketici nezdinde et kalitesinin yorumlanmasında önemli bir parametre olup satın alma tercihlerini etkilemektedir (Li vd., 2022).

Çalışma gruplarına ait L^* , a^* , b^* değerlerinin grafiksel gösterimi Şekil 24’de verilmiştir. L^* değeri parlaklık veya aydınlık, a^* değeri kırmızı (+) ve yeşil (-)’i, b^* değeri ise sarı (+) ve mavi (-)’yi temsil etmektedir.

L^* aydınlık değerini etkileyen birincil unsurlar, donma-çözülme sürecinde su kaybının özellikleri olan kasın yüzey suyu ve iç çözünen bileşenleridir. Dondurma esnasında meydana gelen buz kristallerinin büyümesiyle birlikte hücrenin içinden dışına su göçü meydana gelir ve hücrelerde farklı derecelerde su kaybı meydana gelir böylece çözünen madde konsantrasyonu artar. Işığın yansıması veya kırılması, balığın yüzeyinde bir su filmi görünmesiyle artmaktadır (Ma vd., 2021).

Çalışmada L^* değeri, taze alabalık filetosunda $24,80\pm1,90$ olarak bulunmuştur. Aydınlık değeri, tüm gruplarda depolama süresince artış göstermiştir ($p<0,05$). Depolamanın son ayında 20C ve 40C gruplarında sırasıyla $29,30\pm2,90$ ve $26,23\pm0,51$ olarak bulunmuştur. Nanoemülsiyon ile muamele edilmiş 20N ve 40N gruplarında ise sırasıyla $24,83\pm1,07$ ve $25,00\pm1,44$ olarak daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni nispeten yavaş dondurmanın su kaybını artırması, böylece et yüzeyinden daha fazla miktarda serbest suyun göç etmesi ve renkte parlaklığın artmasından kaynaklandığı şeklinde düşünülmektedir (Ma vd., 2021; Liu vd., 2023).

Mevcut çalışmada taze alabalık filetosuna ait kırmızılık (a^*) değeri $3,87\pm1,02$ olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince takip edilen bu değer son ayda 20C grubunda

2,67±0,20, 20N grubunda 4,37±0,40, 40C grubunda 3,33±0,80, 40N grubunda 4,93±0,11 olarak tespit edilmiştir.

Kasta bulunan miyoglobinin kimyasal ve oksidatif durumun bir belirteçidir. Miyoglobin, kaslarda bulunan küresel bir protein olup ihtiva ettiği hem grubu ile kasa renk vermektedir. Protein oksidasyona karşı oldukça hassastır ve oksidatif durumun göstergesi olarak kahverengi renk oluşumunun göstergesidir (Zhou vd., 2014). Oksidasyon sonucu demirli-oksimiyoglobinin (Fe^{+2}) demirli-metmiyoglobine (Fe^{+3}) dönüşümü balığın renginin bozulmasından sorumludur (Wang vd., 2021). Balıklardaki miyoglobinlerin diğer et gruplarına göre daha kolay oksitlendiği de bilinmektedir. Bu oksidatif süreç kaslardaki görünümü, parlak kırmızı renkten donuk kahverengi renge doğru değiştirir ve en belirgin renk değişikliği ise kızarıklıkta azalma (a^*) ve sarılıkta artış şeklinde gerçekleşmektedir (Bao vd., 2021; Domínguez vd., 2019; Xia vd., 2021).

Et ürünlerinde sarılık ($+b^*$) değerlerinin yüksek olması tüketici kabul edilebilirliğini azaltmaktadır (Pena-Pereira vd., 2010). Mevcut çalışmada taze alabalık filetosuna ait sarılık değeri 10,83±0,80 olarak tespit edilmiştir. Bu değer depolama süresine paralel olarak artış göstermiştir. Depolamanın son ayında 20C ve 40C gruplarında nanoemülsiyon ile muamele edilmiş 20N ve 40N gruplarına nazaran daha yüksek değerleri belirlenmiştir ($p<0,05$). Balıklarda miyoglobin veya hemoglobin ve lipid oksidasyonunun birincil ürünlerinin ayrışması ve sarımsı renkli bileşiklerin oluşumu ile ilgili olduğu bilinmektedir (Zhan vd., 2018; Pena-Pereira vd., 2010). Mevcut çalışmada sarılık renk değişiminde söz konusu gruplardaki hem yüksek TBA değerlerinin hem de nanoemülsiyonlara ait karakteristik sarı renginde etkili olabileceği düşünülmektedir.

4.4.6. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Ait Bulguların Değerlendirilmesi

TBA indeksi, malondialdehit (MDA) gibi aldehytler gibi oksidasyon ürünlerini ölçerek lipid oksidasyon seviyesini değerlendirmek için kabul gören bir parametredir. Çalışmada dondurulmuş depolama sırasında, tüm örneklerde TBA değerlerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Tüm gruplardaki bu artış buz kristallerinin oluşumuna, ortamda prooksidanların sayısının artmasına ve oksidasyon reaksiyonunun teşvik edilmesine bağlı olduğu tahmin edilmektedir (Monahan vd., 1994; Hocaoglu, vd., 2012).

Raeisi vd., (2015) Gökkuşığı alabalığında güvenlik ve kalitesi üzerinde olumsuz bir etki olmaksızın kabul edilebilir maksimum seviyenin TBA seviyesinin 5 mg MDA/kg olduğunu bildirmiştir. Şekil 28’de verilen TBA seviyesi 6 aylık depolama süresince tüm grupların kabul edilebilir maksimum seviyenin altında olduğu bulunmuştur. Tüm uygulamaların TBA değeri üzerindeki değişimler incelendiğinde depolama süresinin sonuna kadar kademeli olarak arttığı görülmüştür. Ancak, nanoemülsiyon ile muamele edilen 20N ve 40N gruplarında TBA değerleri kontrol gruplarına göre çok daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Aleovera jeli ve kenevir tohumu yağı ile zenginleştirilmiş nanoemülsiyon ile muamele edilen 20N ve 40N gruplarındaki daha düşük oksidasyon oranının, aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağının oksijen bariyeri ve antioksidan aktivite özelliklerinden ileri geldiği düşünülmektedir. Polifenol açısından zengin olan bitkisel ürünlerin serbest radikallere hidrojen atomları sağlayarak süpürücü aktivite gösterdiği, radikal zincir başlangıcını önleyip metal katalizli serbest radikallerin oluşumunu önlediği bilinmektedir (Fiorini vd., 2019). Majidiyan vd., (2022), yaptıkları çalışmada Gökkuşığı alabalığı filetolarının raf ömrünü uzatmak için hazırladıkları endüstriyel kenevir esansiyel yağı ile güçlendirilmiş protein kompleks nanopartiküllerinin depolama süresince TBA (tiyobarbitürik asit) değerlerinin artışı geciktirdiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise kitosan ve *Ferulago angulata* (oluklu çakşır) esansiyel yağı nanoemülsiyonuna dayalı yenilebilir aktif bir kaplamanın 4 °C’de depolanan gökkuşığı alabalığı filetolarında lipid peroksidasyonundaki artışı önemli ölçüde kontrol ettiğini bildirmişlerdir (Shokri vd., 2020).

Dondurulmuş ürünlerde, dondurma hızının TBA değerine etki ettiği bilinmektedir (Jiang ve Lee, 2004; Sikorski ve Kołakowska, 2020; Zhou vd., 2022). Geromel ve Montgomery (1980), yavaş dondurma hızının gökkuşığı alabalığında lizozomlardan lipazın salınmasına neden olabileceğini ve dolayısıyla lipit oksidasyonunu artırabileceğini, buna karşın orta veya hızlı dondurma hızlarının lipaz salınımında önemli bir artışa neden olmadığını belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada ise farklı donma hızı ve yönteminin (-80 °C sıvı azot püskürtmeli dondurucu (LNF), -80 °C buzdolabı dondurucu (RF) ve -30 °C mikro dondurucu (MF) ile önceden dondurulmuş olanların, -18 °C’de (14 gün)) tatlı su balıklarında (ot sazanı, tilapya ve bighead sazanı) kalite üzerine etkilerini

araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *MF yönteminin*, TBARS açısından kaliteye LNF ve RF kadar olumlu etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Böylece hızlı dondurma olan LNF'nin kas dokusunda ince ve eşit şekilde dağılmış buz kristallerinin oluşturması ve böylece hücre mukozasına daha az hasar vererek yağ oksidasyonunu bir dereceye kadar yavaşlattığını ifade etmişlerdir (Liu vd.,2023). Mevcut çalışmada da hızlı dondurmaya tabii tutulan 40C ve 40N'deki filetolar yavaş dondurulan 20C ve 20N'deki filetolara göre daha düşük TBA seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

4.4.7. Toplam Uçucu Bazik Asit (TVB-N) Ait Bulguları Değerlendirilmesi

TVB-N analizi et ve balık ürünlerinde protein hidrolizine bağlı bozulmanın biyobelirteci olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Valizadeh vd., 2020). TVB-N değerindeki artış üründe bozulmayla birlikte hem enzimatik hem de mikrobiyolojik aktivitelerin artması sonucu amonyak, trimetilamin, dimetilamin ve diğer uçucu azotlu bileşiklerin artmasıyla ilişkilendirilmektedir (Huss, 1995). TVB-N değerlerinin taze balık için 5 ile 25 mg/100 g aralığında olması ve tüketilebilir bir balık için kabul edilen TVB-N üst limitinin 35 mg/100 g olduğu belirtilmektedir (Özoğlu vd., 2016; Gökoğlu ve Uçak, 2022; Wang vd., 2022).

Mevcut çalışmada depolama süresince naneomülsiyonla muamele edilmiş gökkuşağı alabalığı filetolarının TVB-N değerlerindeki hızlı ve yavaş dondurma teknolojisiyle meydana gelen değişimler Şekil 33'de gösterilmiştir. Depolama süresinin başlangıcında TVB-N değeri $11,73 \pm 0,81$ mg/100 g olarak bulunmuştur. Dondurulmuş depolama işlemi sırasında proteinler, peptitler, peptonlar ve amino asitler gibi düşük molekül ağırlıklı moleküllere ayrıştığı ve tüm gruplarda TVB-N içeriğinde artış gözlenmiştir.

Depolamanın son ayında bu değer kontrol grupları olan 20C'de $16,61 \pm 1,09$ mg/100 g, 40C'de $15,08 \pm 1,00$ mg/100 g olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Nanoemülsiyon ile muamele edilmiş 20N ve 40N gruplarında ise depolamanın son ayında bu değer sırasıyla $13,83 \pm 1,02$ mg/100 g ve $13,14 \pm 0,81$ mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Her iki dondurma hızında artış görülmesine rağmen 40C grubundaki artış 20C grubuna nazaran daha düşüktür. Ayrıca kontrol gruplarına kıyasla 20N ve 40N gruplarında

nanoemülsiyonun etkisiyle TVB-N değerleri daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Mevcut çalışmada antimikrobiyal özelliğe sahip aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağı ile hazırlanan nanoemülsiyonların filetolarda mikrobiyolojik aktiviteye bağlı olan protein olmayan azot bileşiklerinin proteolizini ve oksidatif deaminasyonunu azalttığı ve böylece uçucu alkali metabolitlerde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir.

