İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARİDESLERDEKİ ENZİMATİK KARARMAYI ÖNLEMEDE 4-HEXYLRESORCINOL UYGULAMASININ İNCELENMESİ

Arif SELÇUK
Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı
İşleme Teknolojisi Programı

Danışman
Prof.Dr. Özkan ÖZDEN

Haziran, 2010

İSTANBUL

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 4256 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca bana zaman ayıran ve deneyimlerini benimle paylaşan çok değerli hocam ve danışmanım sayın Prof. Özkan ÖZDEN'e, İşleme Teknolojisi öğretim üyesi Doç. Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen çalıştığım kurum TÜBİTAK-MAM Gıda Enstitüsü Müdürü Doç Dr. Güner ÖZAY'a, çalışma arkadaşlarım Dr. Hülya Ölmez, Mustafa Yaman, Şenol Erdoğan ve Tamer Işık'a, manevi kardeşlerim Ali Timuçin ve Serkan Aslan'a ve çalışmam sırasında her türlü fedakarlıkta bulunan değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi'ne teşekkürü borç bilirim.

Haziran, 2010 **Arif SELÇUK**

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i

İÇİNDEKİLER ii

ŞEKİL LİSTESİ..... iv

TABLO LİSTESİ vi

SEMBOL LİSTESİ vii

ÖZET viii

SUMMARY..... ix

1. GİRİŞ 1

2. GENEL KISIMLAR 3

2.1. KARİDES 3

2.1.1. Türkiye'de Karides Üretimi 5

2.1.2. Pembe Karidesin Besin Değeri ve Bozulma 6

2.2. MELANOSİS 10

2.2.1. Polifenol Oksidaz (PFO) 12

2.2.2. Kararmayı Engelleyici Katkılar 14

2.2.2.1. Antibrowning Ajanlar 14

2.3. 4-HEXYLRESORCİNOL' ÜN KARİDESLERDE KULLANIMI 20

3. MALZEME VE YÖNTEM 22

3.1. MALZEME 22

3.1.1. Materyal Ön Hazırlıkları 22

3.2. YÖNTEM 28

3.2.1. 4-Hexylresorcinol Kalıntı Analizi 28

4. BULGULAR 34

4.1. KONSANTRASYONLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ 34

4.1.1. %0.0005 (5ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi 34
4.1.2. %0.001 (10ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi 36
4.1.3. %0.005 (50 ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi 38
4.1.4. %0.01 (100ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi 40
4.1.5. %0.05 (500ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi 42
4.2. 4-HEXYLRESORCİNOL KONSANTRASYONUNUN UYGULAMA SÜRELERİNE GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ 44
4.2.1. Bir Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatiki Değerlendirmesi 44
4.2.2. Beş Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatiki Değerlendirmesi 46
4.2.3. On Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatiki Değerlendirmesi 48
4.2.4. Otuz Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatiki Değerlendirmesi 49
4.3. MODELLEME ÇALIŞMASI ve TEPKİ YÜZEY GRAFİĞİ OLUŞTURULMASI 50
4.3.1. Deney Deseni Oluşturulması 50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 53
5.1. ANALİZ SONUÇLARI 54
5.1.1. Yıkanmış ve Yıkanmamış Örnekler Arasındaki Fark 54
5.1.2. Çiğ, Kızartma ve Haşlama Proseslerinin Sonuçları Arasındaki Fark 54
5.1.3. Sürenin Etkisi 55
5.1.4. Konsantrasyonun İstatistiksel Analizi 57
5.1.5. Konsantrasyonun Uygulanan Sürelere Göre Analizi 60
KAYNAKLAR 67
ÖZGEÇMİŞ 73

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Şekil 2.1. Karidesin vücut bölümleri…….	3
Şekil 2.2	Şekil 2.2. Pembe karidesin dünyada dağılımı ve boy aralığı…….	5
Şekil 2.3	Şekil 2.3. Karideslerde bozulmaya bağlı görülen değişimler……	9
Şekil 2.4	Şekil 2.4. Kararma skalasına dayalı karides değerlendirmesi…….....	10
Şekil 2.5	Şekil 2.5. Enzimatik kararma zinciri……	12
Şekil 2.6	Karideslerde melanosisin gerçekleştiği başlıca bölgeler…….....	13
Şekil 2.7	4-Hexylresorcinol kimyasal yapısı……...	17
Şekil 3.1	Çalışma Akış Şeması……	23
Şekil 3.2	Laboratuvara getirilen örnekler……	24
Şekil 3.3	Buzlarından ayıklanmadan önce örnekler……	24
Şekil 3.4	Karideslerin eşit olarak 5 gruba ayrılması…….....	25
Şekil 3.5	Hazırlanan 5 farklı konsantrasyondaki 4-Hexylresorcinol çözeltileri..	25
Şekil 3.6	Yıkama işlemine tabi tutulan karidesler……...	26
Şekil 3.7	180 °C yağda kızartılan ayıklanmış karides etleri……	27
Şekil 3.8	100 °C suda haşlama yapılan karidesler……..	27
Şekil 3.9	Homojenize edilen karides örnekleri……	28
Şekil 3.10	Analizlerde kullanılan HPLC cihazı……	30
Şekil 3.11	A 4-Hexylresorcinol Standart kromotogramı, B Karides örneği Kromotogramı……...	32
Şekil 4.1	4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü…….....	35
Şekil 4.2	4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü…….	37
Şekil 4.3	4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü…….	39
Şekil 4.4	4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü…….....	42
Şekil 4.5	4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü…….....	43
Şekil 4.6	%0.0005, 0.001, 0.005 ve 0.01 konsantrasyonlarının 1 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları ……	45
Şekil 4.7	%0.0005, 0.001, 0.005 ve 0.01 konsantrasyonlarının 5 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları…….....	47

Şekil 4.8 %0.0005, 0.001, 0.005 ve 0.01 konsantrasyonlarının 10 dakika sure uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları……..... 48

Şekil 4.9 %0.005, 0.001, 0.005 ve 0.01 konsantrasyonlarının 30 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları…… 49

Şekil 4.10 4-Hexylresorcinol değerinin K ve t'ye bağlı değişimini gösteren üç boyutlu tepki-yüzey grafiği (çiğ-yıkanmamış örnekler için)…… 50

Şekil 5.1 Mendes ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmanın pembe karides etlerindeki 4-Hexylresorsinol kalıntı sonuçları…….. 58

Şekil 5.2 Montero ve arkadaşlarının çalışmasındaki 4-Hexylresorcinol konsantrasyonunun inhibisyona etkisi…… 65

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Sularımızda avcılığı yapılan karides türleri…….. 4

Tablo 2.2 TUİK verilerine göre 2000-2008 yılları arasında karides üretim miktarları (TUİK,2008a)……..…….. 6

Tablo 2.3 Pembe karidesin besinsel verileri (Mendes, 2006)…… 7

Tablo 2.4 Pembe karidesin aminoasit içeriği (Mendes, 2006)…… 7

Tablo 2.5 Pembe karidesin vitamin içeriği (Mendes, 2006)…… 8

Tablo 2.6 Pembe karidesin mineral madde içeriği (Özden, 2010)……... 8

Tablo 4.1 4-Hexylresorcinol' ün %0.0005 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi…….……...…… 35

Tablo 4.2 4-Hexylresorcinol' ün %0.001 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi…… 37

Tablo 4.3 4-Hexylresorcinol' ün %0.005 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi..... 39

Tablo 4.4 4-Hexylresorcinol' ün %0.01 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi…… 41

Tablo 4.5 4-Hexylresorcinol' ün %0.05 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi…… 43

Tablo 4.6 Deneysel çalışma sonucunda bulunan değerler ile modelden elde edilen formüle göre hesaplanan değerlerin karşılaştırılması (Çiğ-Yıkanmamış örneklerde)…….. 52

Tablo 5.1 Yapılan çalışma sonuçlarının yasal sınıra göre değerlendirilmesi……56

Tablo 5.2 Yapılan çalışmada 1 dakika süre ile farklı konsantrasyonlardaki uygulamaların sonuçları…… 61

Tablo 5.3 Yapılan çalışmada 5 dakika süre ile farklı konsantrasyonlardaki uygulamaların sonuçları…. 62

Tablo 5.4 Yapılan çalışmada 10 dakika süre ile farklı konsantrasyonlardaki uygulamaların sonuçları……. 63

Tablo 5.5 Yapılan çalışmada 5 dakika süre ile farklı konsantrasyonlardaki uygulamaların sonuçları……64

Tablo 5.6 Pembe karideslere uygulanan konsantrasyon ve depolamaya bağlı olarak kalıntı düzeylerindeki değişimler…… 64

SEMBOL LİSTESİ

m : metre
cm : santimetre
TUİK : Türkiye İstatistik Kurumu
g : gram
kg : kilogram
mg : miligram
µg : mikrogram
µg : mikrogram
kcal : kilo kalori
kJ : kilo jul
% :yüzde
A : retinol
E : tokoferol
D : kalsiferol
B12 : siyanokobalamin
Na : sodyum
K : potasyum
Mg : magnezyum
Ca : kalsiyum
P : fosfor
I : iyot
≥ : büyük eşittir
> : büyüktür
< : küçüktür
PFO : polifenoloksidaz
ppm : milyondabir
ppb : milyardabir
^{o}C : santigrad derece
NTP : National Toxicology Program
GRAS : Generally recognized as safe - genel olarak güvenilir
FDA : Food And Drug Administration - Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
ADI : Accebtable Daily Intake – Günlük Alım Limiti
dk : dakika
L : litre
mL : mililitre
µL : mikrolitre
HPLC : Yüksek basınçlı sıvı kromotografi cihazı
M : molar
nm : nanometre

ÖZET

KARİDESLERDEKİ ENZİMATİK KARARMAYI ÖNLEMEDE 4-HEXYLRESORCINOL UYGULAMASININ İNCELENMESİ

İnsan beslenmesindeki yeri ve önemi açısından su ürünleri değerli gıda maddesidir. Yüksek protein ve zengin mineral içeriği ile karides, ekonomik değeri yüksek su ürünleri arasında yer almaktadır. Dünyada geniş bir alanda avcılığı yapılan karidesler özellikle bozulmaya karşı oldukça hassastır. Karideslerde ölüm sonrası enzim faaliyetleri sonucunda kararma (melanosis) meydana gelmektedir. Bu durum tüketiciyi olumsuz yönde etkilemekte ve üreticinin pazar payını düşürmektedir. Kararmanın önlenmesinde en çok kullanılan kimyasal madde sodyum metabisülfit'tir. Bu maddenin kullanımının insan sağlığı üzerinde zararlı etkilerinin olduğu birçok bilimsel çalışmayla ortaya konmuş olmasından dolayı yeni arayışlar doğrultusunda 4-Hexylresorcinol uygulaması öne çıkmıştır.

Bu çalışmada 4-Hexylresorcinol kullanımının farklı süre, konsantrasyonlarda çiğ, haşlanmış ve kızartılmış pembe karideste kalıntı bırakma düzeylerinin belirlenmesi ve buna bağlı bir matematiksel modelin ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışmada materyal olarak Marmara Denizi'nden avlanan derin su pembe karidesi (*Parapenaeus longirostris,* Lucas 1846) kullanılmıştır. 50 kg karides 5 farklı konsantrasyondaki (%0.0005, %0.001, %0.005, %0.01 ve %0.05) 4-Hexylresorcinol çözeltilerine 1, 5, 10 ve 30 dakika süreyle daldırılmış, daldırılan her örnek kendi içinde iki gruba (yıkama işlemi yapılmış – yapılmamış) ayrılmıştır. Çiğ, haşlanmış ve kızartılmış örneklerde 4-Hexylresorcinol kalıntı analizi yapılmıştır.

Endüstriyel uygulama açısından 5 dakika ve üstü sürelerde tüm uygulamalar hem üretimdeki zaman kısıtlaması hem de ürün kalitesi üzerindeki olası negatif etkileri düşünüldüğünde uygulanabilir görünmemektedir. Bu nedenle, tepki-yüzey grafiğinden elde edilen formülün kullanılarak hem yasal limitlerin sağlanması, hem de endüstriyel uygulanabilirlik bakımından, 5 dakikadan daha kısa süreler yasal limit olan 2 mg/kg değerinin sağlandığı süre-konsantrasyon kombinasyonlarının uygun proses koşulları olarak kabul edilmesi gerektiği bulunmuştur.

SUMMARY

A STUDY ON THE EFFECT OF 4-HEXYLRESORCINOL TREATMENT FOR PREVENTION OF ENZYMATIC BROWNING IN SHRIMPS

Seafood products are important in human nutrition because of their valuable characteristics. Shrimps are placed in economically valuable seafood products with their high protein and mineral contents. Globally caught shrimp is very susceptible to degeneration. Melanosis, which can be described as darkening, is caused by enzyme processes in shrimp after death. This affects the consumers and decreases retailers' market share. Sodium metabisulfide is the main chemical which is used to prevent melanosis. Many scientific researches proved that using this chemical is harmful for humans leading to new approaches one of which is using 4-Hexylresorcinol.

In this study, residue level of 4-Hexylresorcinol, applied in different time intervals and concentrations, in raw, boiled and fried pink shrimp were analyzed and a mathematical model was established.

Deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas 1846) was caught from Marmara Sea and used in this study. 50 kg shrimp were dipped in different concentrations of 4-Hexylresorcinol solutions (%0.0005, %0.001, %0.005, %0.01 and %0.05) in different time intervals (1, 5, 10 and 30 minutes). All dipped samples were separated to two groups as washed and unwashed samples. 4-Hexylresorcinol residue analyses were conducted on raw, boiled and fried samples.

Processes over 5 minutes are not desirable and applicable in industrial scale because of time limitations and product quality degradations. For this reason, equations derived from the Surface-Area graph should be used to establish legal limits. 5 minute durations should be accepted as Duration-Concentration combinations which provide the legal limit of 2 mg/kg values for industrial applicable processes.

1. GİRİŞ

Su ürünleri insan beslenmesindeki yeri ve önemi bakımından değerli bir gıda maddesidir. Su ürünlerinden karides düşük yağ, yüksek protein ve zengin mineral içeriği yanında ekonomik değeri yüksek su ürünleri arasında bulunmaktadır.

Karides avcılığı dünyada ekvatordan kutuplara kadar geniş bir alanda yapılmakta ve elde edilen bu karideslerin büyük çoğunluğu ise ABD, Avrupa Birliği ve Japonya'ya satılmaktadır. Avcılığının yanı sıra yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Dünyada yüksek oranda karides yetiştiriciliği Çin, Tayland, Endonezya, Hindistan, Vietnam, Brezilya, Ekvador ve Bangladeş'te yapılmaktadır.

Ekonomik değeri yüksek olan bu gıda maddesi özellikle bozulmaya karşı oldukça hassastır. Kolay bozulabilmesi, avlandıktan sonra hemen kalite kayıplarının görülebilmesi karides satışı yapan işletmeleri ve kişileri koruyucu madde kullanımına yönlendirirken, tüketiciyi olumsuz yönde etkilemektedir.