Balık kalitesinin bir göstergesi olan TVB-N değerini kontrol edebilmek adına antioksidan ve antimikrobiyal özellikli nanoemülsiyonların kullanımı üzerine birçok araştırma mevcuttur (Shokri vd., 2020; Abdou vd., 2018; Joe vd., 2012). Gümüş sazan filetolarının kimyasal, mikrobiyal ve duyuşsal özellikleri Khedri vd., (2019) tarafından hazırlanan *Zataria multiflora* esansiyel yağı içerikli farklı konsantrasyonlara sahip nanoemülsiyon konsantrasyonu artışının örneklerdeki TVB-N miktarının azaldığını belirtmişlerdir. Durmuş vd., (2020)'nin yaptıkları bir çalışmada Gökkuşluğu alabalığı filetolarına zeytinyağı nanoemülsiyonlarının dahil edilmesiyle TVB-N değerindeki artışların yavaş olduğu bildirilmiştir. Aynı şekilde Wu vd., (2016) turuncgil yağı nanoemülsiyonlarının, buzdolabında saklama sırasında *P. Argenteus* balığı kaslarının pH ve TVB-N değerlerindeki değişiklikleri baskıladığını ve böylece raf ömürlerini artırdığını ifade etmişlerdir. Elde ettiğimiz TVB-N değerleri çerçevesinde nanoemülsiyonların mikrobiyal büyüme üzerindeki inhibe edici etkileri olduğu ve azotlu bileşiklerin oluşumunu geciktirdiğine atfedilebilir. Bu sonuçlar farklı literatürlerle uyumlu bulunmuştur (Kyrana, vd., 1997; Yazgan vd., 2017).

Dondurulmuş ürünlerde, dondurma hızının TVB-N değeri üzerinde etkisinin önemini ifade eden birçok çalışma vardır (Liu vd., 2023; Hong vd., 2013; Goncalves ve Ribeiro, 2008). Cai vd., 2014, Japon levreğinin (*Lateolabrax japonicas*) kalitesi üzerinde farklı dondurma işlemlerinin etkilerini inceldikleri bir çalışmada levrek filetoları, buzdolabında depolamadan önce -18 °C'de (T1), -55 °C'de 24 saat ve ardından -18 °C'de (T2), -55 °C'de (T3) 3 ay depolanmışlardır. Çalışma sonunda T3 grubunun tüm uygulamalarda en düşük TVB-N, pH değeri ve damla kaybını gösterdiğini ve daha az mikrobiyolojik büyüme ve biyojenik amin konsantrasyonunu koruduğunu vurgulamışlardır. Depolamanın 16. gününde T1 grubunun TVB-N değerinin 25,52 mg N/100 g olarak tespit etmişlerdir. Bu

kapsamda yavaş dondurmanın hücrelere hasar veren ve besin bileşiminin sızmasına neden olan büyük buz kristallerinin meydana gelmesiyle ilişkilendirmişlerdir.

Su ürünleri kalitesi üzerinde dondurma hızının etkisinin çalışıldığı sıvı azotla hızlı dondurma (S1), -35 °C hava üflemeli dondurma (S2) ve -18 °C buzdolabında (S3) doğrudan dondurmanın dondurulmuş dev tatlı su karideslerinin kalitesinin korunması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Taze karides için başlangıçtaki TVB-N içeriği $7,54 \pm 0,43$ mg N/100 g olduğunu ve gruplarda S1, S2 ve S3 için sırasıyla $16,75 \pm 1,30$, $30,06 \pm 2,07$ ve $31,93 \pm 0,96$ mg N/100 g olarak artış gösterdiği sonucuna varmışlardır. Böylece hızlı dondurma işleminin özellikle sıvı azotlu hızlı dondurmanın (S1) karides kalitesinde diğer gruplara göre daha olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Yu vd., 2018).

4.4.8. Miyofibril Parçalanma İndeksi (MFI) Bulgularının Değerlendirilmesi

Miyofibril parçalanma indeksi değeri, kas yapısında bulunan miyofibrillerin yapısal bütünlüğünün deformasyonunun göstergesidir. Üründe MFI değeri ne kadar yüksekse, miyofibrillerin iç yapısının bütünlüğünün çok daha fazla bozulduğunun ifadesi anlamına geldiği bilinmektedir (Kara vd., 2024). Literatürde dondurulmuş depolama sırasında, meydana gelen hem buz kristallerinin hem de lipid ve protein oksidatif reaksiyonunun dokuya zarar verdiği ve miyofibrillerin parçalandığı sonuç olarak MFI değerini arttırdığına dair bilgiler mevcuttur (Xie vd., 2021; Lv ve Xie, 2021; Jiang vd., 2022; Qui vd., 2022). Su ürünlerinde işleme ve depolama yöntemine bağlı olarak artan MFI değerini azaltmaya yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bir grup araştırmacının kör burunlu çipura (*Megalobrama amblycephala*) filetolarının korunması amacıyla ürettiği balık jelatini-biberiye esansiyel yağına dayalı doğal bir nano yenilebilir kaplamanın etkilerini araştırmışlardır. Bu kaplamanın bozulmaya sebebiyet veren protein ve lipid oksidasyonunun bir göstergesi olan MFI değerinin kaplama ile muamele edilmiş grubun (CT) kontrol grubuna (CK) kıyasla daha düşük seviyede olduğunu belirtmişlerdir. Bu kapsamda MFI değerinin CT grubunda yavaş artışı kaplamanın protein ve miyofibril bozunmasını etkili bir şekilde engelleyebileceğini ve iç yapısal bütünlüğü koruduğuna yönelik ifade etmişlerdir (Kang vd., 2024). Elde ettiğimiz bulgularımızda ise MFI değeri taze alabalık filetosunda $26,81 \pm 0,51$ olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince tüm

gruplara artış gözlenmiştir. Fakat bu artış yavaş dondurulan filetoları içeren 20C ve 20N gruplarında hızlı dondurulan filetolara göre yüksek belirlenmiş depolamanın son ayında 20C’de $159,37 \pm 1,3$, 20N’de $125,70 \pm 1,57$ olarak tespit edilmiştir. Bu durumun sebebi, buz kristalleri yavaş donma hızı nedeniyle büyük ve düzensiz yapılar oluşturmuştur ve bu da dondurulmuş depolama sırasında buz kristallerinin sürekli büyümesine yol açarak kas liflerinde hasara ve önemli parçalanmaya neden olduğu olarak düşünülmüştür. Miyofibrillerin muhafaza süresince kademeli olarak denatüre olduğu ve dondurulmuş depolama sıcaklığının düşürülmesinin denatürasyonu önemli ölçüde engelleyeceği bilinmektedir (Tao vd., 2020). Bu çalışmada da dondurma hızının myofibrillerin deformasyonu üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca MFI değerindeki artışın, MP sarkomerinin I bandındaki miyonektin ve eşlik eden aktinin parçalanmasından kaynaklandığı ve MP’lerin parçalanmasının miyofibril içerisinde yer alan sarkomerleri birbirine bağlayan Z çizgisine yakın bütünlüğün bozulmasının bir sonucu olduğu çalışmalarda mevcuttur (Lan vd., 2022).

Çalışmada elde edilen MFI değerlerinin nanoemülsiyon uygulanan gruplarda (20N ve 40N) kontrol gruplarına göre (20C ve 40C) daha düşük seviyelerde olduğu ve nanoemülsiyon ile muamelenin MP’lerin bütünlüğü üzerinde açıkça olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Qiu vd., 2022, yaptıkları çalışmada farklı dondurma yöntemlerinin Kırmızı davul balığı (*Sciaenops ocellatus*) kalitesi, mikro hava dondurma (AF), daldırma dondurma (IF) ve farklı ultrason destekli daldırma dondurma (UIF-150w, UIF-200w, UIF-250w) yöntemlerini balıkta uygulamışlardır. Bu kapsamda tüm gruplara ait MFI değerinin depolama süresince arttığını fakat hızlı dondurma yöntemi olan UIF-200 W grubundaki dondurulmuş balık örneklerinde diğer gruplara kıyasla daha düşük MFI değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak hızlı dondurma yöntemlerinin kas kalitesinin korunmasında dolayısıyla yüksek protein stabilitesinin olduğunu bildirmişlerdir.

Ultrason destekli dondurma (UF) dondurulmuş miyofibrillerin işlevsel özellikleri üzerindeki etkisini ortaya koymak için Sun vd., (2020), AF, hava dondurma; IF, daldırma dondurma; farklı güç seviyelerinde UF (125, 150, 175, 200 ve 225 W) ile dondurulmuş ortak sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) MP’nin işlevsel özelliklerinde (emülsifiye edici

ve jel özellikleri) meydana gelen değişiklikleri araştırmışlardır. UF-175 gruplardaki balıkların diğer dondurulmuş balık örneklerine kıyasla daha yüksek jel mukavemetine, su tutma kapasitesine ve dolayısıyla daha düşük MFI seviyesine sahip olduğunu bildirmiş ve sazan miyofibrillerinin stabilitesini koruduğunu böylece iyileştirilmiş işlevsel özellikleri elde edileceğini ifade etmişlerdir.

Wan vd., 2023, tekrarlanan dondurma çözündürme (FT) işlemine tabii tutukları aynalı sazan balığının kas proteinlerinin oksidasyonu ve bozunması üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada beş kez tekrarlanan dondurma çözündürme işleminden sonra, aynalı sazanın MFI değeri 12,8'den 92,2'ye önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Bu artışı FT işlemi sırasında oluşan hücre dışı büyük buz kristallerinin hücre yapısını tahrip etmesi ve kas liflerini yırtmasıyla ilişkilendirilebileceğini sonuç olarak miyofibril parçalarının sayısını artırttığını ifade etmiştir.

4.4.9. Karbonil Konsantrasyonu Bulgularının Değerlendirilmesi

Dondurma yönteminde protein oksidasyonu yavaş ilerleyen bir süreç olup etin rengini, su tutma özelliğini, dokusunu ve besin değerini etkilemektedir (Bao vd., 2021). Proteinlerin oksidasyonu, protein hidrofobisitesinde, konformasyonunda ve çözünürlüğünde değişikliklere ve protein substratlarının proteolitik enzimlere karşı duyarlılığının değişmesine neden olur (Chevalier vd., 2000). Protein oksidasyonu protein çapraz bağlanmasına ve agregasyonuna neden olur, bunun sonucunda karbonil ve disülfür bağlarında artış, aktif sülfidril gruplarında azalma ve protein çözünürlüğü gibi işlevsellik kaybı meydana gelir. Bu proteinlerin mekansal konfigürasyonunda ve gruplarında meydana gelen değişiklikler su ürünlerinin yenilebilir ürün kalitesini ve kasların su tutma kapasitesini etkiler (Zhu vd., 2022). Protein oksidasyonu sırasında amino asit yan zincir grupları karbonil türevleri oluşturur. Bu nedenle, karbonil bileşikler ve serbest aminler protein oksidasyon düzeyini gösteren önemli belirteçlerdir (Pan vd., 2021). Karbonil gruplarının tespiti protein oksidasyonunu tespit etmek ve ölçmek için en yaygın yöntemlerdir (Dalsgaard vd., 2014; Hematyar vd., 2019).