Tüm su ürünlerinde olduğu gibi karideslerde de tüketici beğenisini birinci derecede etkileyen renk değişimi, tekstür yapının bozulması gibi fizikokimyasal kalite kaybı oldukça önemlidir. Balıktan farklı olarak karides ve benzeri su ürünlerinde enzim faaliyetleri sonucu ölüm sonrası ortaya çıkan kararma olarak adlandırılan renk değişimi önemli bir ticari problem olarak ortaya çıkmaktadır. Karideslerin baş ve sırt kısmında kararma şeklinde gözlenen bu değişim ürünün pazarlama değerini ve tüketicinin alım kriterlerini doğrudan etkileyen karideslerdeki en önemli sorunu oluşturmaktadır. Bu sorunun çözümüne yönelik birçok kimyasal madde ticari uygulamalar için geliştirilmiştir. Bu kimyasal maddelerden en sık kullanılanı Sodyum metabisülfit' tir. Uzun zamandır bu maddenin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerinin birçok bilimsel çalışmayla ortaya konmuş olması bu ekonomik kaybın giderilmesinde üreticileri yeni arayışlara ve uygulamalara yönlendirmiştir. Özellikle bu konudaki genel arayışta 4-Hexylresorcinol uygulaması gıda güvenliği açısından öne çıkmış bu konuda kalıntı sınır değerleri Avrupa birliği direktiflerine eklenmiştir. Ayrıca Avrupa Birliği kriterlerine

uyum çerçevesinde 4-Hexylresorcinol uygulamasına yönelik belirlenen bu sınır değer Türk Gıda Kodeksi' nde de 2008 yılında yerini almıştır.

Karides avlayan, işleyen ve satışını yapan kuruluşların sorunlarından olan renk değişimi karidesin avlandıktan hemen sonra özellikle baş kısmının koparıldığı yerdeki kabuk segmentlerinde çevresel faktörlerin (güneş, sıcaklık, vs.) etkisi ile gelişmektedir. Bu oluşumda çevresel faktörlerin yanı sıra avlanmadan sonra baş kısmının geç koparılması ya da yetersiz soğutma uygulanması renk değişimi üzerinde doğrudan etkili olmaktadır. Bu renk değişimine birçok kaynakta aynı anlama gelen farklı isimlendirmeler yapılmaktadır; Bu tanımlar "MELANOSİS", "SİYAHLAŞMA", "KARARMA" ya da "BLACK SPOT" olarak karşımıza çıkmaktadır. Kararma olayına sebep olan enzimler ise polifenoloksidaz olarak adlandırılmaktadır. Enzimatik reaksiyon oksidatif aktiviteden köken almaktadır. Proteinlerin dekompozisyonu sonucu tirosin ve hidrosifenilalanin açığa çıkar ve tirozinaz enziminin etkisiyle de bu aminoasitler oksitlenerek melanin pigmentlerine dönüşürek melanosisi oluşturur (Erkan ve ark., 2007; Mayer, 2006).

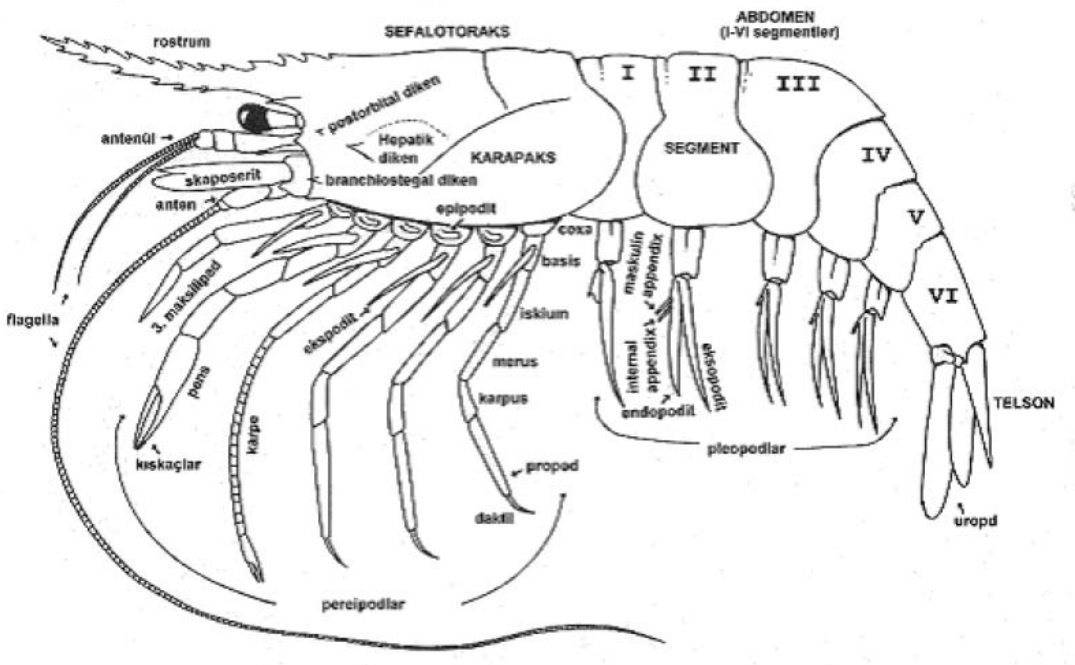
Karidesler birçok türü ile Türkiye sularında avlanan ve ihraç edilen önemli kaynaklardan biri olup aynı zamanda dünya ticaretinde önemli bir yer tutmaktadır. Karides gibi su ürünlerinde melanosis oluşumunun önlenmesinde kullanılan katkı maddeleri arasında 4-Hexylresorcinol uygulaması dünyada yaygın hale gelmektedir. 4-Hexylresorcinol' ün melanosis için kullanımı sonucu ette bıraktığı kalıntı miktarları üzerine dünyada sınırlı, Türkiye' de ise yok denecek kadar az çalışma vardır.

Ekonomik değeri yüksek olan karideslerde 4-Hexylresorcinol' ün kullanımını kolaylaştırma ve kalıntı düzeylerinin belirlenmesine katkı sağlayacak bu tez çalışması aynı zamanda bilimsel veri eksikliğine destek olacak, bundan sonraki çalışmaların temel kaynakları arasında yer alacaktır.

2.GENEL KISIMLAR

2.1. KARİDES

Karidesler, kabuklu hayvanlar (Crustasea) sınıfından dekapodların ekonomik açıdan da önemli bir grubunu oluştururlar. Karideslerin vücudu, birleşik bir baş-göğüs (sefalotoraks) ve halka şeklinde segmentlerden yapılmış karın (abdomen) bölgesi olmak üzere iki bölümden oluşur. Abdomeni saran kabuk halkalar halindedir ve birbirinden kolayca ayrılabilir. Vücutları toraks ve abdomen üzerinde uzamış şekildedir. Aşağıdaki şekilde (Şekil 2.1.) bir karides gövdesinin bölümleri gösterilmiştir (Artüz, 2005).



Şekil 2.1. Karidesin vücut bölümleri (Artüz, 2005).

Karides türleri yaşamlarını belirli derinlik sınırları içersinde sürdürmekte olup bu dağılım sığ sulardan 200-1000m derinliklere kadar türden türe farklılık göstermektedir (Manaşırlı ve ark., 2008).

Karideslerin Türkiye sularında bugüne kadar 61 türü saptanmış olup, bunlardan ekonomik değere sahip olanların ve avcılığı yapılanların sayısı sınırlıdır. Ekonomik açıdan değer taşıyan karides türleri özellikle Penaeidae ve Caridea familyalarına aittir (Başçınar, 2004).

Türkiye sularında avlanan ekonomik değere sahip karides türlerinin boyları, av derinlikleri ve yayılış alanları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo2.1.).

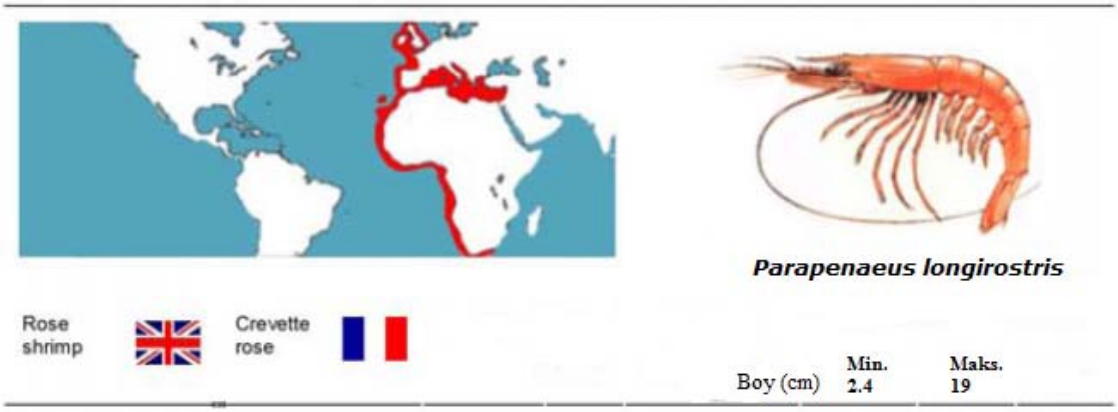
Tablo 2.1. Sularımızda avcılığı yapılan karides türleri (Artüz, 2005)

T ü r ü n a d ı	**Boy (cm)**		**Av derinliği (m)**	**Yayılışı**
	azami	**ortalama**		
P. longirostris	15	9-11	20- 100	Marmara denizi Saros körfezi Edremit körfezi Çandarlı körfezi Sığacık körfezi Finike körfezi Taşucu körfezi Mersin körfezi İskenderun körfezi
M. monoceros	18	12-14	6-60	Finike körfezi İskenderun körfezi
P. japonicus	30	20-22	20-30	Antalya körfezi Mersin körfezi İskenderun körfezi
P. semisulcatus	30	20-22	25-50	Mersin körfezi İskenderun körfezi Taşucu körfezi
P. kerathrurus	20	12-15	10-40	Akdeniz Ege Marmara

Bu türler arasında en yüksek avcılık rakamlarıyla pembe karides (*Parapenous longirostris*) veya diğer ismiyle Marmara karidesi gelmektedir (Başçınar, 2004).

Pembe Karides (*Parapenaeus longirostris*) özellikle Avrupa'da ticari olarak yüksek ekonomik değere sahip olup İspanya, Fransa, İtalya,Yunanistan, Sicilya ve Tunus gibi

Doğu Atlantik ve tüm Akdeniz'de kabuklu üretiminin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Manaşırlı ve ark., 2008). Türkiye'de Marmara, Ege ve Akdeniz kıyıları boyunca balıkçılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde sürütme ağlarıyla da avlanmaktadır (Kocataş ve ark., 1991; Başçınar, 2004,; Bayhan ve ark., 2005; Artüz, 2005; Manaşırlı ve ark., 2008).



Şekil 2.2. Pembe karidesin dünyada dağılımı ve boy aralığı (Mendes, 2006)

Demersal bir tür olan pembe karides kumlu-çamurlu veya çamurlu diplerde yaşar. Yumurtalarını diğer Penaid karideslerinde olduğu gibi kuluçkalamaz. Ortalama 400.000 adet yumurta bir defada döllendikten sonra suya bırakılır ve bentik özelliktedir. Crustacee, mollusca, polychaeta gibi organizmalarla beslenir (Başçınar 2004).

2.1.1. Türkiye' de Karides Üretimi

TUİK verilerine göre 2000 yılından 2006 yılına kadar karides üretimi "karides" adı altında tek veri olarak sunulurken 2007 yılından itibaren karides 6 alt başlık (Erkek karides, Jumbo karides, Karabiga karides, Kırmızı karides ve Pembe karides) altında üretim miktarları sunulmuştur. Karides üretim miktarı 2000 yılından 2003 yılına kadar artış, 2003 yılından 2008 yılına kadar azalış göstermiştir. 2008 yılında kabuklu-yumuşakçalar miktarı 57453 ton iken toplamın içinde karides miktarı 4668 tondur. 2008 yılı toplam karides üretiminin 2623 tonunu pembe karides oluşturmaktadır (TUİK, 2008a). 2000 yılı ile 2008 yılı arasında TUİK verilerine göre sadece 2000 yılında karides yetiştiriciliği yapılmış, bundan sonraki yıllarda karides yetiştiriciliği yapılmamıştır. 2000 yılında karides yetiştiriciliği 27 ton olarak bildirilmektedir (TUİK, 2008b).

Tablo 2.2. TUİK verilerine göre 2000-2008 yılları arasında karides üretim miktarları (TUİK, 2008a)

Balık türü Type of fish	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Karides - Prawn **	2 000	3 000	4 000	6 000	5 279	6 339	3 856	-	-
Erkek karides - Speckled shrimp	-	-	-	-	-	-	-	359	437
Jumbo karides - Green tiger prawn	-	-	-	-	-	-	-	275	405
Karabiga karides - Caramote prawn	-	-	-	-	-	-	-	372	449
Kırmızı karides - Giant gamba prawn	-	-	-	-	-	-	-	150	754
Pembe karides (Çimçim) - Deep water rose prawn	-	-	-	-	-	-	-	2 761	2 623

** 2007 Yılından itibaren Karides üretim miktarı, Erkek Karides, Jumbo Karides, Karabiga Karides,Kırmızı Karides ve Pembe Karides üretimi kapsamında derlenmiştir.

** From 2007, production quantity of Prawn was compiled within the production quantity of Speckled shrimp, Green tiger prawn, Caramote prawn, Giant gamba

2.1.2. Pembe Karidesin Besin Değeri ve Bozulma

Karides eti, proteince zengin, besin kalitesi yüksek, değerli bir gıda maddesidir (Tablo 2.3., 2.4., 2.5. ve 2.6.). Aynı zamanda, bağ dokunun zayıf olması nedeniyle kolay sindirilebilir, bunun için de kolay bozulabilir bir gıda maddesidir. Muhafaza süresine ve muhafaza sıcaklığına bağlı olarak karides etinde, diğer su ürünlerinde olduğu gibi duyusal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler meydana gelir (Varlık ve ark., 2000; Bilgin ve ark., 2006). Kabuklu su ürünlerinin bozulmasında en büyük etkenin, ürünün biyokimyasal karakteri olduğu, balık etine nazaran daha fazla serbest amino asit içermesi nedeniyle bakteriyel gelişime bağlı olarak bozulma hızının arttığı da bildirilmektedir. Karidesin kalitesi doğrudan bakterilerin cins ve sayıları arasındaki ilişkiye bağlı olarak etkilendiği gibi, kimyasal değişikliklerden de etkilenebilmektedir. Karideslerin bakteriyel florası ise balıkların mikroflarasına benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda *Achromobacter, Bacillus, Micrococcus, Pseudomonas, Flavobacterium, Alcaligenes* ve *Proteus*'a ait türlerin bulunduğu bildirilmiştir (Diler ve Ataş, 2003; Çaklı ve Kışla, 2003; Arık Çolakoğlu ve ark., 2006). Karideslerin kendilerine özgü hoşa giden kokuları vardır. El ile yoklandığında kuru ve gevşek oldukları görülür. Bunlar bayatladıkları zaman ıslak, yapışkan bir görünüm alır, kötü bir koku (amonyak kokusu) oluşturmaktadır. Aynı zamanda kabuklu canlıların kuyruk bölgesinin ve ekstremitelerinin gevşemesi, eğilip bükülmesi bozulmanın temel göstergelerinden biridir. Karideslerde avlanmadan kısa bir süre sonra meydana gelen

enzimatik bozulmaya bağlı olarak melanosis diye isimlendirilen kararma görülmektedir (Şekil 2.3.) (Varlık ve ark., 2007).