Mevcut çalışmada taze alabalık filetosuna ait karbonil konsantrasyonu $2,13 \pm 0,06$ mmol/mg olarak bulunmuştur. Bu değer depolama süresince tüm gruplarda grup içinde

dalgalanmalar göstermesine rağmen hepsinde kademeli olarak artmıştır. Depolamanın son ayında (6. ayda) karbonil konsantrasyonu 20C, 20N, 40C ve 40N grupları için sırasıyla $3,86\pm0,19$, $3,38\pm0,27$, $3,30\pm0,11$ ve $3,02\pm0,15$ mmol/mg olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$). En yoğun karbonil konsantrasyonu yavaş dondurma gruplarında 20C ve 20N’de tespit edilmiştir. Dondurulmuş muhafaza gıdanın lezzet, renk ve besin değeri gibi kalite kriterlerini koruduğu için en çok tercih edilen muhafaza yöntemlerinin başında gelmektedir. Fakat dondurma sürecinde hücreler arası oluşan buz kristallerinin oluşumu dondurma hızına bağlı olarak dondurulmuş ürünlerin kalitesini etkilemektedir. Hızlı dondurmada küçük ve düzgün dağılmış kristaller hücre dokularına ve protein yapısına daha az zarar verirken yavaş dondurmada meydana gelen büyük ve düzensiz buz kristalleri gıda kalitesini daha çok düşürmektedir. (Zhu, vd., 2019; Li, ve Sun, 2002; Kaale, vd., 2013; Xue, vd., 2015; Hou, vd., 2020). Çalışmada da bu durum yavaş dondurma hızına tabii tutulan 20C ve 20N gruplarında açıkça görülmektedir. Hızlı dondurmaya tabii tutulan gruplarda ise konsantrasyon daha düşük olmasına rağmen kaliteye etki eden buz kristallerinin nanoemülsiyon uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu ve nanoemülsiyonun pozitif etki ettiği gözlenmiştir. Uygulama gruplarında lipit ve proteinlerde oksidatif hasar da gözlenmiş ve yavaş dondurma sıcaklıklarında protein karbonilasyonunda önemli bir artış belirlenmiştir. Lipid oksidatif ürünleri protein oksidasyon bozunmasını yönlendirir ancak lipid oksidasyonu ve protein oksidasyonu bağımsız olarak veya paralel olarak meydana gelebilir. Protein oksidasyonu sırasında karbonil bileşikler oluşur ve bazı amino asitlerin (lizinin, histidin, prolin ve arginin gibi) bazı yan zincirleri karbonilasyon sürecinde önemli rol oynar (Lu vd., 2017; Qi vd., 2022). Çalışmamızda da literatür verileriyle benzer bir şekilde karbonil konsantrasyonunun sıcaklığa bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.

4.4.10. Sülfhidril Gruplarının ve Disülfid Bağlarının Belirlenmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Protein oksidasyonun göstergelerinden biri miyofibril proteinlerin iç yapısında yer alan sülfhidril gruplarının redüksiyonudur. Sülfhidril grupları, kovalent disülfür bağlarına kolayca oksitlenerek protein çapraz bağlanmasına yol açan miyofibriller proteinlerin

önemli fonksiyonel gruplarıdır. Miyozin ve aktin, moleküller arası ve molekül içi oksidasyon tarafından saldırıya uğradıktan sonra disülfür bağlarına dönüştürülecek olan tiyol grupları bakımından zengindir (Wang vd., 2022).

Mevcut çalışmada taze alabalık filetosunun sülfidril içeriği $12,45 \pm 0,64 \mu\text{mol/mg}$ protein iken, depolamanın 1. ayında 20C, 20N, 40C ve 40N gruplarında sırasıyla $7,89 \pm 0,13$, $8,47 \pm 0,12$, $8,96 \pm 0,15$ ve $9,78 \pm 0,28 \mu\text{mol/mg}$ proteine düşmüştür. Depolama sırasında sülfidril miktarlarında 1. aydan itibaren bir azalma gözlenmiştir. Depolamanın son ayında ise maximum azalış $6,05 \pm 0,13 \mu\text{mol/mg}$ 20C grubunda minimum azalış ise $6,83 \pm 0,754 \mu\text{mol/mg}$ 40N grubunda gözlenmiştir ($p < 0,05$). Çalışmamızda MP'lerde sülfidril içeriğinin yavaş dondurma hızına ve nanoemülsiyon ile muamele edilmeyen gruplarda azalmasının, miyozinin parçalanması sonucu proteinin mekansal yapısında değişikliklere yol açarak gömülü sülfidril gruplarının açığa çıkmasına ve oksidasyonuna neden olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Kükürt içeren amino asitlerin sülfidril veya sistein kalıntıları, reaktif oksijen türleri tarafından kolayca oksitlenebildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Zhang vd., 2020; Orqueda, vd., 2022). Bu kapsamda nanoemülsiyon ile muamele edilen grupların 20N ve 40N kontrol gruplarına göre minimum azalışı antioksidan özellikli aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağı içerikli nanoemülsiyonun ortamdaki reaktif oksijen türlerini azalttığını ve dolayısıyla sülfidril gruplarının sayısını koruduğunun göstergesi olduğu kaanatine varılmıştır ki bu durum TBA değerleri ile uyumludur.

Lan vd., (2022) soğuk depolama sırasında farklı buz uygulamalarının (buz (SI), hafif asidik elektrolize su-buz (SAEW-SI), bambu yapraklarının antioksidanları-buz (AOB-SI) ve bambu yapraklarının antioksidanlarıyla birleştirilmiş hafif asidik elektrolize su-buz (SA-SI)) uskumru balığının (*Pneumatophorus japonicus*) protein özellikleri ve kalitesi üzerindeki etkisi değerlendirdikleri bir çalışmada da bambu yapraklarının antioksidanlarıyla birleştirilmiş hafif asidik elektrolize su içeren buz kullanımının uskumrudaki soğuk depolama sırasında miyofibriler protein (oksidasyon ve protein yapısı dahil) ve uskumru kalitesi üzerine olumlu etkisinden bahsetmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise gökkuşağı alabalık filetoalarını kitosanla (KG, %1, w/w), asetik asitle (AG, %1, w/w) ve su ile (SG) glazeli ve glazesiz kontrol (K) grupları şeklinde

ve -18 °C'de 6 ay depolamışlardır. Donmuş depolama sırasında toplam sülfidril miktarlarındaki değişim incelendiğinde, glazesiz kontrol örneklerinde depolama süresinin uzamasıyla en fazla azalmanın meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Bu kapsamda glazelemenin bu oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu ve özellikle kitosanla glazelemenin bu etkiyi daha da arttırdığını bildirmişlerdir (Turan, 2011).

Sun vd., (2021), ultrasonik dondurma (UF), hava dondurma (AF) ve daldırma dondurma (IF) yöntemini kullanarak depoladıkları sazan balığının (*Cyprinus carpio*) miyofibriler protein oksidasyonu ve jel özellikleri üzerindeki etkisi araştırdıkları çalışmada, UF ile dondurmanın diğer dondurma yöntemlerine göre hızlı bir dondurma yöntemi olması sonucu düzgün buz kristallerinin oluşumu dondurulmuş kaslarda daha az hasar verdiği ve depolama sırasında proteinin oksidasyonun göstergesi olan sülfidril gruplarında daha az bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Zhou vd., (2021), Pelajik bir balık türü olan uskumrunun -20 °C derin dondurucu şartlarında muhafaza süresince kalitesini korumak için dondurucu sıcaklığı -30 °C olarak seçilen dört farklı yöntem olan dondurma (RF), hızlı dondurucu dondurma (QF), spiral tünel dondurma (SF) ve plaka dondurma (PF) kullanarak dondurmuşlar ve uzun dondurma süresi ve numunelerin kas aralıklarında büyük buz kristallerinin oluşması nedeniyle olduğu PF grubunun sülfidril içeriğinin çok hızlı bir şekilde protein denatürasyonunu önemli ölçüde engelleyen SF grubunda ise sülfidril içeriğinin daha yavaş şekilde azalttığını bildirmişlerdir.

Dondurulmuş depolama süresince oluşan buz kristalleri kas yapısında bulunan miyofibrillerinin bütünlüğüne zarar vermekle birlikte ve protein yapısındaki boşlukları genişlemesine, hücre arası boşluklarda çözünen maddelerin konsantrasyonunun, ozmotik stresin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun artmasına neden olur. Böylece sülfidril gruplarının oksidasyonunun bir sonucu olarak disülfür bağlarının artışı gözlenir (Zheng, vd., 2021; Li, vd., 2019; Gao vd., 2019).

Mevcut çalışmada tüm gruplarda sülfidril grupların azalışına paralel olarak disülfür bağlarında artış gözlenmiştir. Çünkü sülfidril gruplarının, disülfür bağları oluşturmak üzere oksitlenebildiği bilinmektedir (Seo vd., 1997). Başlangıçta $4,10 \pm 0,16$ (taze) olan disülfür bağlarının miktarı 1. aydan itibaren 6. aya kadar artış göstermiştir. Son

ayda 20C grubunda $8,29 \pm 0,29$, 20N grubunda $7,78 \pm 0,02$, 40C grubunda $7,31 \pm 0,26$ ve 40N $7,05 \pm 0,46$ olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Protein oksidasyonu ne kadar çoksa sülfidril konsantrasyonunun değeri o kadar az disülfür bağlarının miktarı ise o kadar çoktur. Çalışma verileri doğrultusunda molekülün iç kısmında açığa çıkan sülfidril gruplarının, disülfidit bağları oluşturmak üzere oksitlendiği ve bunun da depolamanın son döneminde (6.ay) sülfidril içeriğinde bir azalışa ve disülfür bağlarında bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Nanoemülsiyon ilave edilmiş gruplarda (20N ve 40N) disülfür bağ miktarının daha az oluşu nanoemülsiyon içeriğindeki antioksidan özellikli aloe vera jel ve kenevir tohumu yağından ileri geldiği belirlenmiştir. Bu çalışma verileri ile Li vd., (2024)'nin soğutulmuş aynalı sazan filetosunda oksidatif kararlılığı ve kaliteyi arttırmaya yönelik hazırladıkları antioksidan özellikli kitosan/karanfil esansiyel yağı nanoemülsiyon film çalışmalarına ait verilerle paralellik göstermektedir.

4.5. Genel Değerlendirme ve Öneriler

Su ürünleri, dünya çapında büyük ölçüde ana protein kaynağı olarak tüketilmektedir. Benzer şekilde, bu son derece besleyici olan balık eti bozulmaya karşı da oldukça hassastır, bu da ürünün piyasa değerini önemli ölçüde azaltmaktadır ve işletmecilerde mali zararlara neden olabilmektedir. Mikrobiyal ve oksidatif aktivite, balık etinin bozulmasından ve raf ömrünün azalmasından sorumludur.

Balık etinin bozulmasını engellemek için su ürünleri işleme endüstrilerinde dondurulmuş muhafaza gibi geleneksel yöntemlerin dışında kimyasal ve doğal koruyucular yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde, tüketici bilinci nedeniyle, daha fazla endüstri sentetik katkı maddelerinden doğal koruyuculara geçmektedir. Ancak, doğal koruyucuların doğrudan gıda sistemine uygulanması, bileşiğin çözünürlüğü, kararlılığı ve biyo-verimliliği dahil olmak üzere çeşitli zorluklara sahiptir. Bu nedenle, son araştırmalar doğal bileşiklerin kararlılığını, fiziko-kimyasal özelliklerini ve biyoaktivitelerini iyileştirmek için nanoteknolojinin uygulanmasına odaklanmıştır. Bu bağlamda, nanoemülsiyon formülasyonu doğal biyoaktif bileşiklerin fiziko-kimyasal özelliklerini ve biyoaktivitelerini başarıyla geliştirmiştir. Bu biyoaktif bileşiklere dayalı

nanoemülsiyonlar doğrudan balık etine uygulanabildiği gibi nanoemülsiyona dayalı yenilebilir kaplamalar şeklinde de uygulanabilir.

Sonuç olarak, mevcut tez çalışması farklı oranlarda hazırlanan bitkisel katkı (aloe vera jeli ve kenevir tohumu yağı) nanoemülsiyonların karakterizasyonu ve uygun bulunan nanoemülsiyon formülasyonu ile kaplanan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının hızlı/yavaş dondurmaya (-20, -40 °C'de) tabii tutulduktan sonra bitkisel katkı nanoemülsiyon uygulaması ile protein oksidasyon süreci ve et kalite değişimleri üzerindeki etkilerine odaklanmıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler ilk kez aloe vera jeli-kenevir tohumu yağı ile zenginleştirilmiş nanoemülsiyondan elde edilen kaplamanın hızlı ve yavaş dondurmada alabalık filetolarında kaliteye etkisinin yorumlanmasında etkili olabilecek çoklu parametrelerle aydınlatılmıştır.