Tablo 2.3. Pembe karidesin besinsel verileri (Mendes, 2006)

Besinsel Veriler	**(/100g)**
Enerji Değeri (kcal/kJ)	90.2/377.4
Yenilebilir Kısım (g)	34
Toplam Yağ (g)	0.2
Doymuş Yağ (g)	0.03
Omega-3 (g)	0.05
Omega-6 (g)	0.01
Kolesterol (mg)	83.3
Protein (g)	20.7

Tablo 2.4. Pembe karidesin aminoasit içeriği (Mendes, 2006)

Amino Asitler	**(g/100g)**
Aspartik Asit	2.0
Treonin	0.7
Serin	0.8
Glutamik Asit	3.4
Prolin	1.1
Glisin	1.3
Alanin	1.1
Valin	0.8
Metionin	0.6
Izoleusin	0.7
Leusin	1.5
Tirosin	0.7
Fenilalanin	0.8
Histidin	1.7
Lisin	0.4
Arginin	1.9

Tablo 2.5. Pembe karidesin vitamin içeriği (Mendes, 2006)

Vitaminler (/100g)	
A (μg)	7.9
E (mg)	0.1
D (μg)	7.1
B12 (mg)	0.1

Tablo 2.6. Pembe karidesin mineral madde içeriği (Özden, 2010)

Mineraller	**mg/100g**
Na	30,502
K	40,219
Mg	5,593
Ca	9,148
P	32,160
I	0,078



A. Taze



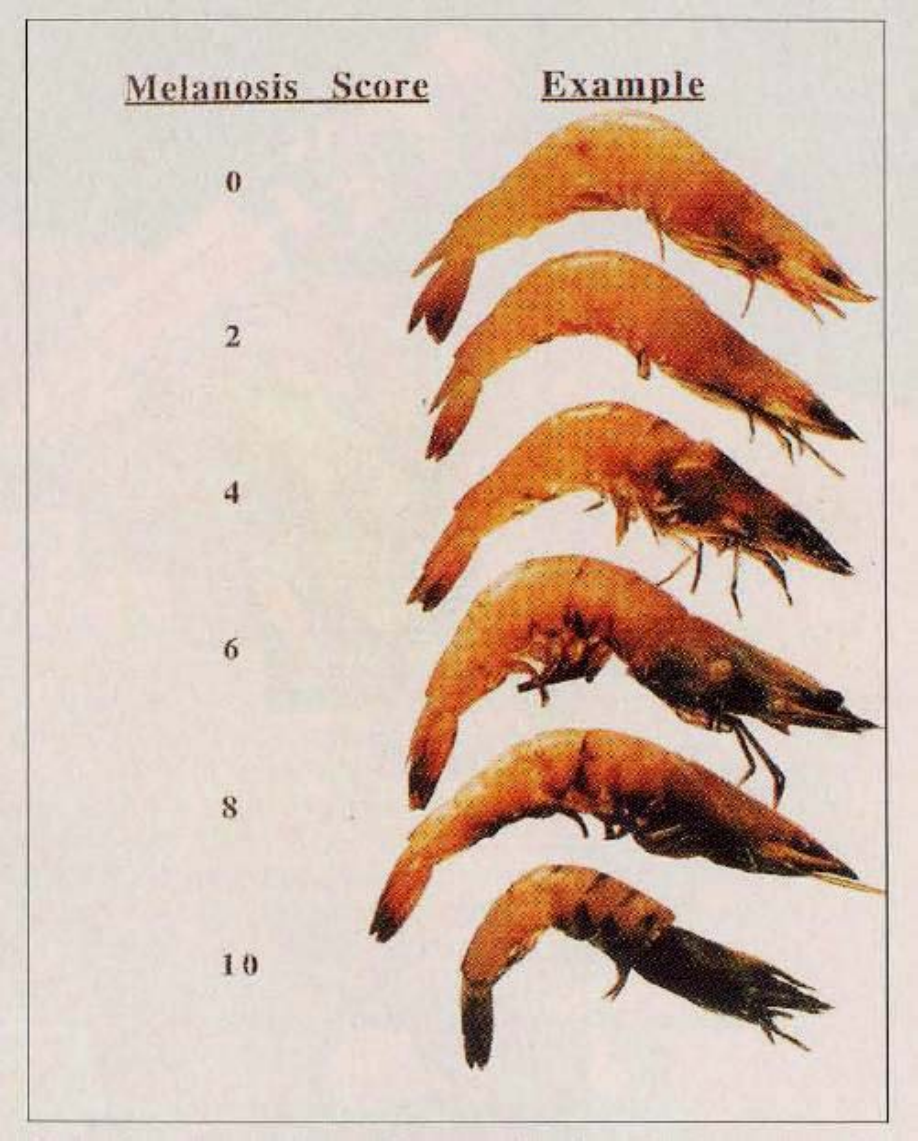
B. Bozulmuş

Şekil 2.3. Karideslerde bozulmaya bağlı görülen değişimler (Varlık ve ark., 2007)

2.2. MELANOSİS

Melanosis olarak ifade edilen kararma Crustacealar'da ölüm sonrası muhafaza boyunca ortaya çıkan kalite kaybı problemidir. Bu olay besinsel kayıplara, pazarlama değerinde düşmeye ve tüketicinin ürünü kabulünde azalmaya neden olmaktadır.

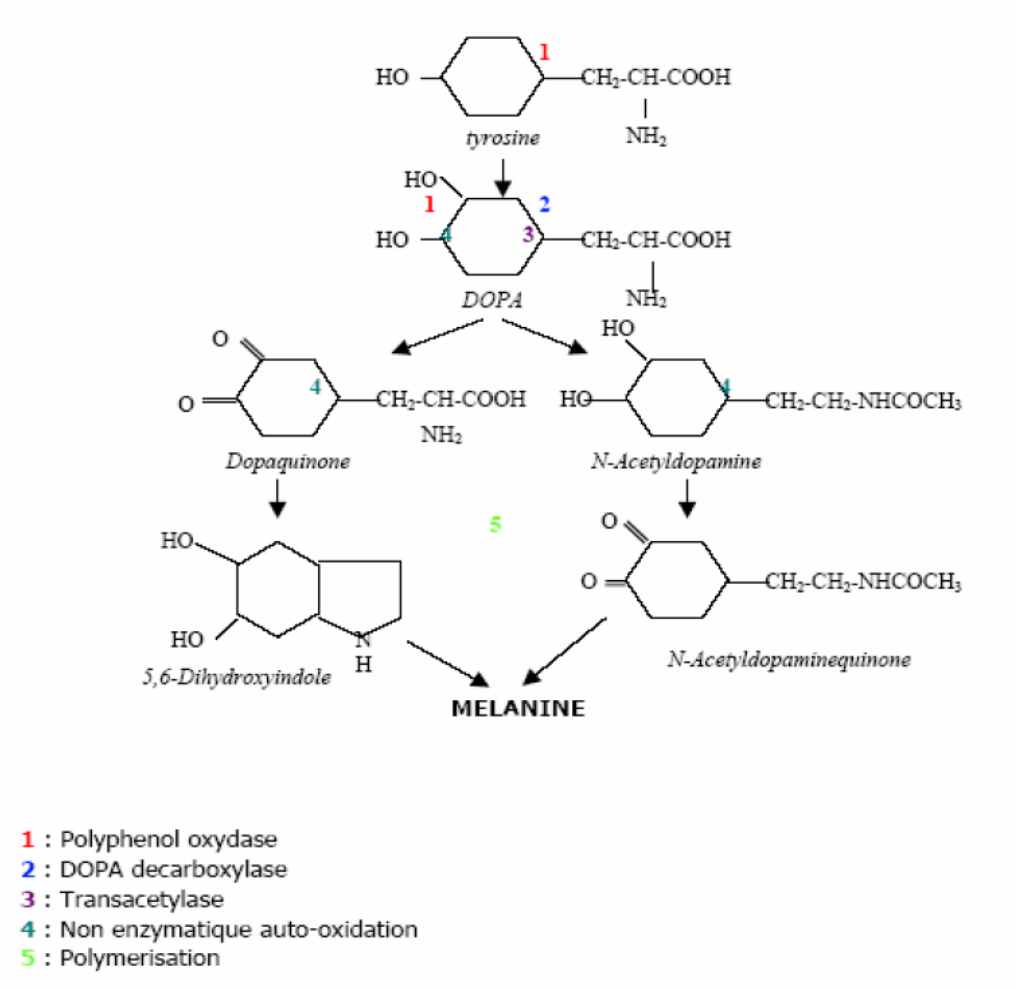
Karideslerde meydana gelen melanosis gelişimi konusunda on üzerinden değerlendirilen bir skala geliştirilmiştir. Bu skalaya göre 4 değerine kadar karidesler kabul edilebilir kalitede iken bu değerden sonra kabul edilemez nitelik göstermektedir (Şekil 2.4.) (McEvily ve ark., 1991).



Şekil 2.4. Kararma skalasına dayalı karides değerlendirmesi

Karides melanosisi polimer pigmentlerinin enzimatik faaliyetler sonucu yüzeyde görülen renk değişimidir (Otwell ve Marshall, 1986). Polifenol oksidaz (PFO) enzimi bu reaksiyonu katalize etmektedir. Karides soğukta muhafaza edilse de polifenol oksidaz etkisi devam etmekte, dondurma işlemi melanosisin oluşumuna engel olsa da çözündürme işlemi sonrası bu reaksiyonun sürmesiyle melonosis denen kararma oluşmaktadır (Frankos ve ark., 1991).

Bu renk değişiminin nedeni karides etinin proteinlerinin dekompozisyonu sonucu tirosin ve de hidroksi fenilalanin açığa çıkmasıdır. PFO enziminin etkisiyle bu aminoasitler oksitlenerek melanin pigmentlerine dönüşür (Şekil 2.5.). Melanin pigmentleri canlı vücutlarının yüzeyinde bulunur. Siyah veya kahverengi renktedir. Kuvvetli ışıkları absorblayarak deriyi ışıktan korur. Melanin pigmentlerinin yapısı derinlemesine bilinmemekle birlikte tirosin ve triptofan olarak bilinen amino asitlerin değişiminden meydana geldiği bildirilmektedir. Bu enzim, karides kasında ölüm sonrası proteoliz boyunca açığa bırakılan tirozin ve diğer fenolik bileşiklerin oksitlenerek kuinonlar ve dihidroksifenil alaninlerin oluşumunu katalize etmektedir. Bunu kuinonun yüksek molekül ağırlıklı pigmentler vererek enzimatik olmayan polimerizasyonu takip eder ve bu biyokimyasal reaksiyondan sonra melanin pigmentleri oluşumu ile birlikte kararma başlar, karideslerde melanin pigmentleri siyah renkli olduğu için et siyahlaşır. Karideslerde siyahlaşmanın en çok görüldüğü bölge tirozinaz enziminin fazlalığından dolayı baş ve ayak çevreleridir. Karideslerin kabuklarında görülen melanosis, melaninler tarafından enzimatik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkmasından önce bu olayın mikrobiyal aktivite sonucu olduğu iddia edilmişse de, günümüzde karideslerin dokularında bulunan PFO enziminin oksidatif aktivitesi nedeniyle olduğu anlaşılmıştır (Chinivasagam ve ark., 1998; Gökoğlu, 2004; Montero ve ark., 2001).



Şekil 2.5. Enzimatik kararma zinciri (Mendes, 2006)

2.2.1. Polifenol Oksidaz (PFO)

PFO, Uluslararası Biyokimya Birliğinin sınıflandırmasında monofenol monooksijenaz (EC 1.14.18.1) ve kateşol oksidaz (EC 1.10.3.1) olarak yer almıştır. Monofenol oksidaza tirosinaz, fenolaz, monofenol oksidaz ve kresolaz gibi geleneksel isimler verilmiştir. Kateşol oksidaz ise difenol oksidaz, o-difenolaz, fenolaz, polifenoloksidaz ve tirosinaz olarak adlandırılmıştır. PFO pek çok reaksiyon katalizleyebilir. Bir monofenol olan p-kresolü, difenol 4-metil kateşol okside ederlerken, bir o-difenol olan kateşolü ise o-benzokinone parçalarlar (Gökkaya, 2009).

Bakır içeren bir enzim olan PFO iki farklı reaksiyon katalizler (Gökkaya, 2009);

- monofenollerin o-difenollere hidroksilasyonu
- o-difenollerin o-kinonlara dehidrojenasyonu

PFO düşük pH' larda (pH 3) enzim aktivitesini kaybetmeye başlamakta ve maksimum aktiviteyi pH 6-8 aralığında sağlamaktadır (Zamorano ve ark., 2009).

Canlı karideste eksoskeletonda bulunan polifenol oksidaz enzimi ölüm sonrası eksoskeleton boyunca birkaç bölgede melanosisi oluşturur. Genellikle, sefalotoraksın karapaksında, telson ve üropodlardan oluşan kaudal bölgede ve başlıca kutikula segmentlerinin birleşme yerleri ile kutikulanın pleopodlarla birleştiği yerler olmak üzere abdomen kutikulasında yer alır. Ayrıca eti kaplayan yüzey membranlarında ve hemolimflerde de ortaya çıkabilir (Şekil 2.6.). Melanosis önce başta başlar ve kuyruğa doğru yayılır. Melanosisin yayılma hızı; türlere, her türdeki oluşum miktarı; enzim konsantrasyon miktarı ya da enzimatik aktiviteye göre değişmektedir (Montero ve ark., 2001). Bu etkiyi durdurmak için antioksidatif ve antimikrobiyal özellik gösteren kimyasallar kullanılmaktadır. Kimyasal maddelerden yararlanılan süreçte polifenol oksidaz anahtar enzimi oluşturmaktadır. Bu enzimin aktiviteside bakır iyonlarına etkilidir. Bu iyonların çıkarılması ya da karmaşıklaştırılması polifenol oksidaz aktivitesini durdurur ya da azaltır (Erkan ve ark., 2007).



Şekil 2.6. Karideslerde melanosisin gerçekleştiği başlıca bölgeler (Zamorano ve ark., 2009)

2.2.2. Kararmayı Engelleyici Katkılar

Gıdaların görünüm ve lezzetlerini tüketicinin arzu ettiği duruma getirmek, bozulmalarını önleyerek, gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla gıdalara tüketime sunulmadan önce bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilen maddelere gıda katkı maddeleri denilmektedir. Gıda katkı maddelerinden bozulmayı önleyenler (koruyucular) şu sekilde sınıflandırılır;

1. Antimikotikler (Küflenmeyi Önleyiciler)
2. Mikrop Antagonistleri (Bakteri Üremesini Önleyiciler)
3. Antioksidanlar (Oksidatif Bozulmayı, Acılasmayı Önleyiciler)
4. **Antibrowning Ajanlar (Enzimatik Bozulmayı Önleyenler)** (Angiş ve Oğuzhan, 2008)

2.2.2.1. Antibrowning Ajanlar

Bu ajanlar altı başlık altında incelenirler;

1. **Enzim inhibitörleri**
   Aromatik karboksilik asitler
   Alifatik Alkoller
   Resorsinol grupları
   Anyonlar
   Peptidler

2. **Enzim Uygulamaları**
   Oksigenazlar
   O-metiltransferazlar
   Proteazlar

3. **Asitlendiriciler**
   Sitrik asit
   Fosforik asit

4. **İndirgeyici ajanlar**
   Sülfit indirgeyici ajanlar
   Askorbik asit ve benzerleri
   Glutatyonlar

Sistin

5. **Şelatin ajanlar**
   Fosfatlar
   EDTA
   Organik asitler

6. **Kompleks ajanlar**
   Kitosanlar
   Cyclodekstrinler

Karideslerin kararma yönündeki kalite kaybına yönelik olarak ticari anlamda Türkiye' de indirgeyici ajanlardan Sodyum metabisülfit kullanılmakta olup, Avrupa ve dünyada ise enzim inhibitörlerinden 4-Hexylresorcinol kullanımı sözkonusudur.

İndirgeyici ajanlardan Sülfitler

Sodyum metabisülfit yüzyıllardan beri yiyeceklerin hazırlanması ve korunmasında kullanılmaktadır. Sülfit ve sülfit yan ürünleri İspanyada gıdalarda antioksidan ve koruyucular olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Pozo, 1990; Hardisson ve ark., 2002). Sülfitler aynı zamanda enzimatik ve enzimatik olmayan kararmayı önleyici olarak kullanılmıştır (Williams ve ark., 1990; Hardisson ve ark., 2002).

Karidesleri kararmasını engellemek için kullanılan sodyum metabisülfitin, kimyasal formülü $Na_2S_2O_5$, bağıl molar kütlesi ise 190,11 dir. Renksiz kristal veya beyaz renkte kristal görünüşlü toz halinde ve kükürtdioksit kokusuna sahip bir maddedir. (TSE 1991). Ancak bu madde karideslerdeki renk değişimini engellerken, kalıntı miktarının insan sağlığını tehdit etmeyecek düzeyde olması da gerekmektedir. Sodyum metabisülfit katkı maddesinin bilinçsiz kullanımı tüketicinin sağlığını tehdit etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)' nde FDA (Food and Drug Administration) sülfit ajanlarının güvenliğinin tekrardan değerlendirilmesi üzerine sıkı baskılar uygulamaktadır (Erkan ve ark., 2007). Halk sağlığı yönündeki sodyum metabisülfit problemi sülfitin kullanımının çok sıkı denetlenmesine sebep olmuş, birçok ülke gıdalarda maksimum konsantrasyonu gösteren katkıların 'pozitif listesi' ne bunu da ekleyerek yayınlamışlardır. Avrupa'da değişik gıda maddelerindeki sodyum metabisülfit kalıntı miktarı "Directive 95/2/CE" ile belirlenmiştir. (Erkan ve ark., 2007)

“Su Ürünlerinde Sodyum Metabisülfit Kullanımı Genelgesi” nde (2002) karideslerin ve diğer kabukluların yenilebilir kısmında kabul edilebilir maksimum sodyum metabisülfit (Kükürt dioksit (SO2) cinsinden) 150 mg/kg (ppm) olarak belirtilmiştir. Bu miktar ise pişirilmiş ürünlerde Türk Gıda Kodeksi Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Maddeleri Tebliğine göre 50 mg/kg olarak verilmiştir.

Sülfür dioksit veya sülfit içeren yiyecekler aşağıdaki gibi sıralanmaktadır:

- kurutulmuş ve paketlenmiş meyveler, meyve suları,
- bira, şarap vs gibi fermantasyon ürünü içecekler,
- turşu ve salamuralar,
- sucuk, hazır salatalar, patates cipsleri,
- karides ve diğer deniz ürünleri ve
- işlemden geçmiş hazır yiyecekler

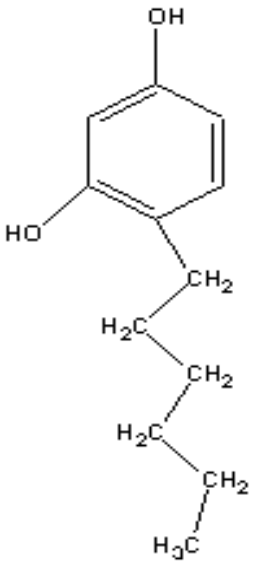
Bira, şarap, deniz ürünleri, kızarmış hazır patates ve soslu gıdaların içine konan sodyum metabisülfit sindirim kanalına girdikten sonra kükürtdioksite dönüşmekte ve bunun solunması ile ani astım krizleri ortaya çıkmaktadır. Bu olay daha çok lokantalarda olduğu için "lokanta astımı" olarak bilinir. Sülfitler hassas kişilerde astıma neden olurken, normal kişilerde de ürtiker, anjionörotik ödem ve anafilaktik şok gibi reaksiyonlara neden olmaktadır (Erkan ve ark., 2007). Sülfitlerin kararmayı önlemede kullanılmasının yanında olumsuz yan etkileri de özellikle astımlılarda aşırı duyarlılık reaksiyonlarına sebep olur ve astım ataklarını tetiklemektedir (Pozo, 1990; Hardisson ve ark., 2002). Astımlı hastaların %5 ile 10’ u arasındaki kısmı sülfitlere karşı çok duyarlı olduğu görülmüş özellikle steroid bağımlı astımlılar akut astım atakları yönünden daha çok risk taşımaktadırlar. Steroid’ e bağlı astımlar sülfitlerin tüketimini takiben ortaya çıkan ve büyük risk oluşturan akutlaşmış astım krizleridir. Bu da astımların %5 ila 10’ nu oluşturmaktadır. Normalde astım krizleri görülürken yanında bazı semptomlar da görülmektedir. Astım, yanın da bu semptomlara rastlanmıyor ise bu astım metabisülfitten kaynaklanmaktadır (Hardisson, 2002). Ayrıca Sülfitler göğüste sıkışma, kurdeşen, karında kramp, ishal, kan basıncı düşmesi, başta yanma hissi, halsizlik, nabız hızlanması gibi bulgulara da neden olur. Tedavide metabisülfit içeren yiyeceklerden kaçınmak gerekmektedir (Erkan ve ark., 2007).

Kararmayı önlemede kullanılan sülfitler aynı zamanda B1 vitamini (Tiamin)nin bozulmasına sebep olmaktadır (Hardisson ve ark., 2002).

Sülfitlerin tüketimini takiben ortaya çıkan ve büyük risk oluşturan akutlaşmış astım krizleri astım ataklarının %5 ila 10' nu oluşturmaktadır. Tüm bunların dışında bu madde gıdalarda tiaminin yıkımlanmasına da sebep olur. Ortalama olarak 65 kg ağırlığında bir insan farklı porsiyonlarda karides tükettiği zamanki sülfit alımı ve bu alımlar mukayese edilmiş ADI ve FAO/WHO tarafınca günlük alınabilecek miktar 0.7 mg/kg/gün: 45.5 mg/gün olarak belirlenmiştir (Hardisson ve ark., 2002).

Sülfitlerin kullanımından kaynaklanan değişik bir çok sağlık probleminden dolayı alternatifler öne sürülmüş 4-Hexylresorcinol tavsiye edilmiştir (Mc Evily ve ark., 1991).

Enzim inhibatörlerinden 4-Hexylresorcinol



Şekil 2.7. 4-Hexylresorcinol kimyasal yapısı

4-Hexylresorcinol'ün molekül yapısı içinde dihidroksibenzen ve buna bağlı hexil grubu ve 1 ve 3. pozisyonunda aromatik halkaya bağlı hidroksi gruplarından oluşmuştur. 4-Hexylresorcinol'ün molekül formülü $C_{12}H_{18}O_2$ olup molekül ağırlığı 194.2737 Erime noktası 65-70°C, kaynama noktası ise 333-335 ^{o}C' dir (Şekil 2.7.) (Frankos ve ark., 1991; **http://www.chemexper.com/search/cas/136776.html**)

4-Hexylresorcinol'ün özellikle uzun bir süredir ilaçlarda kullanımı vardır. En fazla boğaz pastillerinde antiseptik olarak kullanılmıştır. Bunun yanında uzun yıllar boyunca

antihelmintik özelliğinden dolayı yoğun olarak kullanılmıştır. Günümüzde ise 4-hexylresorcinol karideslerde melanosisi önlemede kullanılmı da söz konusu olmuş, 4-Hexylresorcinol'ün dondurulmuş ve taze karideslerin laboratuar sonuçlarına göre siyah benek (black spot) inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır (Frankos ve ark., 1991).

Yapılan hayvansal toksitite testleriyle 4-hexylresorcinol'ün kronik durumu ve kanser yapıcı etkisi ABD toksitoloji programı tarafından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede mısır yağındaki 4-hexylresorcinol dişi ile erkek sıçan ve farelere belli dozlarda 2 yıl boyunca verilmiş, sıçan ve farelerde yaşam süreleri boyunca herhangi bir etki görülmemiştir. Sadece yüksek doz alan erkek sıçanlar ve fareler ile dişi farelerde 16 hafta süresince kilo kaybı görülmüştür. Bu çalışma sonucunda herhangi bir kanser yapıcı etkisine rastlanmamıştır (National Toxicology Program (NTP), 1988).

Aynı zamanda 4-Hexylresorcinol GRAS değerlendirmesine tabi tutulmuştur. Generally recognized as safe = Genel olarak güvenilir-zararsız kabul edilen ifade "GRAS" olarak kısaltılmıştır. Amerika Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) bazı katkı maddelerini sadece belirli amaçlar için ve belirli şartlara uyulduğunda GRAS olarak kabul etmiştir. GRAS olarak nitelenen her bir katkı maddesini GRAS olarak nitelenmeyen muhtemel diğer versiyonlarından ayıracak tüm özellikler (karakteristikler) tatminkâr bir şekilde tanımlanarak yayımlanmıştır. Dolayısıyla hazırlanan listede GRAS yazılı olan katkı maddesi GRAS izni alındığı şartlarda kullanıldığı varsayılarak GRAS denilmiştir. Antimelanosis olarak kullanılan 4-Hexylresorcinol için GRAS kriter kayıtları 21 CFR 170.30 da belirtilmiştir. Bu kriterler FDA tarafından belirlenen karideslerdeki kararmada kullanılan 4-hexylresorcinol için "Bilimsel prosedürleri" içermektedir. Bu prosedürler yayınlanmış ve yayınlanmamış insan hayvan analitik ve diğer bilimsel çalışmaları içermektedir (21 CFR 170.3(h)) (NTP, 1988).

Günlük alınabilecek 4-Hexylresorcinol limiti;

Bir gıda maddesinin güvenli olabilmesi için kriter FDA 21CFR 170.30(i) e göre insanların belirli bir limitlerde kullandığı gıdaların içeriğinde bulunan doğal veya katkı maddelerinin tüketildiği zaman zararlı bir yan etkisinin olmaması gerekmektedir. Güvenliğin belirlenmesinde 3 ana faktör vardır;

- Maddenin muhtemel tüketimi ve kullanımı nedeniyle gıda üzerinde yada içinde oluşan maddeler,
- Diyetteki kimyasal ve farmakolojik madde yada maddelerin de hesaba katıldığı, kümülatif etkisi,
- Gıda ve gıda maddelerini değerlendirme yetisine sahip bilimsel eğitim ve tecrübe sahibi kimseler tarafından kabul edilen güvenlik faktörleridir.

Bu faktörlere bağlı kabul edilebilir günlük (ADI- Accebtable Daily Intake) maksimum miktar belirlenmiştir.

4-Hexylresorcinol için ADI (Günlük alım limiti);

Taze karidesler ile çeşitli çalışmalar yapılarak 4-Hexylresorcinol miktarı belirlenmiştir; günlük maksimum alınabilecek 4-Hexylresorcinol miktarı 0.11 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Frankos ve ark., 1991).

4-Hexylresorcinol' ün sülfite alternatif olarak kullanılmasının hem balıkçılar hem de tüketiciler için önemli avantajları vardır. 4-Hexylresorcinol kimyasal olarak stabil olması balıkçılar için de herhangi bir risk taşımaması anlamına gelmektedir. Sülfitler kimyasal olarak stabil olmayışı değişik reaksiyonlara uğrayarak yüksek konsantrasyonlarda sülfit gazlarına dönüşebilmekte teknelerde balıkçıların ölümüne varabilecek etkiler gösterebilmektedir. Aynı zamanda Sülfitler 4-Hexylresorcinol ile karşılaştırıldığında karidesler üzerinde beyazlatıcı etki göstermekte 4-Hexylresorcinol' ün 50 mg/kg kullanımında herhangi bir beyazlatıcı bir etkisi bulunmamaktadır (McEvily, 1991).

Sağlık yönünden uygunluğuyla birlikte yapılan çalışmalarda %1.25' lik bisülfit uygulaması 50 mg/kg' lık 4-Hexylresorcinol konsantrasyonuyla karşılaştırılmış 12 günlük depolamada karides melanosisin engellenmesi istenilen seviyede kalmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 4-Hexylresorcinol kullanımı ürün kalitesinde tat, renk ve görünümde herhangi bir olumsuz etki yapmamıştır (Otwell ve ark., 1992).
Türk Gıda Kodeksinin 2008-22 nolu "Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği" ile 4-Hexylresorcinol kimyasalı için "taze, dondurulmuş ve derin dondurulmuş kabuklu su ürünlerinde kullanılabilir en yüksek değer 2 mg/kg (kabuklu su ürünü etinde)" ifadesiyle gerekli sınırlama yapılmıştır.

2.3. 4-HEXYLRESORCINOL' ÜN KARİDESLERDE KULLANIMI

Melanosis Crustacealar'da hasat sonrası muhafaza boyunca ortaya çıkan bir problem olup bu durum, karideslerin yakalanmasından hemen sonra kaçınılmaz olarak ortaya çıkmaktadır.

Thepnuan ve ark., (2008) yapmış oldukları bir çalışmada *Litopenaeus vannamei* türü karideslerin pirofosfatlar ve MAP ile birlikte 4-Hexylresorcinol kombineli kullanımında raf ömründe ciddi bir iyileştirme yaptığını yapılan uygulamanın mikrobiyolojik ve kimyasal aktiviteyi bozulma parametreleri bakımından minimize ettiğini bulmuşlardır. Aynı çalışmada 4-Hexylresorcinol' ün melonnosis gelişimi üzerinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha etkili olduğunu tespit etmişleridir.

Schubring (1997)' in literatür bildirimlerinden derlediklerine göre melanosis oluşumunun inhibasyonunda %0.0025 konsantrasyonun efektif olarak etkili olduğunu belirtmişlerdir.

4-Hexylresorcinol' ün etkisi konusu Otwell ve ark., (1992) tarafından araştırılmış ve bu maddenin hem deniz avcılık uygulamalarında hem de yetiştiricilik uygulamalarında güvenli bir şekilde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yine yaptıkları çalışma ile karideslerin 50 ppm' lik (mg/kg) 4-Hexylresorcinol solusyonuna daldırılmasının 12-14 günlük depolamada melanosis gelişiminin inhibasyonunda iyi kalitenin korunumu için yeterli olduğunu bulmuşlardır.

Mert (2007) tarafından pembe karideste yapılan bir araştırmada 4-Hexylresorcinol' un %0.0025 konsantrasyonda 7.güne kadar, %0.05 konsantrasyonda 12.güne kadar, %0.62 konsantrasyonunda iki hafta ve %0.1 konsantrasyonda iki haftalık bir sürede melanosis oluşumu önemli derecede engellediğini tespit etmiştir.