Çalışmanın birinci başmağında yer alan AVG ve HSO katkı nanoemülsiyon formülasyonların karakterizasyon analiz bulgularına göre tüm formülasyonlar nanoemülsiyona ait karakteristik özellikler gösterdiği fakat sadece HA8 (%3 AVG ve %5 HSO) formülasyonunun düşük PDI (0,17) özelliği ve TEM analizi sonucu daha homojen yapı göstermesi sebebiyle kaplama için optimum formülasyon olarak kullanılmıştır.

Balıkların dondurularak depolanması sırasında protein oksidasyonu önemli kalite kayıplarına neden olmaktadır. Donmuş depolama sırasında üründe meydana gelen bu kalite kaybını önlemek veya geciktirmek amacıyla antioksidan muamelesi yapılmaktadır. Bu çalışmada doğal antioksidanlardan olan bitkisel kaynaklı kenevir tohumu yağı ve aloe vera jeli bu amaçla kullanılmıştır. Kullanılan nanoemülsiyon kaplamanın kontrol grubuna kıyasla duyuşal, fiziksel ve kimyasal kaliteyi koruduğu görülmüştür. pH, TVB-N ve TBA değerleri üzerine yapılan nanoemülsiyon uygulamasının hızlı dondurmaya tabii tutulmuş gruplarda (40C ve 40N) yavaş dondurulmuş gruplara göre (20C ve 20N) daha pozitif etki gösterdiği tespit edilmiş olup ayrıca tüm gruplarda bu parametrelerdeki limit değerlerin depolama süresince aşılmadığı ortaya koyulmuştur. Protein oksidasyonunun belirteci olan karbonil miktarı, sülfidril grupları ve disülfid bağlarının miktarı incelendiğinde nanoemülsiyon ve hızlı dondurma uygulanmış grupta (40N) yapılan uygulamanın diğer gruplara (20C, 20N ve 40C) kıyasla olumlu yönde etkili olduğu gözlenmiştir.

En nihayetinde bu çalışma ile;

1. Gelecek araştırmalarda çalışmamızda kullanılan kenevir tohumu yağı ve aloe vera jelinin yerini tutabilecek farklı bitkisel kaynaklarla hazırlanacak nanoemülsiyonların, farklı balık türleri veya diğeri işlenmiş su ürünleri üzerine kaliteye etkileri araştırılabilir.
2. Birçok sektörde popöler kullanımı olan nanoteknolojinin gıda alanında özellikle su ürünleri alanında da geniş bir yelpazede kullanımına yönelik bilimsel çalışmaların artmasının gerektiğini düşünölmektedir.
3. İleriye yönelik çalışmalarda elde edilen nanoemülsiyon kaplamanın insan sağığı üzerindeki olası olumsuz etkileri test etmek için in vitro ve in vivo yöntemlerinin kombinasyonunu kullanan çalışmaların ortaya koyulması gerektiğı öngörölmektedir.
4. Dondurarak muhafaza sırasında protein oksidasyon mekanizmasının aydınlatılmasının, su ürünlerinde oksidatif hasarın daha iyi kontrol edilmesine ve ürün kalitesini iyileştirmeye yardımcı olduğı düşünölmektedir.

KAYNAKÇA

- Abbas, M. M. M., Shehata, S. M., Talab, A. S., & Mohamed, H. (2021). Research on effect of natural additives on the quality attributes of cultivated common carp fillets during frozen storage. *Journal of Fisheries Sciences*, 15(2), 7-17.
- Abraha, B., Admassu, H., Mahmud, A., Tsighe, N., Shui, X. W., & Fang, Y. (2018). Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. *MOJ Food Process Technol*, 6(4), 376-382.
- Abdou, E. S., Galhoum, G. F., & Mohamed, E. N. (2018). Curcumin loaded nanoemulsions/pectin coatings for refrigerated chicken fillets. *Food Hydrocolloids*, 83, 445-453.
- Açıl, A. F., & Demirci, R. (1984). Tarım ekonomisi dersleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Adams, S. M., & Standridge, J. B. (2006). What should we eat? Evidence from observational studies. *Southern Medical Journal*, 99(7), 744-749.
- Adıgüzel, F., & Akay, M. (2005). Tokat ilinde gökkuşuğu alabalık işletmelerinin ekonomik analizi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 2005(2), 31-40.
- Ahari, H., & Naeimabadi, M. (2021). Employing nanoemulsions in food packaging: shelf life enhancement. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 858-883.
- Ahmad, N., Ahmad, R., Al-Qudaihi, A., Alaseel, S. E., Fita, I. Z., Khalid, M. S., & Pottoo, F. H. (2019). Preparation of a novel curcumin nanoemulsion by ultrasonication and its comparative effects in wound healing and the treatment of inflammation. *RSC advances*, 9(35), 20192-20206.
- Ajayeoba, T. A., Kaka, O. M., & Ajibade, O. A. (2020). 7 Microbial food spoilage of selected food and food products. *Food Science and Technology: Trends and Future Prospects*, 173. <http://doi.org/10.1515/9783111013107-007>
- Akköse, A. 2017. “Effect of freezing/thawing process on salting kinetics and thermal properties of beef“. *CyTA-Journal of Food*, 15(3), 418-424.
- Alaca, K., Bayrak, N., Akyol, N., Baştürk, A. 2021. “Gıda Sektöründe Kullanılan Nanoteknoloji Uygulamaları, Nanogıdaların Güvenliği ve Nanoemülsiyon Tekniği”. *Uluslararası Gıda Tarım Ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 1(1), 19-30.
- Alak, G., Kara, A., Akköse, A., Gelen, S. U., Tanas, Ş. T., Uçar, A., & Atamanalp, M. (2024). Effect of climate change on fillet quality and shelf-life of *Oncorhynchus mykiss* under controlled conditions. *Journal of the Science of Food and*

Agriculture, 104(3), 1511-1520.

- Alçıçek, Z., Zencir, Ö., Çelik Çakiroğulları, G., & Atar, H. H. (2010). The effect of liquid smoking of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) fillets on sensory, meat yield, polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content, and chemical changes. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 19(3-4), 264-273.
- Ali, E. M., Almagboul, A. Z., Khogali, S. M., & Gergeir, U. M. (2012). Antimicrobial activity of *Cannabis sativa* L. *Chinese Medicine*, 3(1), 61-644. <http://doi.org/10.4236/cm.2012.31010>
- Alp, A., & Çaklı, Ş. (2023). Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Yetiştiriciliğinde Sabit Su Sıcaklığında Farklı Yemleme Yüzdelelerinin İç Organ Yüzdesi ve Füme Verimliliği Üzerindeki Etkisi. *Food Bulletin*, 2(2), 44-52.
- Amanatidou, E., Adamidou, K., Trikoilidou, E., Katsiouli, F., Patrikaki, O., Tsikritzis, L. 2007. "Physicochemical and microbiological characteristics of the potable water supply sources in the area of Kozani, Western Macedonia". *Desalination*, 213(1-3), 1-8.
- Anderson, B. A., Sun, S., Erdogdu, F., Singh, R. P., 2004. "Thawing and freezing of selected meat products in household refrigerators". *International Journal of Refrigeration*, 27(1), 63-72.
- Anwer, I., Abbas, F., Hafeez-ur-Rehman, M., Nadeem, M., Khalil, M., Butt, M., & Inayat, M. (2021). Nanoemulsion of Virgin Rapeseed and Sesame Oil improve Oxidation Stability and Sensoric acceptability of Vacuum Packed Fish Fillets. *Research Square*. doi.org/10.21203/rs.3.rs-152180/v1
- Aswathanarayan, J. B., & Vittal, R. R. (2019). Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3(95). <http://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00095>
- Atalay, D., & Erge, H. S. (2018). Gıda takviyeleri ve sağlık üzerine etkileri. *Food and Health*.
- Aydın, A. (2000). Erzurum İli Sınırları İçerisinde Projelendirilmiş Olarak Faaliyet Gösteren Alabalık İşletmelerinin (21 Adet) Yapısal ve Ekonomik Analizi. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Azmi, N. A. N., Elgharbawy, A. A., Salleh, H. M., & Moniruzzaman, M. (2022). Preparation, characterization and biological activities of an oil-in-water nanoemulsion from fish by-products and lemon oil by ultrasonication method. *Molecules*, 27(19), 6725.

- Babadoğan, G. (1998). Su ürünleri sektör araştırması. Dış Ticaret Müsteşarlığı, İhracatı Geliştirme Etüd Müdürlüğü. Ankara, 45s.
- Bao, Y., Ertbjerg, P., Estévez, M., Yuan, L., & Gao, R. (2021). Freezing of meat and aquatic food: Underlying mechanisms and implications on protein oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6), 5548-5569.
- Başer, U., & Bozoğlu, M. (2020). Türkiye'nin kenevir politikası ve piyasasına bir bakış. *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 6(2), 127-135.
- Başığit Kılıç, G., Bilecen Şen, D., Alnakdalı, D., Gülşen, M. (2020). Aloe Vera'nın Gıda Endüstrisinde Kullanımı. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 8(1), 326-332. <http://doi.org/10.21923/jesd.561600>
- Bekhit, A. E. D. A., Holman, B. W., Giteru, S. G., & Hopkins, D. L. (2021). Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 280-302.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Thongkaew, C., & Tanaka, M. (2003). Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. *Food research international*, 36(8), 787-795.
- Benzidia, B., Barbouchi, M., Hammouch, H., Belahbib, N., Zouarhi, M., Erramli, H., ... & Hajjaji, N. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of tannins extract from green rind of Aloe vera (L.) Burm. F. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 1175-1181.
- Behrend, O., Ax, K., & Schubert, H. (2000). Influence of continuous phase viscosity on emulsification by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7(2), 77-85.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 37, 911-991. <http://dx.doi.org/10.1139/o59-099>.
- Bolger, Z., Brunton, N. P., & Monahan, F. J. (2018). Impact of inclusion of flaxseed oil (pre-emulsified or encapsulated) on the physical characteristics of chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 230, 39-48.
- Boudreau, M. D., & Beland, F. A. (2006). An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (miller), *Aloe vera*. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 24(1), 103-154.
- Bourne, M. C. 1978. "Texture profile analysis". *Food Technology*, 32, 62-66.

- Bozkurt, S., Altay, Ö., Koç, M., & Ertekin, F. K. (2023). Gıda Sistemlerinde Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 11(1), 1-9.
- Bozzi, A., Perrin, C., Austin, S., & Vera, F. A. (2007). Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. *Food chemistry*, 103(1), 22-30.
- Cai, L., Wu, X., Li, X., Zhong, K., Li, Y., & Li, J. (2014). Effects of different freezing treatments on physicochemical responses and microbial characteristics of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 122-129.
- Castro, R. J. S., & Sato, H. H. (2015). Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Research International*, 74, 185-198.
- Chantrapornchai, W., Clydesdale, F., & McClements, D. J. (1998). Influence of droplet size and concentration on the color of oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 2914-2920.
- Chaudhary, S., Kumar, V., Sharma, V., Sharma, R., & Kumar, S. (2022). Chitosan nanoemulsion: Gleam into the futuristic approach for preserving the quality of muscle foods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 199, 121-137.
- Che Marzuki, N. H., Wahab, R. A., & Abdul Hamid, M. (2019). An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 33(1), 779-797.
- Chevalier, D., Sequeira-Munoz, A., Le Bail, A., Simpson, B. K., & Ghoul, M. (2000). Effect of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*): Evaluation of pressure shift freezing vs. air-blast freezing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(3), 193-201.
- Chuesiang, P., Ryu, V., & Siripatrawan, U. (2023). Effect of nanoemulsion to minimise undesirable odour and colour of cinnamon bark oil and to improve sensory properties of refrigerated Asian seabass fillets. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(1), 126-134.
- Cléach, J., Pasdois, P., Marchetti, P., Watier, D., Duflos, G., Goffier, E., Lencel, P. (2019). Mitochondrial activity as an indicator of fish freshness. *Food chemistry*, 287, 38-45.
- Codex International Food Standards (1989) Standard for quick frozen fish sticks (*fish fingers*), fish portions and fish fillets—codex stan 166. *FAO Codex Alimentarius* 6(2):3.