Perez-Mateos ve ark.(2002)' nın istiridyelerde yaptığı bir çalışmada 4-Hexylresorcinol' ü yüksek basınç uygulaması ile birlikte kullanmışlardır. Çalışmada istiridye etleri 5°C' lik % 3.5 deniz tuzu içeren suya daldırılmış ve ardından 50 ppm 4-Hexylresorcinol bu solüsyona eklenmiştir. 10 dakika solüsyonda tutulan örnekler süzdürüldükten sonra polietilen filmlere sarılmış ve 5°C'de kontrol örnekleri ile birlikte depolanmış

4-Hexylresorcinol uygulama gruplarının raf ömürlerinde de artış bulmuşlardır.

Guandalini ve ark., (1998) yapılan çalışmada kararma işleminde kullanılan 4-Hexylresorcinol ve Sodyum metabisülfit karşılaştırmış; 1g/kg' lık Sodyum metabisülfit solüsyonun 5 gün boyunca göstermiş olduğu melanosis inhibasyonunun 25 ve 50 mg/kg lık 4-Hexylresorcinol konsantrasyonuyla sağlandığını bulmuşlardır.

McEvily ve ark., (1991)'nın bildirdiklerine göre, 12500 ppm' lik Sodyum metabisülfit' in kararmayı engellemede göstermiş olduğu etkinin 7 gün sürdüğü, 5 ppm lik 4-Hexylresorcinol' ün ise kararmayı önlemedeki etkisi 12500 ppm' lik Sodyum metabisülfit ile eşdeğer olduğudur.

Dawley ve Flurkey (1993) belirtmesine göre polifenol oksidaz gelişiminin engellenmesi için gıda sektöründe kullanılmasına izin verilen en iyi bileşik olarak 4-Hexylresorcinol olduğunu belirtmişlerdir. Yine aynı makalede bu kullanımdaki en ideal konsantrasyon seviyesini ise 100 µM olarak vermişlerdir.

ABD' nde yürütülen karides çalışmaları sonucunda 4-Hexylresorcinol ile muamele edilen karideslerin kalıntısı %38 oranında baş kısmında %62 oranında gövde kısmında olduğu tespit edilmiştir (Frankos, ve ark., 1991).

Bu çalışmada 4-Hexylresorcinol kullanımının farklı süre, konsantrasyon ve uygulama teknikleri sonucunda pembe karideste kalıntı bırakma düzeylerinin belirlenmesi ve buna bağlı bir matematiksel modelin ortaya konması amaçlanmıştır.

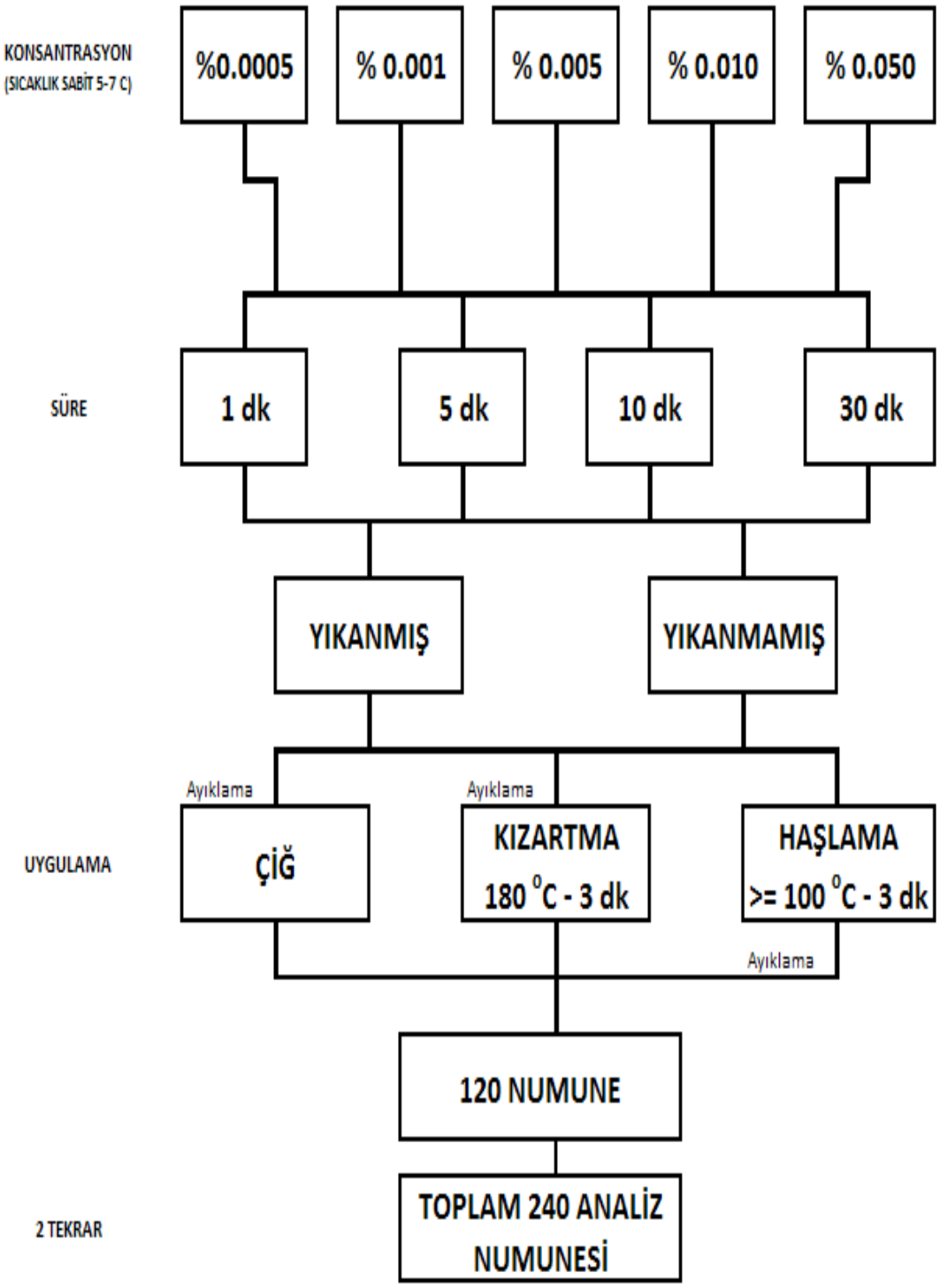
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

Bu çalışmada malzeme olarak Marmara Denizi'nden avlanan derin su pembe karidesi (*Parapenaeus longirostris*, Lucas 1846) kullanılmıştır. Karidesler Marmara Denizi'nde avlanmış, herhangi bir koruyucu kimyasal uygulaması yapılmadan (Tuzla kayıkhanesi-İstanbul) strafor kutular içinde karides örnekleri buzlanmış olarak İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuarlarına ulaştırılmıştır.

3.1.1. Materyal Ön Hazırlıkları

Çalışmada kullanılmak üzere balıkçı tekneleri ile avlanan 50 kg karides 10 kg lık strafor kutularda buzlanmış (karides:buz=1:1) olarak 2 saat içerisinde İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilimdalı Laboratuvarına getirilmiştir. Örnekler her biri 5 kg olacak şekilde beş gruba ayrılmıştır. Beş farklı konsantrasyonda (% 0.0005, %0.001, %0.005, %0.01 ve %0.05) hazırlanan 4-Hexylresorcinol çözeltilerine her grup örnek 1, 5, 10 ve 30 dakika süreyle daldırılmıştır. Daldırılan her örnek kendi içinde iki gruba ayrılmıştır (15 saniye süre ile şehir şebeke suyunda yıkama işlemi yapılmış ve yıkama işlemi yapılmamış). Yıkanmış örnekler kendi içinde, yıkanmamış işlemler kendi içinde çiğ, haşlama (100°C 3 dakika süreyle) ve kızartılmış (180°C'de 3 dakika süreyle) olarak üç gruba ayrılmıştır. Tüm bu örnekler hazırlandıktan sonra toplam 240 adet örnekte 4-Hexylresorcinol kalıntı analizi yapılmıştır. Deney deseni iki tekrarlı olarak aynı anda yürütülmüştür. Toplam 240 örnek homojenize edildikten sonra steril plastik örnek kaplarına konarak analiz edilmek üzere -20°C'lık derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Her örnekte 4-Hexylresorcinol analizi üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları iki tekrarın ortalaması olarak verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışma Akış Şeması

İşlem 1: Avlanan karidesler strafor kutular içinde buzla kaplı olarak laboratuara getirilmiştir (Şekil 3.2. ve 3.3.).



Şekil 3.2. Laboratuvara getirilen örnekler



Şekil 3.3. Buzlarından ayıklanmadan önce örnekler

İşlem 2: 4-Hexylresorcinol solusyonlarının hazırlanması ve örneklerin bu solusyonlara daldırılması: 4-Hexylresorcinol kimyasalı %99 saflıkta Acros Organics firmasından (Katalog kodu: 197921000, Lot: A0232846) temin edilmiş, % 0,0005, % 0,001, % 0,005, % 0,01 ve % 0,05 lik 5 farklı konsantrasyonda 10 litrelik çözeltiler şeklinde hazırlanmıştır. Gruplara ayrılan karidesler 5 farklı konsantrasyona daldırılarak 1., 5., 10. ve 30. Dakika süreyle 4-Hexylresorcinol solusyonlarında bekletilmiştir. Her gruptan 2,5 kg numune alınmıştır (Şekil 3.4. ve 3.5.).



Şekil 3.4. Karideslerin eşit olarak 5 gruba ayrılması



Şekil 3.5. Hazırlanan 5 farklı konsantrasyondaki 4-Hexylresorcinol çözeltileri

İşlem 3: Alınan her 2,5 kg lık numune tartım yoluyla 2 porsiyona ayrılmıştır. Her iki porsiyondan biri 15 saniye şehir şebeke suyu ile yıkanmış (Şekil 3.6.), diğer örnek ise yıkanmamıştır.



Şekil 3.6. Yıkama işlemine tabi tutulan karidesler

İşlem 4: Yıkama işlemi uygulanan ve uygulanmayan gruplarda kendi içinde çiğ, kızartılmış (180 °C dereceye ısıtılmış ayçiçeği yağında teflon tavada 3 dk.) ve haşlama (1L beher içinde kaynayan suda 3 dk.) gruplamaları oluşturularak toplam 120 örnek elde edilmiştir (Şekil 3.7., 3.8. ve 3.9.).



Şekil 3.7. 180 °C yağda kızartılan ayıklanmış karides etleri



Şekil 3.8. 100 °C suda haşlama yapılan karidesler

İşlem 5: Bu çalışma iki tekrarlı olacak şekilde aynı av örneğinden kurulmuştur. Toplam 240 örnek laboratuar tipi parçalayıcıda (Retsch, GM 200, Almanya) 2 dakika süre ile homojenize edildikten sonra steril plastik kaplara konmuş analiz edilene kadar -20 °C' lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. Homojenize edilen karides örnekleri

3.2. YÖNTEM

3.2.1. 4-Hexylresorcinol Kalıntı Analizi

4-Hexylresorcinol kalıntı analizi Jonker ve Dekker (2000) tarafından yayınlanan metot modifiye edilerek Yüksek Basınçlı Sıvı Kromotografi (HPLC) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Yöntemin Prensibi;

Yöntem karides örneklerinin metanol ile ekstrakte edilerek ihtiva ettiği 4-hexylresorcinol' ün karides etinden ayrılarak alınması ve Ters Faz-HPLC analiz tekniği ile Floresan dedektörde ölçülmesidir.

Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar;

- Methanol : Merck (gradient grade for liquid chromatography) 1.06007.2500
- Acetonitrile : Merck (gradient grade for liquid chromatography) 1.00030.2500
- Potassium dihydrogen phosphate : Merck 1.04873.1000
- Ortho – Phosphoric Acid : Merck 1.00573.1000
- Deiyonize saf su
- 0.22 μm şırınga tipi naylon filtre (Chrom Tech SNY 2213 13mm)
- 25 mL ve 50 mL hacimli balon joje
- 10 mL, 25 mL ve 100 mL' lik mezürler
- 10 μL, 100μL ve 1 mL' lik otomatik pipetler
- 10 mL' lik şırınga
- 50 mL' lik santrifüj tüpleri

Ekstraksiyon Yöntemi;

Homojenize karides örneği (5 g ±0.01 hassasiyetle) santrifüj tüpüne tartılarak üzerine 10 mL deiyonize saf su ilave edilerek 30 saniye el ile hızlıca çalkalandı. 15 mL Methanol eklendi. 30 saniye Ultra Torax parçalayıcı (Janke & Kunkel IKA-Labortechnik T25 Almanya) ile parçalandı. 5 dakika 3000g'de santrifüj (Hettech Universal 320R – Almanya) edildi. 50 mL'lik balon jojeye süpernatant alındı. Pelete yeniden 15 mL methanol ilave edilerek santrifüj aşaması tekrar edildi. Son olarak pelete 10 mL metanol eklenerek, 1 dakika tüp karıştırıcıda karıştırıldı ve aynı şartlarda santrifüj edildi. Süpernatant aynı balon jojeye toplandı. Balon joje deiyonize saf su ile hacme tamamlandı. Buradan 5 mL alınarak 25 mL'lik balon jojeye konuldu, mobil faz ile hacme tamamlandı. 0.22 μm şırınga tipi naylon filtre ile HPLC cihazına enjeksiyon yapmak üzere süzüldü.

Cihaz Konfigürasyonu;

- Pompa : Shimadzu LC 10 AT vp seri pompa (2 Adet)
- Oto örnekleyici : Shimadzu SIL 10AD vp Soğutmalı oto örnekleyici (4°C' ye kadar)
- Dedektör : Shimadzu RF 10AXL Floresan dedektör
- Kolon Fırını : Shimadzu CTO 10AV vp
- Sistem Kontrol : Shimadzu SCL 10A vp
- Cihaz Yazılımı : Class-Vp 6.14

Kromatografik Koşullar;

- Enjeksiyon hacmi : 50 µL
- Akış Hızı : 0.8 mL/dk
- Mobil faz : 40/60 Fosfat tampon çözelti/Acetonitrile (izokratik)
- Fosfat tampon çözelti: 1.36g KH_2PO_4 1 litre suda çözülerek 0.01M tampon elde edildi. %25 lik H_3PO_4 ile pH 3' e ayarlandı.
- Dedektör : Floresans
- Dalga Boyu : Ex: 280nm, Em: 310nm
- Kolon : ACE C18 250 x 4.6 mm 5µm
- Kolon Fırını Sıcaklığı: 35 °C
- Analiz Süresi : 9 dk



Şekil 3.10. Analizlerde kullanılan HPLC cihazı

Standart Çözeltilerin Hazırlanması;

Ana Stok Çözelti (500 ppm): 4- hexylresorcinol standartından 50 mg 100 mL' lik balon jojeye tartıldı ve metanol ile hacmine tamamlandı.

Ara Stok Çözelti (5 ppm): Ana Stok çözeltiden 1mL alınıp 100 mL' lik balon jojeye kondu ve Methanol ile hacmine tamamlandı.

Çalışma Standartları: Ara stok çözeltiden 2µL, 10µL, 20µL, 100µL, 200µL, 500µL, 1000 µL ve 2000 µL hacimlerde 10 mL'lik balon jojelere alınarak mobil faz ile hacimlerine tamamlandı ve 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500 ve 1000 ppb konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmış oldu.

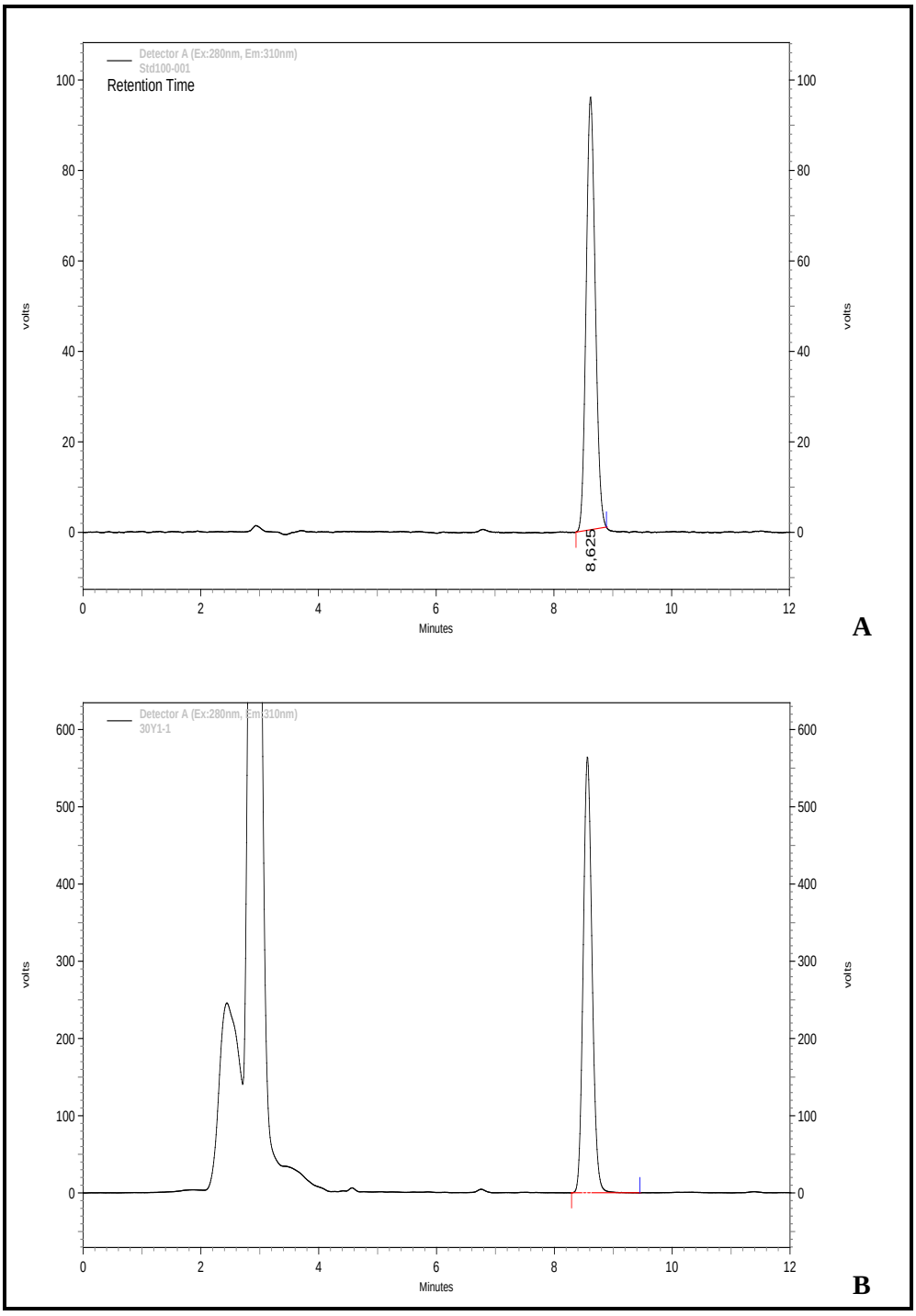
Hazırlanan Standart çalışma çözeltilerinin her biri HPLC cihazında uygun kromotografik koşullar sağlandıktan sonra 3'er kere enjeksiyon yapıldı. Bu enjeksiyonların sonucunda elde edilen kromotogramlar ile 2 adet lineer hesaplama grafiği oluşturuldu. Bu linearitelerden birincisi 1 ile 250 ppb arasında, ikincisi 250 ile 1000 ppb arasında oluşturuldu.

Tüm örnekler HPLC cihazına 3'er kere enjeksiyon yapıldı.

Hesaplama;

HPLC cihazında örnek sonuçları standartların lineer eğrileri üzerinden hesaplanarak (µg 4-hexylresorcinol/L) konsantrasyonu bulunur ve aşağıdaki formüle konur.

$$4-\text{Hexylresorcinol (ppm)} = \frac{HPLC\ okuma\ değeri\ (\mu\frac{\text{g}}{\text{L}}) \times 0.250\ \text{L}}{\text{Örnek Ağırlığı (g)}}$$



Şekil 3.11. A 4-Hexylresorcinol Standart kromotogramı, B Karides örneği kromotogramı

Yöntem Validasyonu;

Metodun validasyonu The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics (Eurochem Guide-1998)' e göre Linearite, Geri kazanım, Tekrarlanabilirlik, LOD (Limit of Dedection) ve LOQ (Limit of Quantification) yapılmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme;

Verilerin istatistiksel analizi STATISTICA Versiyon 7 (StatSoft Tulsa, Oklahoma-USA) programında ANOVA Post-Hoc test ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

Farklı konsantrasyon ve sürelerde 4-Hexylresorcinol uygulanmış çiğ, haşlanmış ve kızartılmış derin su pembe karidesinde 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarı HPLC cihazı ile belirlenmiş elde edilen tüm bulgular aşağıda sunulmuştur.

4.1. KONSANTRASYONLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yapılan çalışma sonuçlarında konsantrasyonun etkisi bakıldığında istatistiksel olarak $p<0.05$ seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur. Düşük konsantrasyonlarda farklılık az görülürken konsantrasyon miktarı arttıkça süreye de bağlı olarak belirgin farklılıklar tespit edilmiştir.

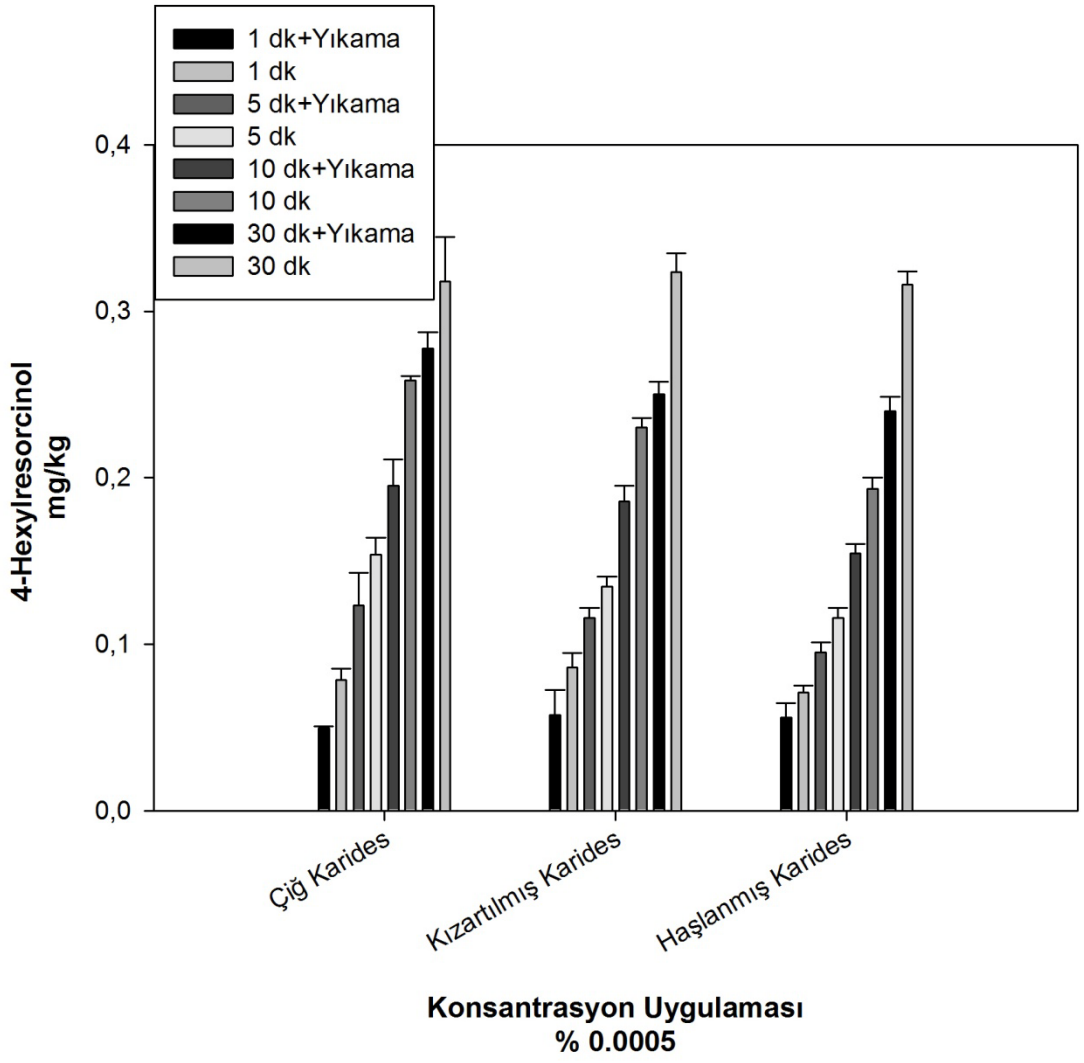
4.1.1. %0.0005 (5ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi

Yapılan çalışmadaki en düşük konsantrasyon uygulamasında 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin Tablo 4.1 ve Şekil 4.1' de görüldüğü gibi yıkama uygulaması yapılan örneklerin sonuçlarının yıkanmamış örneklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir fakat bu örnekler arasındaki 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarı farkının yapılan istatistiki değerlendirme sonucu önemli ($p>0.05$) olmadığı görülmüştür. Uygulanan bu konsantrasyonda çiğ, kızartılmış ve haşlanmış karides örneklerinin 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarları arasında uygulanan işleme bağlı herhangi bir istatistiksel önem ($p>0.05$) arz eden bir düşüş veya yükseliş tespit edilmemiştir.

Birinci konsantrasyonda (%0.0005) 4-Hexylresorcinol uygulaması yapılmış karides örneklerindeki kalıntı miktarı sonuçları Tablo 4.1.' de verilmiştir. Yıkanmamış çiğ, karides örneklerinde % 0.0005 konsantrasyon uygulanmasında kalıntı miktarı uygulanan süredeki artışla doğru orantılı olarak yükselmiştir. Haşlanmış ve kızartılmış karides örneklerinde de bu konsantrasyon uygulamasında uygulama süresine bağlı olarak kalıntı miktarında artış gözlemlenmiştir (Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.). Bu uygulama süresine bağlı artış istatistiksel olarak ta $p<0.05$ aralığında önemli bulunmuştur. Bu konsantrasyonda tespit edilen en yüksek 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 30 dakikadaki yıkanmamış çiğ karideste (0.318 mg/kg), kızartılmış karideste (0.324 mg/kg) ve haşlanmış karideste (0.316 mg/kg) tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. 4-Hexylresorcinol' ün %0.0005 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi

4 – Hexylresorcinol (mg/kg)	**1 dk + Yıkama**	**1 dk**	**5 dk + Yıkama**	**5 dk**	**10 dk + Yıkama**	**10 dk**	**30 dk + Yıkama**	**30 dk**
Çiğ Karides	0.050 ±0.001	0.079 ±0.007	0.124 ±0.019	0.154 ±0.010	0.195 ±0.016	0.258 ±0.003	0.278 ±0.010	0.318 ±0.027
Kızartılmış Karides	0.058 ±0,015	0,086 ±0,008	0,116 ±0,006	0,135 ±0,006	0,186 ±0,010	0,230 ±0,005	0,250 ±0,007	0,324 ±0,011
Haşlanmış Karides	0,056 ±0,009	0,071 ±0,004	0,095 ±0,006	0,116 ±0,006	0,155 ±0,006	0,193 ±0,007	0,240 ±0,008	0,316 ±0,008



Şekil 4.1. 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü

4.1.2. %0.001 (10ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi

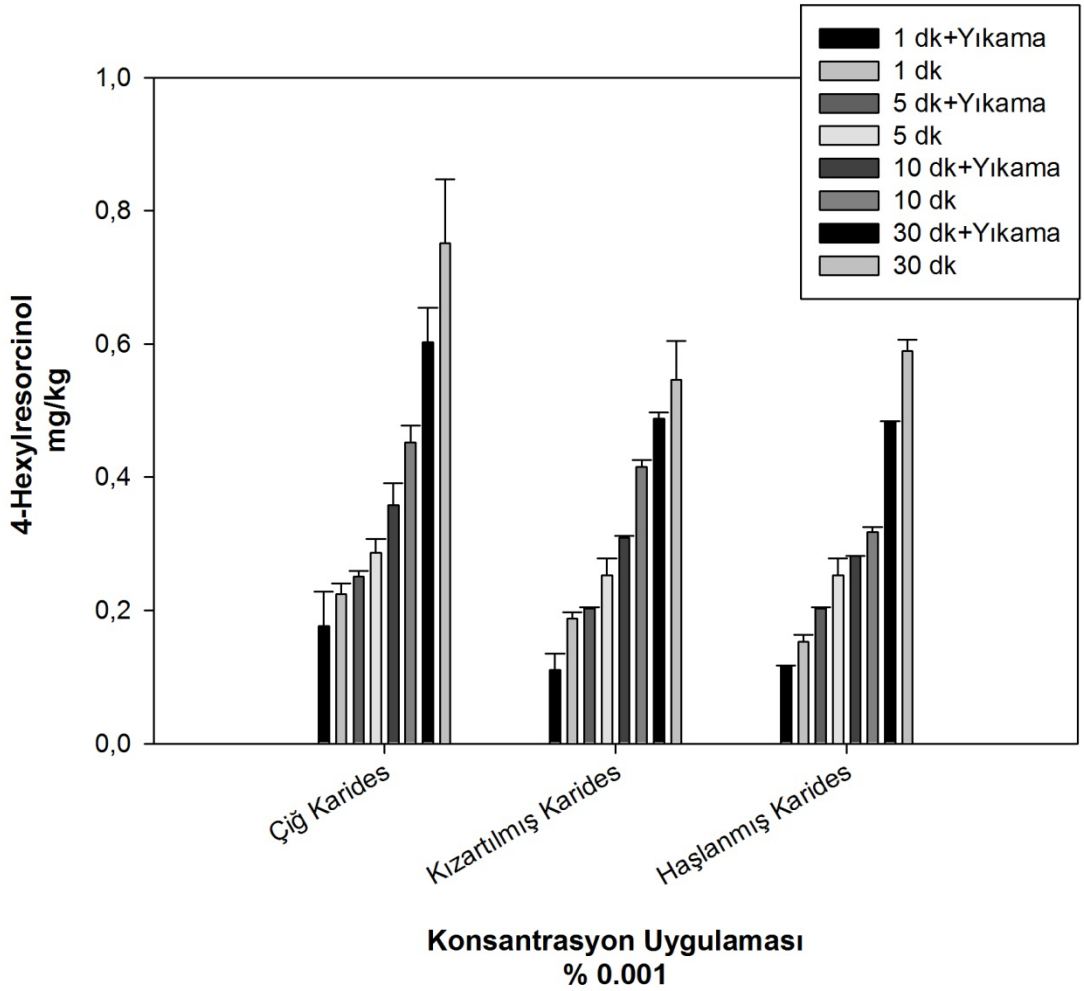
%0.001' lik 4-Hexylresorcinol uygulaması sonuçları Tablo 4.2. ve Şekil 4.2.' de verilmiştir. Bu konsantrasyon düzeyinde de 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi sonuçları yıkama uygulaması yapılan örnek sonuçlarının yıkanmamış örneklere göre daha düşük bulunmuştur. fakat örnekler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı tespit edilmiştir.