- Culler, R. D., Smith, G. C., Cross, H. R. (1978). "Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle". *Journal of food Science*, 43(4), 1177-1180.
- Curran, P. (1980). "Multispectral remote sensing of vegetation amount". *Progress in physical geography*, 4(3), 315-341.
- Çağlak, E., & Karşlı, B. (2020). Sıcak Dumanlama İşlemi Yapılmış Havuz Balığının (*Carassius carassius*, Linnaeus 1758) Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 1(2), 34-44.
- Çağlak, E., Karşlı, B., & Altıka, E. Ş. (2017). Investigation of Quality Change of Zander (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) Stored at $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ Applying Sous-Vide Technique in Different Temperature Combinations. *Aquaculture Studies*, 17(1), 71-81.
- Çorapçı, B. (2022). The effect of rosehip seed oil nanoemulsion on some physical, chemical, and microbiological properties of sea bass fillets stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 31(7), 672-685.
- Dalsgaard, T. K., Triquigneaux, M., Deterding, L., Summers, F. A., Mortensen, G., & Mason, R. P. (2014). Oxidation of α -lactalbumin after a lactoperoxidase-catalysed reaction: An oxidomics approach applying immuno-spin trapping and mass spectrometry. *International Dairy Journal*, 38(2), 154-159.
- Damodaran, S. (2008). Amino acids, peptides and proteins. *Fennema's food chemistry*, 4, 425-439.
- Dalvi-Isfahan, M., Hamdami, N., & Le-Bail, A. (2016). Effect of freezing under electrostatic field on the quality of lamb meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 68-73.
- Das, A. K., Nanda, P. K., Bandyopadhyay, S., Banerjee, R., Biswas, S., & McClements, D. J. (2020). Application of nanoemulsion-based approaches for improving the quality and safety of muscle foods: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(5), 2677-2700.
- Das, S. K., Vishakha, K., Das, S., & Ganguli, A. (2023). Study of gelatin and peppermint oil nanoemulsion coating against food-borne pathogens, as well as its effect on shrimp quality and preservation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 32(2), 142-157.
- Davila-Rodríguez, M., Lopez-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munigua, M. T. (2019). Antimicrobial activity of nanoemulsions of cinnamon, rosemary, and oregano essential oils on fresh celery. *Lwt*, 112, 108247.

- De Godoi, S. N., Quatrin, P. M., Sagrillo, M. R., Nascimento, K., Wagner, R., Klein, B., & Ourique, A. F. (2017). Evaluation of stability and in vitro security of nanoemulsions containing Eucalyptus globulus oil. *BioMed Research International*, 2017(1), 2723418.
- Demir, M., Karcı, A.(2006). Proteinlerin Peptit Bağ Açılarının Tahmininde Yapay Sinir Ağları Yönteminin Kullanılması.
- Debbarma, J. (2022). Spoilage indices of fish and shell fish. *Indian Technical and Economic Cooperation (ITEC) & ICAR-CIFT*.
- Dehghani, S., Hosseini, S. V., & Regenstien, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food chemistry*, 240, 505-513.
- Delbarre-Ladrat, C., Chéret, 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.
- Demircan, B., Ocak, Ö. Ö., 2019. “Gıda katkı maddelerinin yenilebilir film ve kaplamalar kullanılarak taşınmasının günümüzde ve gelecekteki uygulama potansiyeli”. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 130-150.
- Demisli, S., Mitsou, E., Pletsa, V., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2020). Development and study of nanoemulsions and nanoemulsion-based hydrogels for the encapsulation of lipophilic compounds. *Nanomaterials*, 10(12), 2464.
- Devi, P., Singh, J., Rehmaan, H., Kaushik, R. D., & Malik, M. K. Sustainable Antimicrobial Copolymer Nanoemulsion Of Aloe Vera and Allyl Alcohol: An In-Situ Approach (2022). *RASAYAN J.Chem.* 223-232. <http://10.31788/RJC.2022.1558179>.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E., Zhang, W., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Lorenzo, J. M. (2021). Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review. *Antioxidants*, 11(1), 60.
- Dong, Z., Luo, C., Guo, Y., Ahmed, I., Pavase, T. R., Lv, L., Lin, H. (2019). Characterization of new active packaging based on PP/LDPE composite films containing attapulgit loaded with Allium sativum essence oil and its application for large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 20, 100320.

- Douny, C., Tihon, A., Bayonnet, P., Brose, F., Degand, G., Rozet, E., Scippo, M. L. (2015). Validation of the analytical procedure for the determination of malondialdehyde and three other aldehydes in vegetable oil using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and application to linseed oil. *Food Analytical Methods*, 8, 1425-1435.
- Durmuş, M., Özoğul, Y., Köşker, A. R., Ucar, Y., Boğa, E. K., Ceylan, Z., & Ozogul, F. (2020). The function of nanoemulsion on preservation of rainbow trout fillet. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 895-904.
- Durmuş, M. (2020). The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, mandarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets at 4±2 °C. *Journal of Food Safety*, 40(1), e12718.
- Ekici, R. ve Yapar, A. (2004). Alabalıkların (*O.mykiss* W., 1792) donma ve çözündürme süreleri üzerine dondurma sıcaklığı ve hava sirkülasyonunun etkileri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1):61-68
- ElSohly, M. A., Radwan, M. M., Gul, W., Chandra, S., & Galal, A. (2017). Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. *Phytocannabinoids: unraveling the complex chemistry and pharmacology of Cannabis sativa*, 1-36.
- Ellman, G. L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70–77.
- Ergün, H. (2009). Su ürünleri tüketimi ve tanıtımı. *Aquaculture Studies*, 2.
- Ergür, N. Kurt üzümü ekstraktı ile zenginleştirilmiş chia tohumu müsilaajının alabalık (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) filetlarının kaplanmasında kullanımı ve raf ömrünün belirlenmesi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ertbjerg, P., & Puolanne, E. (2017). Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. *Meat science*, 132, 139-152.
- Eshun, K., & He, Q. (2004). Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries a review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 44(2), 91-96.
- Estévez, M., & Luna, C. (2017). Dietary protein oxidation: A silent threat to human health?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(17), 3781-3793.
- Falleh, H., Jemaa, M. B., Neves, M. A., Isoda, H., Nakajima, M., & Ksouri, R. (2021). Peppermint and Myrtle nanoemulsions: Formulation, stability, and antimicrobial activity. *Lwt*, 152, 112377.
- Fan, W., Chi, Y., & Zhang, S. (2008). The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf

- life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food chemistry*, 108(1), 148-153.
- FAO. (2018). Dünyada Balıkçılık ve Su Ürünleri Yetiştiriciliğinin Durumu. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
- FAO, (2023). FishStat Plus-Universal software for fishery statistical time series <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en> (Erişim tarihi: 10.05.2024).
- Farhoosh, R. (2021). Initiation and propagation kinetics of inhibited lipid peroxidation. *Scientific Reports*, 11(1), 6864.
- Fernandez, P., André, V., Rieger, J., & Kühnle, A. (2004). Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 251(1-3), 53-58.
- Frankel, E. N. (1984). Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(12), 1908-1917.
- Frimodt, C. (1995). Multilingual illustrated guide to the world's commercial warmwater fish (pp. xix+-215).Ergezer, H., Gökçe, R., Hozer, Ş., & Akcan, T. (2016). Et ve ürünlerinde protein oksidasyonu: etki mekanizması, tespit yöntemleri ve etkileri. *Akademik Gıda*, 14(1), 54-60.
- Fiorini, D., Molle, A., Nabissi, M., Santini, G., Benelli, G., & Maggi, F. (2019). Valorizing industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products: Cannabidiol enrichment in the inflorescence essential oil optimizing sample pre-treatment prior to distillation. *Industrial Crops and Products*, 128, 581-589.
- Foote, C. S. (1985). Chemistry of reactive oxygen species. *In Chemical Changes in Food During Processing* (pp. 17-32). Boston, MA: Springer US.
- Gao, W., Huang, Y., Zeng, X. A., & Brennan, M. A. (2019). Effect of soluble soybean polysaccharides on freeze-denaturation and structure of myofibrillar protein of bighead carp surimi with liquid nitrogen freezing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 839-844, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109041>.
- Gazolu-Rusanova, D., Lesov, I., Tcholakova, S., Denkov, N., & Ahtchi, B. (2020). Food grade nanoemulsions preparation by rotor-stator homogenization. *Food Hydrocolloids*, 102, 105579.
- Geromel, E. J., & Montgomery, M. W. (1980). Lipase release from lysosomes of rainbow trout muscle subjected to low temperature. *J Food Sci*, 45, 412-15.

- Getu, A., Misganaw, K., & Bazezew, M. (2015). Post-harvesting and major related problems of fish production. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 6(4).
- Gorjian, H., Mihankhah, P., & Khaligh, N. G. (2022). Influence of tween nature and type on physicochemical properties and stability of spearmint essential oil (*Mentha spicata* L.) stabilized with basil seed mucilage nanoemulsion. *Journal of Molecular Liquids*, 359, 119379.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques. *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), 859.
- Gharibzahedi, S. M. T., & Mohammadnabi, S. (2017). Effect of novel bioactive edible coatings based on jujube gum and nettle oil-loaded nanoemulsions on the shelf-life of Beluga sturgeon fillets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 769-777.
- Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13(1), 114-122.
- Gobantes, I., Choubert, G., Gómez, R. 1998. "Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4358-4362.
- Gökoğlu, N. (2002). Seafood Processing Technology. *Su Vakfi Publications, Book*, 157 p. (In Turkish).
- Gökoğlu, N. (2019). Novel natural food preservatives and applications in seafood preservation: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2068-2077.
- Goncalves, A. A., & Ribeiro, J. L. D. (2008). Optimization of the freezing process of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) previously treated with phosphates. *International Journal of refrigeration*, 31(7), 1134-1144.
- Gökoğlu, N., & Yerlikaya, P. (2015). Seafood chilling, refrigeration and freezing: science and technology. *John Wiley & Sons*.
- Gokoglu, N., & Ucak, I. (2020). Effect of freshness grade of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) on the quality of marinated product stored at 4° C. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 7(2), 54-59.
- Gutiérrez, J. M., González, C., Maestro, A., Solè, I. M. P. C., Pey, C. M., & Nolla, J. (2008). Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation.

Current opinion in colloid & interface science, 13(4), 245-251.

- Graves, S. M., & Mason, T. G. (2008). Transmission of visible and ultraviolet light through charge-stabilized nanoemulsions. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(33), 12669-12676.
- Hall, G. M. (Ed.). (2011). Fish processing: sustainability and new opportunities. *John Wiley & Sons*.
- Hartsel, J. A., Boyar, K., Pham, A., Silver, R. J., & Makriyannis, A. (2019). Cannabis in veterinary medicine: cannabinoid therapies for animals. *Nutraceuticals in veterinary medicine*, 121-155.
- Hassoun, A., & Çoban, Ö. E. (2017). Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 26-36.
- Hematyar, N., Rustad, T., Sampels, S., & Kastrup Dalsgaard, T. (2019). Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquaculture Research*, 50(5), 1393-1403.
- Hua, S. S., Du, W. X., Avena Bustillos, R., & McHugh, T. (2011). Novel approach to inhibit the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production by essential oil edible film. *In American Society for Microbiology General Meeting*.
- Huang, X., & Ahn, D. U. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food science and biotechnology*, 28(5), 1275-1285.
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat science*, 71(1), 194-204.
- Huss, H. H. (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Rome, Italy: FAO. <http://www.fao.org/3/v7180e/v7180e00.html>
- Hocaoğlu, A., Demirci, A. S., Gümüş, T., & Demirci, M. (2012). Effects of gamma irradiation on chemical, microbial quality and shelf life of shrimp. *Radiation Physics and Chemistry*, 81(12), 1923-1929.
- Holma K, Ayinsa, Maalekuu BK. Effect of traditional fish processing methods on the proximate composition of red fish stored under ambient room conditions (2013). *American Journal of Food and Nutrition*. 3:73–82. 20.
- Hong, H., Luo, Y., Zhou, Z., Bao, Y., Lu, H., & Shen, H. (2013). Effects of different freezing treatments on the biogenic amine and quality changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) heads during ice storage. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1476-

- Honikel, K. O. 1998. "Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat ". *Meat science*, 49(4), 447-457.
- Hou, Q., Cheng, Y. P., Kang, D. C., Zhang, W. G., & Zhou, G. H. (2020). Quality changes of pork during frozen storage: Comparison of immersion solution freezing and air blast freezing. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 109-118.
- Ikape, S. I. (2017). Fish spoilage in the tropics: A review. *Octa Journal of Biosciences*, 5(2).
- Islam, Z., Kokash, D. M., Babar, M. S., Uday, U., Hasan, M. M., Rackimuthu, S., ... & Nemat, A. (2022). Food security, conflict, and COVID-19: perspective from Afghanistan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(1), 21.
- Işık, A., Atamanalp, M., & Alak, G. (2020). Evaluation of antioxidant level and protein oxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during rigor and post-rigor. *Journal of Food Safety*, 40(1), e12746.
- Izraelov, M., & Silber, J. (2019). An assessment of the global food security index. *Food Security*, 11(5), 1135-1152.
- İlyasoğlu, H., & El, S. N. (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, yapıları ve kollodial salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *Gıda*, 35(2), 143-150.
- Jackson, V., & Penumetcha, M. (2019). Dietary oxidised lipids, health consequences and novel food technologies that thwart food lipid oxidation: An update. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(6), 1981-1988.
- Jamali, S., Pajohi-Alamoti, M. R., Sari, A., & Aghajani, N. (2023). Use of Aloe Vera-based Edible Coating Containing Nanoemulsion of Ginger Essential Oil to Extend Trout Fillet Shelf-life. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 18(1), 93-108.
- Jarzębski, M., Smulek, W., Siejak, P., Rezler, R., Pawlicz, J., Trzeciak, T., Fathordoobady, F. (2021). *Aesculus hippocastanum* L. as a stabilizer in hemp seed oil nanoemulsions for potential biomedical and food applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 887.
- Jia, G., Chen, Y., Sun, A., & Orlie, V. (2022). Control of ice crystal nucleation and growth during the food freezing process. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(3), 2433-2454.

- Jiang, S. T., & Lee, T. C. (2004). Freezing seafood and seafood products principles and applications. *Food Science And Technology-New York-Marcel Dekker*, 245-294.
- Jiang, Q., Gao, P., Liu, J., Yu, D., Xu, Y., Yang, F., & Xia, W. (2021). Endogenous proteases in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*): Changes and its impacts on texture deterioration during frozen storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 5824-5832.
- Jiang, Q., Yang, F., Jia, S., Yu, D., Gao, P., Xu, Y., & Xia, W. (2022). The role of endogenous proteases in degrading grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) myofibrillar structural proteins during ice storage. *Lwt*, 154, 112743.
- Jiang, J., Mei, Z., Xu, J., & Sun, D. (2013). Effect of inorganic electrolytes on the formation and the stability of water-in-oil (W/O) emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 429, 82-90.
- Joe, M. M., Chauhan, P. S., Bradeeba, K., Shagol, C., Sivakumaar, P. K., & Sa, T. (2012). Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20 C. *Food control*, 23(2), 564-570.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T., Nordtvedt, T. S., Bardal, T., & Kjærsvik, E. (2013). Ice crystal development in pre-rigor Atlantic salmon fillets during superchilling process and following storage. *Food Control*, 31(2), 491-498.
- Kabri, T. H., Arab-Tehrany, E., Belhaj, N., & Linder, M. (2011). Physico-chemical characterization of nano-emulsions in cosmetic matrix enriched on omega-3. *Journal of nanobiotechnology*, 9, 1-8.
- Kang, J., Zheng, R., Liao, G., Ji, S., Zhu, H., Xiong, S., & Liu, Y. (2024). The Preservation of Nano-edible Coating on Texture Stabilization of Blunt Snout Bream (*Megalobrama amblycephala*): Focus on Physicochemical Properties and Proteomics Analysis. *Food and Bioprocess Technology*, 1-18.
- Kanner, J., German, J. B., Kinsella, J. E., & Hultin, H. O. (1987). Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 25(4), 317-364.
- Kara, A., Akkose, A., Gelen, S. U., Uçar, A., Parlak, V., Kocaman, E. M., & Alak, G. (2024). A solution for fillet quality: Slaughter age's effect on protein mechanism and oxidation. *Heliyon*, 10(10).
- Kartal, C., Bakar, B., Türköz, B. K., & Ötleş, S. (2023). Gıda kaynaklı protein ve biyoaktif peptit eldesi, saflaştırılması ve karakterizasyonunda kullanılan güncel yöntemler ve biyoinformatik yaklaşımlar. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(2), 1-1.

- Kayalı, R., & Çakatay, U. (2004). Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35(2).
- Khedri, N., & Roomiani, L. (2019). Effects of zataria multiflora essential oil nanoemulsion on chemical, microbial and sensory properties of silver carp fillets. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 14(3), 63-74.
- Khalili Tilami, S., & Sampels, S. (2018). Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(2), 243-253.
- Kiani, H., & Sun, D. W. (2011). Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(8), 407-426;
- Kim, Y. B., Jeong, J. Y., Ku, S. K., Kim, E. M., Park, K. J., & Jang, A. (2013). Effects of various thawing methods on the quality characteristics of frozen beef. *Food Science of Animal Resources*, 33(6), 723-729.
- Kildaci, I., Budama-Kilinc, Y., Kecel-Gunduz, S., & Altuntas, E. (2021). Linseed Oil Nanoemulsions for treatment of Atopic Dermatitis disease: Formulation, characterization, in vitro and in silico evaluations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102652.
- Kılıç, B., Şimşek, A., Claus, J. R., & Atılğan, E. (2014). Encapsulated phosphates reduce lipid oxidation in both ground chicken and ground beef during raw and cooked meat storage with some influence on color, pH, and cooking loss. *Meat science*, 97(1), 93-103.
- Kılınç, B., & Çaklı, Ş. (2001). Paketleme Tekniklerinin Balık ve Kabuklu Su Ürünleri Mikrobiyal Florası Üzerine Etkileri. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(1).
- Kontominas, M. G., Badeka, A. V., Kosma, I. S., & Nathanailides, C. I. (2021). Innovative seafood preservation technologies: Recent developments. *Animals*, 1(1), 92.
- Korkmaz, K. (2022). Determination of Proximate Composition and Fatty Acid Profiles of Commercial Fish Feeds. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 7(2), 184-190.
- 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 & Technology*, 32(4), 339-347.
- Lee, J., Kim, H., Choi, M. J., & Cho, Y. (2020). Improved physicochemical properties of pork patty supplemented with oil-in-water nanoemulsion. *Food Science of Animal Resources*, 40(2), 262.

- Lan, W., Du, J., Liu, L., Pu, T., Zhou, Y., & Xie, J. (2022). SA-SI treatment: A potential method to maintain the quality and protein properties on mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) during chilling storage. *Food and Bioprocess Technology*, 15(7), 1603-1614
- Li, P. H., & Chiang, B. H. (2012). Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(1), 192-197.
- Li, J. M., & Nie, S. P. (2016). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food hydrocolloids*, 53, 46-61.
- Li, B., & Sun, D. W. (2002). Novel methods for rapid freezing and thawing of foods—a review. *Journal of Food Engineering*, 54(3), 175-182;
- Li, J., Liang, R., Mao, Y., Yang, X., Luo, X., Qian, Z., & Zhu, L. (2022). Effect of dietary resveratrol supplementation on muscle fiber types and meat quality in beef cattle. *Meat Science*, 194, 108986.
- Li, Y., Rui, L., Zhang, H., & Xia, X. (2024). Enhanced oxidative stability and quality of chilled mirror carp fillet using an antioxidant film of chitosan/clove essential oil nanoemulsion. *Food Bioscience*, 105018.
- Liu, D., Liang, L., Xia, W., Regenstein, J. M., & Zhou, P. (2013). Biochemical and physical changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets stored at -3 and 0 °C. *Food chemistry*, 140(1-2), 105-114.
- Liu, Q., Huang, H., Chen, H., Lin, J., & Wang, Q. (2019). Food-grade nanoemulsions: preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds. *Molecules*, 24(23), 4242.
- Liu, J., Shao, Y., Yuan, C., Takaki, K., Li, Y., Ying, Y., Hu, Y. (2021). Eugenol-chitosan nanoemulsion as an edible coating: Its impact on physicochemical, microbiological and sensorial properties of hairtail (*Trichiurus haumela*) during storage at 4 °C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 2199-2204.
- Liu, L., Jiao, W., Xu, H., Zheng, J., Zhang, Y., Nan, H., & Huang, W. (2023). Effect of rapid freezing technology on quality changes of freshwater fish during frozen storage. *Lwt*, 189, 115520.
- Lu, H., Wang, H., & Luo, Y. (2017). Changes in protein oxidation, water-holding capacity, and texture of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets under chilled and partial frozen storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(5), 566-577.

- Lv, Y., & Xie, J. (2021). Effects of freeze–thaw cycles on water migration, microstructure and protein oxidation in cuttlefish. *Foods*, 10(11), 2576.
- Ma, X., Mei, J., & Xie, J. (2021). Effects of multi-frequency ultrasound on the freezing rates, quality properties and structural characteristics of cultured large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105657.
- Majidiyan, N., Hadidi, M., Azadikhah, D., & Moreno, A. (2022). Protein complex nanoparticles reinforced with industrial hemp essential oil: Characterization and application for shelf-life extension of Rainbow trout fillets. *Food Chemistry: X*, 13, 100202.
- Marhamati, M., Ranjbar, G., & Rezaie, M. (2021). Effects of emulsifiers on the physicochemical stability of Oil-in-water Nanoemulsions: A critical review. *Journal of Molecular Liquids*, 340, 117218.
- Marta M, Francisca H, Robert S. Fatty acids profile in canned tuna and sardine after retort sterilization and high pressure thermal sterilization treatment (2015). *Journal of Food and Nutrition Research*. 54:171–178. 21.
- Maqsood, S., Benjakul, S., Abushelaibi, A., & Alam, A. (2014). Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1125-1140.
- Mason, T. G., Graves, S. M., Wilking, J. N., & Lin, M. Y. (2006). Extreme emulsification: formation and structure of nanoemulsions. *Condensed Matter Physics*. <https://doi.org/10.5488/CMP.9.1.193>
- Mechoulam, R. (2019). The pharmacohistory of Cannabis sativa. *Cannabinoids As Therapeutic Agents*, 1-20.
- Mei, J., Ma, X., & Xie, J. (2019). Review on natural preservatives for extending fish shelf life. *Foods*, 8(10), 490.
- Mexis, S. F., Chouliara, E., & Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. *Food microbiology*, 26(6), 598-605.
- Moczowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O. K., Hanula, M., Wyrwicz, J., & Kurek, M. A. (2020). Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 33-47.
- Monfared, B. P., Ahari, H., Moradi, S., & Sahraei, F. (2024). Investigation of damask rose extract nanoemulsions as a shelf-life extender for refrigerated beluga sturgeon fillets. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-18.