Yıkanmış ve yıkanmamış çiğ karides örneklerinin %0.001 konsantrasyonunda 1 dakika bekletilmesinden sonra tespit edilen 0.177 mg/kg ve 0.225 mg/kg' lık 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi. süredeki artışla doğru orantılı olarak yükselmiştir. Benzer artış haşlama ve kızartma işlemi uygulanmış karideslerde de bulunmuştur (Tablo 4.2. ve Şekil 4.2.). Bu artış istatistiksel olarak $p<0.05$ aralığında önemli düzeydedir. Bu konsantrasyonda tespit edilen en yüksek 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 30 dakikadaki yıkanmamış çiğ karideste 0.751 mg/kg. kızartılmış karideste 0.546 mg/kg ve haşlanmış karideste 0.589 mg/kg olarak bulunmuştur.

Yıkanmış ve yıkanmamış kızartma ve haşlama işlemi uygulanmış karideslerin 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeylerinin çiğ karideslerdeki kalıntı düzeylerinden daha düşük olduğu belirlenmiş fakat bu farkın istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. 4-Hexylresorcinol' ün %0.001 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi

4 – Hexylresorcinol (mg/kg)	1 dk + Yıkama	1 dk	5 dk + Yıkama	5 dk	10 dk + Yıkama	10 dk	30 dk + Yıkama	30 dk
Çiğ Karides	0.177 ±0.051	0.225 ±0.016	0.251 ±0.008	0.287 ±0.021	0.358 ±0.033	0.452 ±0.025	0.603 ±0.051	0.751 ±0.096
Kızartılmış Karides	0.111 ±0.024	0.188 ±0.009	0.201 ±0.008	0.242 ±0.022	0.309 ±0.003	0.416 ±0.011	0.489 ±0.009	0.546 ±0.058
Haşlanmış Karides	0.116 ±0.001	0.153 ±0.010	0.203 ±0.002	0.253 ±0.026	0.282 ±0.001	0.318 ±0.007	0.484 ±0.001	0.589 ±0.017



Şekil 4.2. 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü

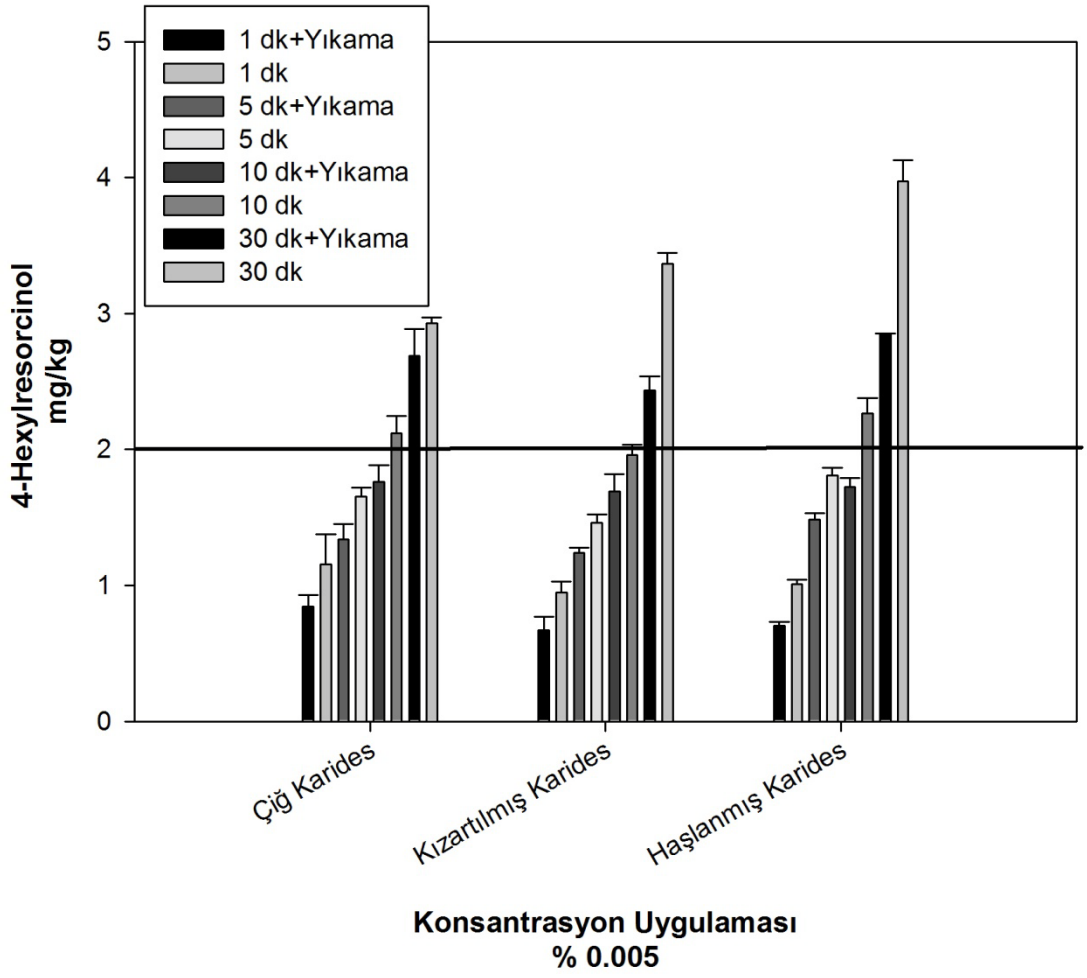
4.1.3. %0.005 (50ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi

Çiğ, kızartılmış ve haşlanmış karides örneklerine uygulanan %0.005'lik 4-Hexylresorcinol uygulamasının sonuçları Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.' de gösterilmiştir.
Bu konsantrasyon uygulaması (%0.005) yapılan çiğ, kızartılmış ve haşlanmış örneklerin her uygulama süresinde bulunan kalıntı miktarı sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Aynı durum bu konsantrasyonun tüm zaman uygulamalarında yıkanmış ve yıkanmamış karides örneklerindeki kalıntı düzeyinde de tespit edilmiştir.

Çiğ karides örneklerine göre, kızartılmış ve haşlanmış karides örneklerindeki kalıntı düzeyleri genel olarak azalış gösterse de bazı sürelerde kalıntı miktarında artışa rastlanmıştır. Bu azalış ve artışların istatistiksel olarak $p>0.05$ aralığında önemli olmadığı tespit edilmiştir. Çiğ karides örneklerinin %0.005 konsantrasyonunda 1 dakika bekletilmesi sonucunda bulunan 1.154 mg/kg kalıntı düzeyi, uygulama süresindeki değişime bağlı olarak artmıştır. Benzer artış kızartılmış ve haşlanmış karideslerde de bulunurken bunun da istatistiksel olarak $p<0.05$ aralığında önemli olduğu saptanmıştır. (Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.). %0.005 konsantrasyonunda en yüksek 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 30 dakikadaki yıkanmamış çiğ karideste 2.927 mg/kg, yıkanmamış kızartılmış karideste 3.369 mg/kg ve yıkanmamış haşlanmış karideste 3.973 mg/kg olarak bulunmuştur.

Tablo 4.3. 4-Hexylresorcinol' ün %0.005 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi

4 – Hexylresorcinol (mg/kg)	1 dk + Yıkama	1 dk	5 dk + Yıkama	5 dk	10 dk + Yıkama	10 dk	30 dk + Yıkama	30 dk
Çiğ Karides	0.845 ±0.087	1.154 ±0.224	1.337 ±0.118	1.655 ±0.0637	1.760 ±0.124	2.121 ±0.128	2.689 ±0.198	2.927 ±0.043
Kızartılmış Karides	0.673 ±0.096	0.950 ±0.078	1.242 ±0.034	1.463 ±0.059	1.695 ±0.123	1.962 ±0.074	2.435 ±0.104	3.369 ±0.077
Haşlanmış Karides	0.706 ±0.026	1.009 ±0.034	1.486 ±0.046	1.810 ±0.055	1.725 ±0.064	2.266 ±0.110	2.850 ±0.003	3.973 ±0.154



Şekil 4.3. 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü

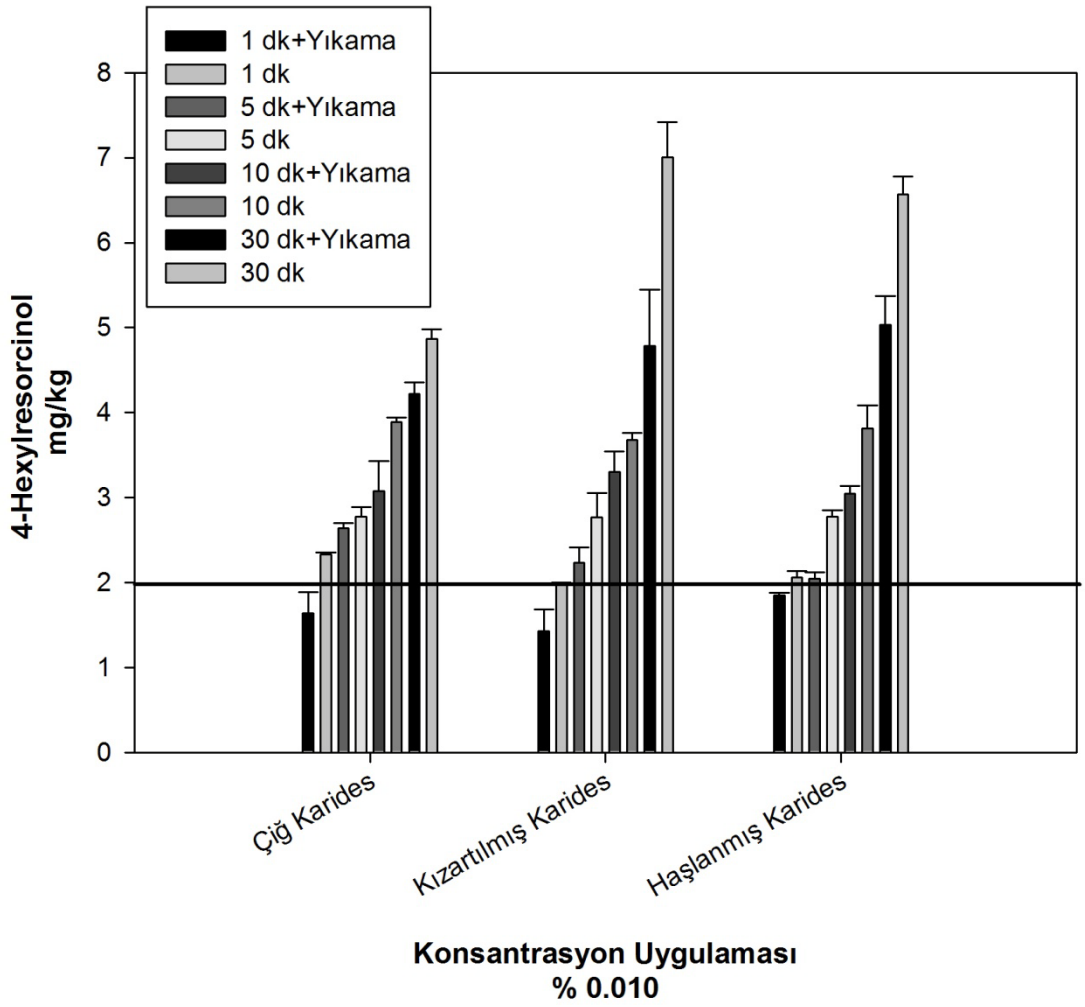
4.1.4. %0.01 (100ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi

Karides örneklerine uygulanan %0.01' lik 4-Hexylresorcinol uygulamasının tüm sonuçları Tablo 4.4 ve Şekil 4.4' de verilmiştir. Yıkanmamış ile yıkanmış %0.01 konsantrasyonunda 4-Hexylresorcinol uygulanmış çiğ, kızartılmış ve haşlanmış örneklerdeki 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyleri arasındaki fark uygulanan her süre için istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Haşlama ve kızartma işlemi uygulanmış karideslerdeki kalıntı düzeyleri çiğ karideslerdeki kalıntı düzeylerine göre azalış ve artış gösterse de yapılan istatistiki değerlendirmede bunun $p>0.05$ aralığında önemsiz olduğu bulunmuştur.

%0.01 konsantrasyonunda 1 dakika tutulan çiğ karides örneklerinde tespit edilen 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 2.329 mg/kg olarak tespit edilmiştir ve bu miktar uygulama süresindeki değişime bağlı olarak artış göstermiştir. Kızartılmış ve haşlanmış karideslerde de süreye bağlı artış bulunmaktadır. Süreye bağlı olan bu artış tüm örnekler için istatistiksel olarak $p<0.05$ aralığında önemli bulunmuştur (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4). Yüzde 0.01 konsantrasyonunda en yüksek 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 30 dakikadaki yıkanmamış çiğ karideste 4.869 mg/kg, kızartılmış karideste 7.009 mg/kg ve haşlanmış karideste 6.572 mg/kg olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4. 4-Hexylresorcinol' ün %0.01 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi

4 – Hexylresorcinol (mg/kg)	**1 dk + Yıkama**	**1 dk**	**5 dk + Yıkama**	**5 dk**	**10 dk + Yıkama**	**10 dk**	**30 dk + Yıkama**	**30 dk**
Çiğ Karides	1.635 ±0.248	2.329 ±0.028	2.637 ±0.066	2.771 ±0.115	3.075 ±0.353	3.889 ±0.050	4.219 ±0.138	4.869 ±0.109
Kızartılmış Karides	1.431 ±0.250	1.971 ±0.027	2.237 ±0.175	2.764 ±0.288	3.300 ±0.246	3.682 ±0.078	4.785 ±0.660	7.009 ±0.410
Haşlanmış Karides	1.846 ±0.032	2.063 ±0.071	2.046 ±0.075	2.772 ±0.076	3.050 ±0.083	3.818 ±0.264	5.031 ±0.341	6.572 ±0.206