- Monahan, F. J., Asghar, A., Gray, J. I., Buckley, D. J., & Morrissey, P. A. (1994). Effect of oxidized dietary lipid and vitamin E on the colour stability of pork chops. *Meat Science*, 37(2), 205-215.
- Mouloudi, K., Bouarar, A. C., & Fehit, H. (2020). The impact of COVID-19 pandemic on food security. *Les cahiers du CREAD*, 36(3), 159-184
- Muñiz-Ramirez, A., Perez, R. M., Garcia, E., & Garcia, F. E. (2020). Antidiabetic activity of Aloe vera leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (1), 6371201
- Nakazawa, N., & Okazaki, E. (2020). Recent research on factors influencing the quality of frozen seafood. *Fisheries Science*, 86, 231-244.
- Nakazawa, N., & Okazaki, E. (2020). Recent research on factors influencing the quality of frozen seafood. *Fisheries Science*, 86, 231-244.
- Nambiar, R. B., Selvam, S. P., Babu, P. A., Kumar, M. M., Sadiku, E. R., & Kirubanandan, S. (2019). Microbiology of marine food products. In *Technological Processes for Marine Foods, From Water to Fork* (pp. 335-356).
- huang, A., Irshad, S., Khan, I. A., Khalifa, I., Walayat, N., Aadil, R. M., & Lorenzo, J. M. (2022). Protein oxidation in muscle-based products: Effects on physicochemical properties, quality concerns, and challenges to food industry. *Food Research International*, 157, 111322.
- Neuzil, J., Stocker, R., & Gebicki, J. M. (1993). Radical-induced chain oxidation of bovine serum albumin and its inhibition by chain-breaking antioxidants. *Biochem. J.*, 293 (1993), pp. 601-606
- Nowacka, M., Trusinska, M., Chraniuk, P., Piatkowska, J., Pakulska, A., Wisniewska, K., & Pobiega, K. (2023). Plant-based fish analogs—a review. *Applied Sciences*, 13(7), 4509.
- Nisar, T., Yang, X. I., Alim, A., Iqbal, M., Wang, Z. C., & Guo, Y. (2019). Physicochemical responses and microbiological changes of bream (*Megalobrama amblycephala*) to pectin based coatings enriched with clove essential oil during refrigeration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1156-1166.
- Olatunde, O. O., & Benjakul, S. (2018). Natural preservatives for extending the shelf-life of seafood: A revisit. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1595-1612.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S. and Stadtman, E. R., (1987). Agerelated changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262(12), 5488–5491.

- Orqueda, M. E., Méndez, D. A., Martínez-Abad, A., Zampini, C., Torres, S., Isla, M. I., & Fabra, M. J. (2022). Feasibility of active biobased films produced using red chilito wastes to improve the protection of fresh salmon fillets via a circular economy approach. *Food Hydrocolloids*, 133, 107888.
- Öztürk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1-6.
- Özoğul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 422-430.
- Özoğul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A. R., Öz, M., & Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *Lwt*, 75, 677-684.
- Pan, N., Dong, C., Du, X., Kong, B., Sun, J., Xia, X. (2021). Effect of freeze-thaw cycles on the quality of quick-frozen pork patty with different fat content by consumer assessment and instrument-based detection. *Meat Sci.*, 172, 108313.
- Paudel, D., Neupane, R. C., Sigdel, S., Poudel, P., & Khanal, A. R. (2023). COVID-19 pandemic, climate change, and conflicts on agriculture: A trio of challenges to global food security. *Sustainability*, 15(10), 8280.
- Park, J. W. 2000. "Ingredient technology and formulation development". *Marcel Dekker*, New York, 343-391.
- Parnell-Clunies, E. M., Kakuda, Y., Mullen, K., Arnott, D. R., & Deman, J. M. (1986). Physical properties of yogurt: a comparison of vat versus continuous heating systems of milk. *Journal of Dairy Science*, 69(10), 2593-2603.
- Patel, R. P., & Joshi, J. R. (2012). An overview on nanoemulsion: a novel approach. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(12), 4640.
- Pateiro, M., Vargas, F. C., Chinchá, A. A., Sant'Ana, A. S., Strozzi, I., Rocchetti, G., Lorenzo, J. M. (2018). Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. *Food Research International*, 114, 55-63.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., & Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—A review. *Meat science*, 89(2), 111-124.

- Pena-Pereira, F., Lavilla, I., & Bendicho, C. (2010). Colorimetric assay for determination of trimethylamine-nitrogen (TMA-N) in fish by combining headspace-single-drop microextraction and microvolume UV–vis spectrophotometry. *Food chemistry*, 119(1), 402-407.
- Peng, Z., Yan, L., Wei, L., Gao, X., Shi, L., Ren, T., & Han, Y. (2022). Effect of dietary chicken gut meal levels on growth performance, plasma biochemical parameters, digestive ability and fillet quality of *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Reports*, 24, 101183.
- Pongsumpun, P., Iwamoto, S., & Siripatrawan, U. (2020). Response surface methodology for optimization of cinnamon essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. *Ultrasonics sonochemistry*, 60, 104604.
- Prabhakar, P. K., Vatsa, S., Srivastav, P. P., & Pathak, S. S. (2020). A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. *Food research international*, 133, 109157.
- Qiu, S., Cui, F., Wang, J., Zhu, W., Xu, Y., Yi, S., Li, J. (2022). Effects of ultrasound-assisted immersion freezing on the muscle quality and myofibrillar protein oxidation and denaturation in *Sciaenops ocellatus*. *Food Chemistry*, 377, 131949.
- Qi, X., Yin, M., Qiao, Z., LI, Z., Yu, Z., Chen, M., Wang, X. (2022). Freezing and frozen storage of aquatic products: mechanism and regulation of protein oxidation. *Food Science and Technology*, 42, e91822.
- Qushawy, M., Mortagi, Y., Alshaman, R., Mokhtar, H. I., Hisham, F. A., Alattar, A., ... & Zaitone, S. A. (2022). Formulation and characterization of O/W nanoemulsions of hemp seed oil for protection from steatohepatitis: analysis of hepatic free fatty acids and oxidation markers. *Pharmaceuticals*, 15(7), 864.
- Qiu, S., Cui, F., Wang, J., Zhu, W., Xu, Y., Yi, S., Li, J. (2022). Effects of ultrasound-assisted immersion freezing on the muscle quality and myofibrillar protein oxidation and denaturation in *Sciaenops ocellatus*. *Food Chemistry*, 377, 131949.
- Ramírez, J. A., Uresti, R. M., Velazquez, G., Vázquez, M. 2011. “Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review”. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842-1852.
- Rawls, H. R., & Van Santen, P. J. (1970). A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 47(4), 121-125.
- Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2015). Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow

- trout fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 898-904.
- Reis, D. R., Ambrosi, A., & Di Luccio, M. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*, 5, 100126.
- Remya, S., Mohan, C. O., Venkateshwarlu, G., Sivaraman, G. K., & Ravishankar, C. N. (2017). Combined effect of O₂ scavenger and antimicrobial film on shelf life of fresh cobia (*Rachycentron canadum*) fish steaks stored at 2 C. *Food Control*, 71, 71-78.
- Richa, R., & Choudhury, A. R. (2020). Exploration of polysaccharide based nanoemulsions for stabilization and entrapment of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 1287-1296.
- Richards, M. P., & Hultin, H. O. (2002). Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 555-564.
- Rocha-Filho, P. A., Monteiro, A. D., Agostinho, L. C., & Oliveira, M. P. (2020). The use of different commercial mineral water brands to produce oil-in-water nanoemulsions. *Molecules*, 25(3), 603.
- Rodriguez, E.R., Martin, J.D., Romero, C.D., 2010. Aloe vera as a functional ingredient in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50,4, 305-326.
- Rock, E. M., & Parker, L. A. (2021). Constituents of Cannabis sativa. *Cannabinoids and Neuropsychiatric Disorders*, 1-13.
- Sabuncular, G., Akbulut, G., & Yaman, M. (2021). Ette lipit oksidasyonu ve etkileyen faktörler. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 362-369.
- Sanchez, J. T., García, A. V., Martínez-Abad, A., Vilaplana, F., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2020). Physicochemical and functional properties of active fish gelatin-based edible films added with aloe vera gel. *Foods*, 9(9), 1248.
- Sarathchandraprakash, N.K., Mahendra, C., Prashanth, S.J., Manral, K., Babu, U.V., & Gowda, D.V.S. (2013). Emülsiyonlar ve emülgatörler. *Asya Deneysel Kimya Dergisi*, 8, 30-45.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L., & Yuk, H. G. (2014). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(5), 625-644.
- Serrano, M., Valverde, J. M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., & Valero, D. (2006). Use of Aloe vera gel coating preserves the functional properties of table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 3882-3886.

- Seo, H. S., Endo, Y., Fujimoto, K., Moku, M., & Kawaguchi, K. (1997). Denaturation of myofibrillar protein in myctophid fish during reaçılgeration and freezing storage. *Fisheries Science*, 63(5), 839-840
- Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32(3-4), 307-326.
- Shah, P., Bhalodia, D., & Shelat, P. (2010). Nanoemulsion: A pharmaceutical review. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 1(1).
- Sharifimehr, S., Soltanizadeh, N., & Hossein Goli, S. A. (2019). Effects of edible coating containing nano-emulsion of Aloe vera and eugenol on the physicochemical properties of shrimp during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3604-3615.
- Sharma, K., Babaei, A., Oberoi, K., Aayush, K., Sharma, R., & Sharma, S. (2022). Essential oil nanoemulsion edible coating in food industry: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 15(11), 2375-2395.
- Shi, L., Yang, T., Xiong, G., Li, X., Wang, X., Ding, A., & Wang, L. (2018). Influence of frozen storage temperature on the microstructures and physicochemical properties of pre-frozen perch (*Micropterus salmoides*). *Lwt*, 92, 471-476.
- Shokri, S., Parastouei, K., Taghdir, M., & Abbaszadeh, S. (2020). Application an edible active coating based on chitosan-Ferulago angulata essential oil nanoemulsion to shelf life extension of Rainbow trout fillets stored at 4 °C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 846-854.
- Skurtys, O., Velásquez, P., Henriquez, O., Matiacevich, S., Enrione, J., & Osorio, F. (2011). Wetting behavior of chitosan solutions on blueberry epicarp with or without epicuticular waxes. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1449-1457.
- Sikorski, Z. E., & Kołakowska, A. (2020). Freezing of marine food. *In Seafood*. 111-124.
- Smith, M. D., Rabbitt, M. P., & Coleman-Jensen, A. (2017). Who are the world's food insecure? New evidence from the Food and Agriculture Organization's food insecurity experience scale. *World Development*, 93, 402-412.
- Socaciu, M. I., Fogarasi, M., Simon, E. L., Semeniuc, C. A., Socaci, S. A., Podar, A. S., & Vodnar, D. C. (2021). Effects of whey protein isolate-based film incorporated with tarragon essential oil on the quality and shelf-life of refrigerated brook trout. *Foods*, 10(2), 401.
- Soyer, A., Özalp, B., Dalmış, Ü., & Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food*

Chemistry, 120(4), 1025-1030.

- Suganthi, A., Venkatraman, C., & Chezian, Y. (2015). Proximate composition of different fish species collected from Muthupet mangroves. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(6), 420-423.
- Sun, Q., Zhang, C., Li, Q., Xia, X., & Kong, B. (2020). Changes in functional properties of common carp (*Cyprinus carpio*) myofibrillar protein as affected by ultrasound-assisted freezing. *Journal of Food Science*, 85(9), 2879-2888.
- Sun, Q., Kong, B., Liu, S., Zheng, O., & Zhang, C. (2021). Ultrasonic freezing reduces protein oxidation and myofibrillar gel quality loss of common carp (*Cyprinus carpio*) during long-time frozen storage. *Foods*, 10(3), 629.
- Sümbüloğlu, V., Sümbüloğlu, K. (2000). Sağlık bilimlerinde araştırma yöntemleri. Hatiboğlu Yayınları.
- Sriket, C. J. I. F. R. J. (2014). Proteases in fish and shellfish: role on muscle softening and prevention. *International Food Research Journal*, 21(2).
- Stammen, K., Gerdes, D., Caporaso, F., & Martin, R. E. (1990). Modified atmosphere packaging of seafood. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 29(5), 301-331.
- Strateva, M., Penchev, G., & Stratev, D. (2021). Histological, physicochemical and microbiological changes in the carp (*Cyprinus carpio*) muscles after freezing. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 30(3), 324-338.
- Tahir, I., Millevania, J., Wijaya, K., Wahab, R. A., & Kurniawati, W. (2023). Optimization of thiamine chitosan nanoemulsion production using sonication treatment. *Results in Engineering*, 17, 100919.
- Talegaonkar, S., Mustafa, G., Akhter, S., & Iqbal, Z. I. (2010). Design and development of oral oil-in-water nanoemulsion formulation bearing atorvastatin: in vitro assessment. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(5), 690-701.
- Tao, L., Tian, L., Zhang, X., Huang, X., Long, H., Chang, F., Li, S. (2020). Effects of γ -polyglutamic acid on the physicochemical properties and microstructure of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi during frozen storage. *Lwt*, 134, 109960.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. and Dugan Jr, L. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 37(1), 44-48.
- Thomas, AC, D'Hombres, B., Casubolo, C., Kayitakire, F. ve Saisana, M. (2017). Gıda güvenliği olan ülkelerdeki durumu bilgilendirmek için Küresel Gıda Güvenliği

Endeksi'nin kullanılması. *JRC Bilim Merkezi*, Avrupa Birliği

- Tokur, B., Korkmaz, K., & Ayas, D. (2006). Balıklarda Lipid Oksidasyonunun İzlenmesinde İki Tiyoarbiturik Asit (TBA) Yönteminin Karşılaştırılması. *Ege Bahkçılık ve Su Bilimleri Dergisi*, 23(3), 331-334.
- Tokur, B., & Korkmaz, K. (2007). The effects of an iron-catalyzed oxidation system on lipids and proteins of dark muscle fish. *Food Chemistry*, 104(2), 754-760.
- Tonkin, R. M. (2012). An investigation of the microbiology and biochemical properties leading to extended shelf-life in goldband snapper (*Pristipomoides multidens*) (Doctoral dissertation, Curtin University).
- Tontul, İ. (2020). Gıda Bileşenlerinin Enkapsülasyonunda Nanoemülsiyonların Kullanımı. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(1), 130-138.
- Turan, M. (2011). Effects of chitosan glazing on the quality of rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*) during frozen storage. *Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Food Engineering Master Thesis*, Ankara, Turkey.
- TÜİK, (2023). Su Ürünleri İstatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2023-53702> (Erişim tarihi: 04.06.2024).
- Uluata, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2016). Optimization of nanoemulsion fabrication using microfluidization: role of surfactant concentration on formation and stability. *Food biophysics*, 11, 52-59.
- Valizadeh, S., Naseri, M., Babaei, S., & Hosseini, S. M. H. (2020). Shelf life extension of fish patty using biopolymer-coated active paper sheets. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100603.
- Vargas, M., Cháfer, M., Albors, A., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2008). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 18(12), 1146-1152.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H., 1993. "Quality control principles and methods in fish association of food technology". *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, 17, s174.
- Villca, G., Justel, F. J., & Jimenez, Y. P. (2020). Water activity, density, sound velocity, refractive index and viscosity of the {(NH₄)₆Mo₇O₂₄+ poly (ethylene glycol)+ H₂O} system in the temperature range from 313.15 to 333.15 K: Experiment and modelling. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 142, 105986.
- Villalobos-Castillejos, F., Granillo-Guerrero, V. G., Leyva-Daniel, D. E., Alamilla-

- Beltrán, L., Gutiérrez-López, G. F., Monroy-Villagrana, A., & Jafari, S. M. (2018). Fabrication of nanoemulsions by microfluidization. *In Nanoemulsions* (pp. 207-232).
- Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. *Langmuir*, 24(22), 12758-12765.
- Wang, J., Yu, W., & Xie, J. (2020). Effect of glazing with different materials on the quality of tuna during frozen storage. *Foods*, 9(2), 231.
- Wang, B., Yang, H., Yang, C., Lu, F., Wang, X., & Liu, D. (2022). Prediction of total volatile basic nitrogen (TVB-N) and 2-thiobarbituric acid (TBA) of smoked chicken thighs using computer vision during storage at 4° C. *Computers and Electronics in Agriculture*, 199, 107170.
- Wu, C., Wang, L., Hu, Y., Chen, S., Liu, D., & Ye, X. (2016). Edible coating from citrus essential oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and preservation performance. *RSC advances*, 6(25), 20892-20900.
- Wu, C., Fu, S., Xiang, Y., Yuan, C., Hu, Y., Chen, S., & Ye, X. (2016). Effect of Chitosan Gallate coating on the quality maintenance of refrigerated (4 C) silver pomfret (*Pampus argenteus*). *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1835-1843.
- Wang, H., Wang, Y., Wu, D., Gao, S., Jiang, S., Tang, H., & Meng, X. (2022). Changes in physicochemical quality and protein properties of porcine longissimus lumborum during dry ageing. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(9), 5954-5965.
- Wang, B., Li, F., Pan, N., Kong, B., & Xia, X. (2021). Effect of ice structuring protein on the quality of quick-frozen patties subjected to multiple freeze-thaw cycles. *Meat Science*, 172, 108335.
- Wan, W., Feng, J., Wang, H., Du, X., Wang, B., Yu, G., & Xia, X. (2023). Influence of repeated freeze-thaw treatments on the oxidation and degradation of muscle proteins from mirror carp (*Cyprinus carpio* L.), based on myofibrillar protein structural changes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 454-462.
- Xia, C., Wen, P., Yuan, Y., Yu, X., Chen, Y., Xu, H., & Wang, J. (2021). Effect of roasting temperature on lipid and protein oxidation and amino acid residue side chain modification of beef patties. *RSC advances*, 11(35), 21629-21641.
- Xie, Y., Chen, B., Guo, J., Nie, W., Zhou, H., Li, P., & Xu, B. (2021). Effects of low voltage electrostatic field on the microstructural damage and protein structural changes in prepared beef steak during the freezing process. *Meat Science*, 179, 108527.

- Xiong, Y. L. (1997). Protein denaturation and functionality losses. In *Quality in frozen food* (pp. 111-140). Boston, MA: Springer US.
- Xue, B. G., Zhang, M., Bhandari, B., Cheng, X. F., & Islam, M. N. (2015). Effect of ultrasound-assisted freezing on the physico-chemical properties and volatile compounds of red radish. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 316-324
- Xue, X., Jin, H. L., He, Z. Z., & Liu, J. (2015). Quantifying the growth rate and morphology of ice crystals growth in cryoprotectants via high-speed camera and cryomicroscope. *Journal of Heat Transfer*, 137(9), 091020.
- Yazgan, H., Ozogul, Y., Durmuş, M., Balıkçı, E., Gökdoğan, S., Uçar, Y., & Aksun, E. T. (2017). Effects of oil-in-water nanoemulsion based on sunflower oil on the quality of farmed sea bass and gilthead sea bream stored at chilled temperature ($2\pm 2^{\circ}\text{C}$). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(8), 979-992.
- Yazgan, H., Ozogul, Y., & Kuley, E. (2019). Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 306, 108266.
- Yazgan, H. (2013). Ayçiçek yağı ile hazırlanan nanoemülsiyonun soğukta ($2\pm 2^{\circ}\text{C}$) depolanan levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) filetolarının duyuşsal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 100.
- Yeşilsu, A. F., & Polat, A. (2013). Su ürünlerinin bozulmasında enzimlerin rolü. *Electronic Journal of Food Technologies*, 8(3), 10-21.
- Yi, Z., & Xie, J. (2021). Comparative proteomics reveals the spoilage-related factors of *Shewanella putrefaciens* under refrigerated condition. *Frontiers in Microbiology*, 12 740482.
- Yin, J., Xiang, C., Wang, P., Yin, Y., & Hou, Y. (2017). Biocompatible nanoemulsions based on hemp oil and less surfactants for oral delivery of baicalein with enhanced bioavailability. *International Journal of Nanomedicine*, 2923-2931.
- Yu, L., Jiang, Q., Yu, D., Xu, Y., Gao, P., & Xia, W. (2018). Quality of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) during the storage at -18°C as affected by different methods of freezing. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2100-2109.
- Yuvka, İ. (2014). Chemical, sensory and microbiological effects of nanoemulsions based on rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) essential oils on trout fillet quality stored in ice. (MSc Thesis). Department of Fisheries and Processing Technology, Institute of Natural and Applied Science, *Çukurova University*, Adana, Turkey.

- Zhan, X., Sun, D. W., Zhu, Z., & Wang, Q. J. (2018). Improving the quality and safety of frozen muscle foods by emerging freezing technologies: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(17), 2925-2938.
- Zhang, Z., Wang, X., Yu, J., Chen, S., Ge, H., & Jiang, L. (2017). Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran conjugates. *Lwt*, 78, 241-249.
- Zhang, D., Li, H., Emara, A. (2020). Effect of in vitro oxidation on the water retention mechanism of myofibrillar proteins gel from pork muscles. *Food Chemistry*, 315, 226.
- Zhao, R., Guan, W., Zheng, P., Tian, F., Zhang, Z., Sun, Z., & Cai, L. (2022). Development of edible composite film based on chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh red sea bream fillets. *Food Control*, 132, 108545.
- Zheng, Y., Zhou, F., Zhang, L., Wang, H., & Wang, X. C. (2021). Effect of different extent of protein oxidation on the frozen storage stability of muscle protein in obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*). *Lwt*, 137, 110416
- Zhou, P., Chu, Y., Lv, Y., & Xie, J. (2022). Quality of frozen mackerel during storage as processed by different freezing methods. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 593-607.
- Zhou, Y., Liu, J. J. H., Kang, Y., Cui, H., & Yang, H. (2021). Effects of acid and alkaline treatments on physicochemical and rheological properties of tilapia surimi prepared by pH shift method during cold storage. *Food Research International*, 145, 110424.
- Zhou, F., Zhao, M., Zhao, H., Sun, W., & Cui, C. (2014). Effects of oxidative modification on gel properties of isolated porcine myofibrillar protein by peroxy radicals. *Meat Science*, 96(4), 1432-1439.
- Zhou, P., Chu, Y., Lv, Y., & Xie, J. (2022). Quality of frozen mackerel during storage as processed by different freezing methods. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 593-607.
- Zhu, X., Shi, X., Liu, S., Gu, Y., Liu, J., Fu, Q., & Wang, R. (2022). Physicochemical properties and gel-forming ability changes of duck myofibrillar protein induced by hydroxyl radical oxidizing systems. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1029116.
- Zhu, Z., Zhou, Q., & Sun, D. W. (2019). Measuring and controlling ice crystallization in frozen foods: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 90, 13-25.
- Zungur Bastioğlu, A., 2019, Farklı Yöntemler ile Üretilen Dana ve Hindi Sucuklarında Et

Yağı İkamesi Olarak Zeytinyağı Kullanımının Protein Oksidasyonu Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