Şekil 4.4. 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü

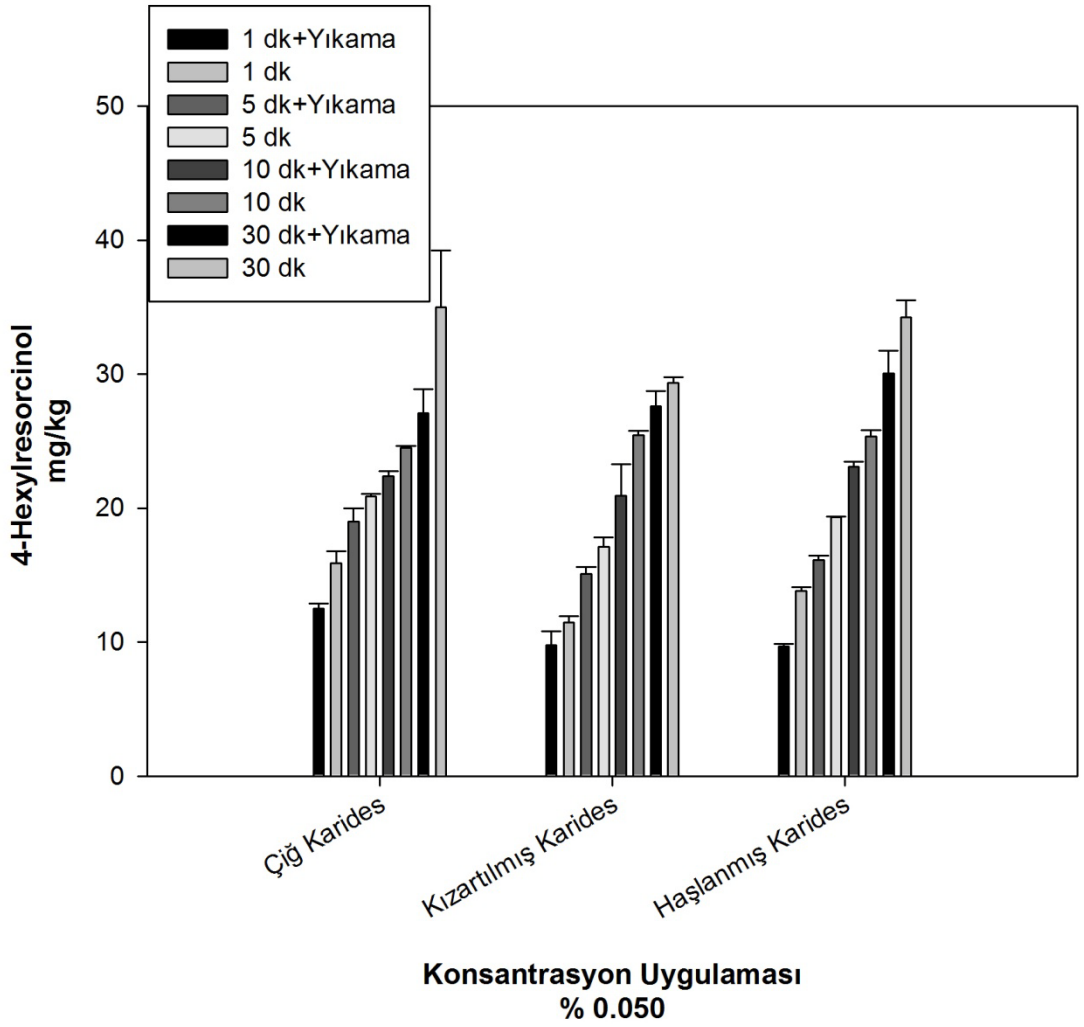
4.1.5. %0.05 (500ppm) Konsantrasyon Değerlendirilmesi

4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyini belirlemek için yaptığımız çalışmada uygulanan en yüksek konsantrasyon %0.05 dir. Bu konsantrasyon uygulamasının yapıldığı tüm sürelerde yıkanmış ve yıkanmamış çiğ, haşlanmış ve kızartılmış karides örneklerinde 4-Hexylresorcinol için verilen kalıntı limit değeri 2 mg/kg' ın çok üzerinde değerler bulunmuştur (Tablo 4.5. ve Şekil 4.5.). Her bir uygulama süresi ayrı ayrı değerlendirildiğinde bu konsantrasyonun da çiğ, kızartılmış ve haşlanmış örneklerdeki değişim ve yıkanmamış ile yıkanmış örnek sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Kızartılmış ve haşlanmış karideslerdeki kalıntı düzeyleri çiğ karideslerdeki kalıntı düzeylerine göre değişim gösterse de yapılan istatistiki değerlendirmede bunun $p>0.05$ aralığında önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Uygulama süresine bağlı olarak yıkanmış ve yıkanmamış çiğ, kızartılmış ve haşlanmış karides örneklerinde %0.05'lik konsantrasyon uygulamasında kalıntı sonuçları süreye bağlı artış göstermiştir (Tablo 4.5. ve Şekil 4.5.). Yüzde 0.05 konsantrasyonunda en yüksek 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi 30 dakikadaki yıkanmamış çiğ karideste 35.016 mg/kg, kızartılmış karideste 29.353 mg/kg ve haşlanmış karideste 34.262 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. 4-Hexylresorcinol' ün %0.05 konsantrasyon uygulaması sonucu tespit edilen kalıntı düzeyi

4 – Hexylresorcinol (mg/kg)	**1 dk + Yıkama**	**1 dk**	**5 dk + Yıkama**	**5 dk**	**10 dk + Yıkama**	**10 dk**	**30 dk + Yıkama**	**30 dk**
Çiğ Karides	12.481 ±0.417	15.895 ±0.893	19.008 ±0.963	20.859 ±0.194	22.379 ±0.368	24.515 ±0.140	27.095 ±1.791	35.016 ±4.207
Kızartılmış Karides	9.783 ±1.022	11.464 ±0.484	15.096 ±0.535	17.138 ±0.713	20.933 ±2.354	25.462 ±0.300	27.631 ±1.112	29.353 ±0.430
Haşlanmış Karides	9.690 ±0.162	13.808 ±0.285	16.134 ±0.317	19.343 ±0.030	23.085 ±0.383	25.339 ±0.493	30.033 ±1.706	34.262 ±1.271



Şekil 4.5. 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinin grafiksel görünümü

Yapılan çalışma sonrası elde edilen tüm sonuçlar incelendiğinde en yüksek konsantrasyon olan % 0.05 uygulamasının sonucunda tüm örneklerde elde edilen kalıntı sonuçları limit değeri (2 mg/kg) aştığı görülmüştür. Bu uygulamada tespit edilen en düşük değer 1 dakika süre uygulamasında yıkanarak haşlama işlemi yapılmış örneklerde bulunan 9.69 mg/kg değeridir. Bu konsantrasyonda uygulamış olduğumuz 4-Hexylresorcinol, tüm sonuçlar incelendiğinde ticari karideslerde uygulanabilir en yüksek limit olan 2 mg/kg'lık değerin üzerinde olması sebebiyle % 0.05 lik konsantrasyonun uygulaması etik ve yasal çerçevelerde doğru değildir. Bu konsantrasyon uygulamasına ait tüm veriler bu sebeplerden dolayı Anova - Post Hoc Test istatistiksel hesaplamalarında grup dışı bırakılmıştır.

4.2. 4-HEXYLRESORCİNOL KONSANTRASYONUNUN UYGULAMA SÜRELERİNE GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

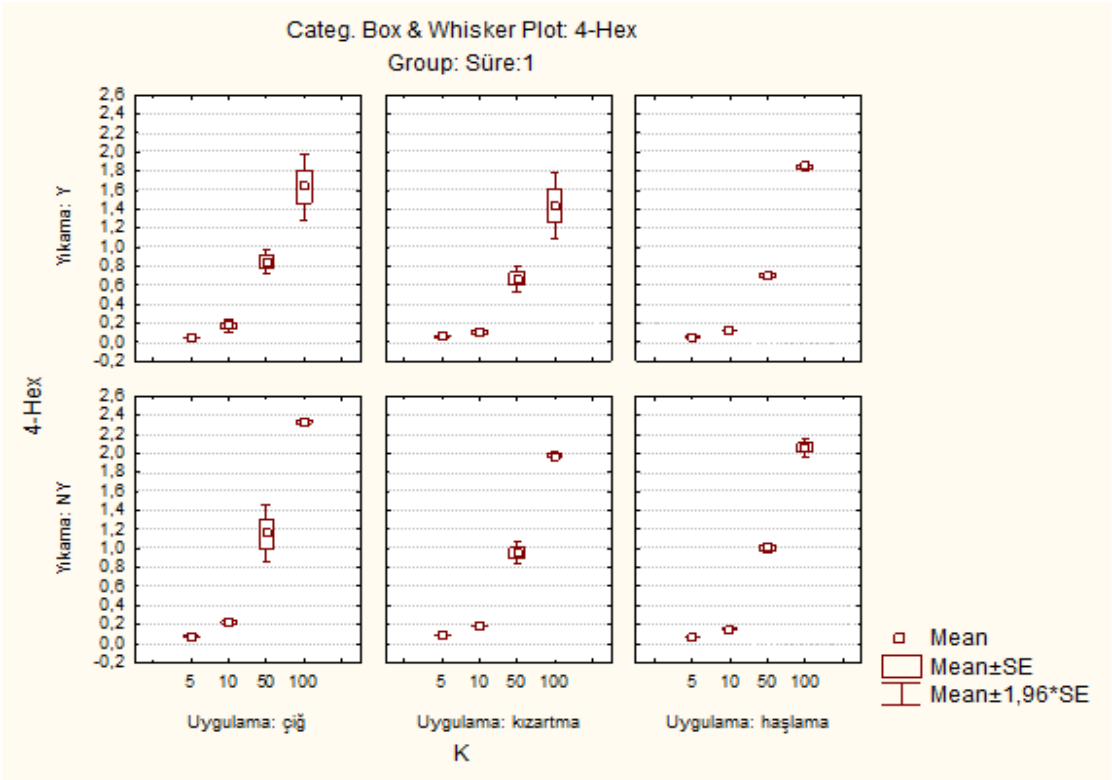
4.2.1. Bir Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatistiki Değerlendirilmesi

Yapılan çalışmanın tüm istatiksel hesaplamaları sonucunda sürenin ve konsantrasyonun $p<0.05$ aralığında önemli etkileri olduğu saptanmış ve süre-konsantrasyon ilişkisi incelenip görsel olarak yardımcı olması açısından Box&Whisker grafikleri düzenlenmiştir (Şekil 4.6.). Grafiklerde sonuçların ortalamaları, ortalama+standart sapmaları ve güven aralıkları verilmiştir. Grafiklerden ve elde edilen sonuçlara göre 1 dakika süre ile çiğ, kızartılmış ve haşlanmış örneklerde uygulanan konsantrasyondaki artışa bağlı olarak 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinde ($p<0.05$) önemli artış bulunmuştur.

Bir dakika süre uygulamasında çiğ analiz edilen karideslerde en düşük konsantrasyonda bulunan kalıntı değeri 0.050 mg/kg olarak yıkanmış örneklerde iken, en yüksek kalıntı değeri 2.329 mg/kg olarak yıkanmamış örneklerdedir. Haşlanmış karides örneklerinde en kısa süreli uygulamada tespit edilen en düşük 4-Hexylresorcinol değeri 0.056 mg/kg olarak yıkanmış örneklerde iken en yüksek değer 2.063 mg/kg ile yıkanmamış örneklerdedir. Kızartılmış örneklerde ise tespit edilen en düşük kalıntı değeri 0.058 mg/kg olarak yine yıkanmış örneklerde iken, en yüksek kalıntı değeri 1.971 mg/kg olarak yıkanmamış örneklerdedir.

1 dakika süre ile %0.0005 4-Hexylresorcinol uygulaması yapılan örneklerin tümünde bulunan kalıntı miktarı limit değer olan 2 mg/kg'ın yaklaşık 30 kat altında, %0.001 4-Hexylresorcinol uygulaması yapılan örneklerin tümünde ise yaklaşık 12 kat altındadır. Endüstriyel uygulamada en tercih edilecek uygulamanın, kalıntı miktarı limit değeri aşmayan fakat limit değere yakın kalıntı miktarına ulaşılan uygulamalar olduğunu varsayarsak bu iki konsantrasyonun uygulanması tercih edilmeyebilir. Bir dakika süre ile %0.01 konsantrasyon uygulamasının sonuçlarına baktığımızda ise 2 mg/kg sınır değerinin altında veya üstünde, dolayısıyla limit değer civarlarında kalıntı miktarı tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonda limit değer bazı uygulamalarda aşıldığı için bir dakika süre uygulamasında riskli olmaktadır.

Bir dakika süreyle %0.005 konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol uygulaması sonucunda karides örneklerinde tespit edilen en düşük kalıntı düzeyi 0.673 mg/kg, en yüksek kalıntı düzeyi ise 1.15 mg/kg dır. Bu değerler limit değerlerin 2-3 kat altında ancak limit değerlere oldukça yakındır.

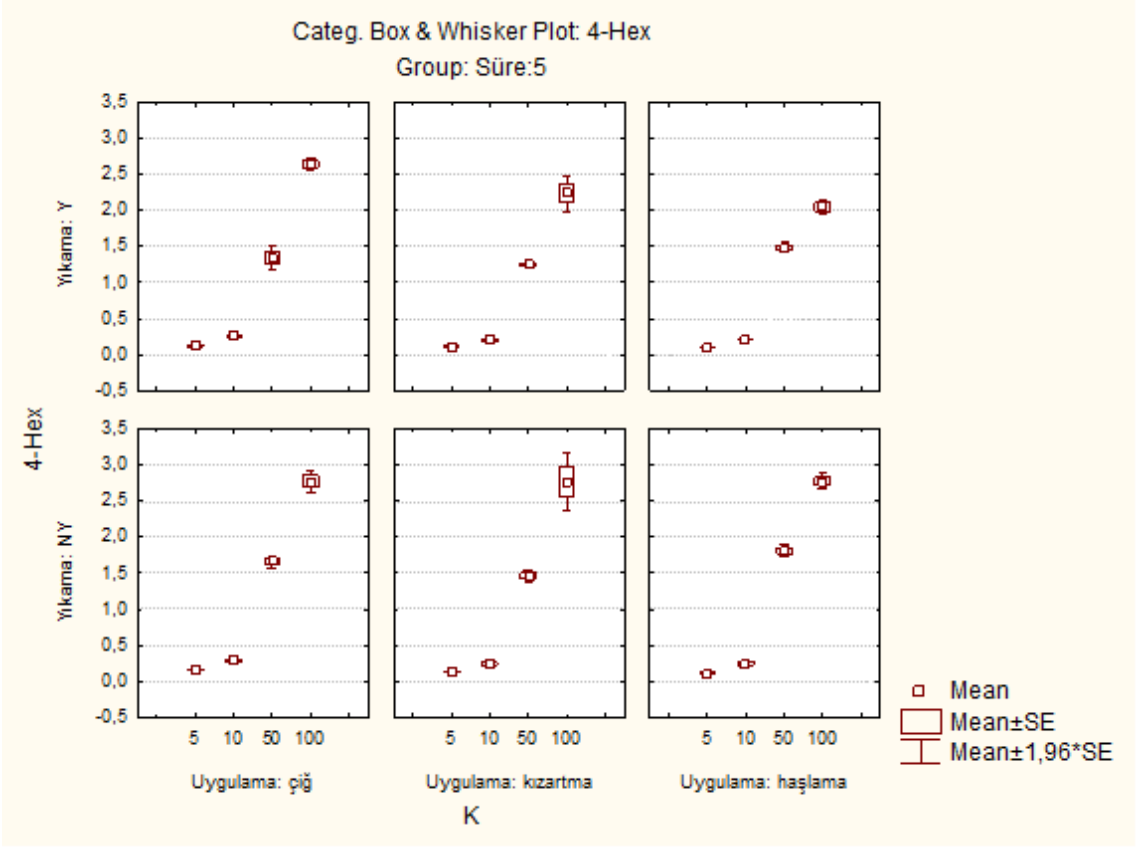


NY: Yıkama işlemi yapılmamış, Y: Yıkama işlemi yapılmış

Şekil 4.6. %0.0005 (5ppm), 0.001 (10ppm), 0.005 (50ppm) ve 0.01 (100ppm) konsantrasyonlarının 1 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları

4.2.2. Beş Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatistiki Değerlendirilmesi

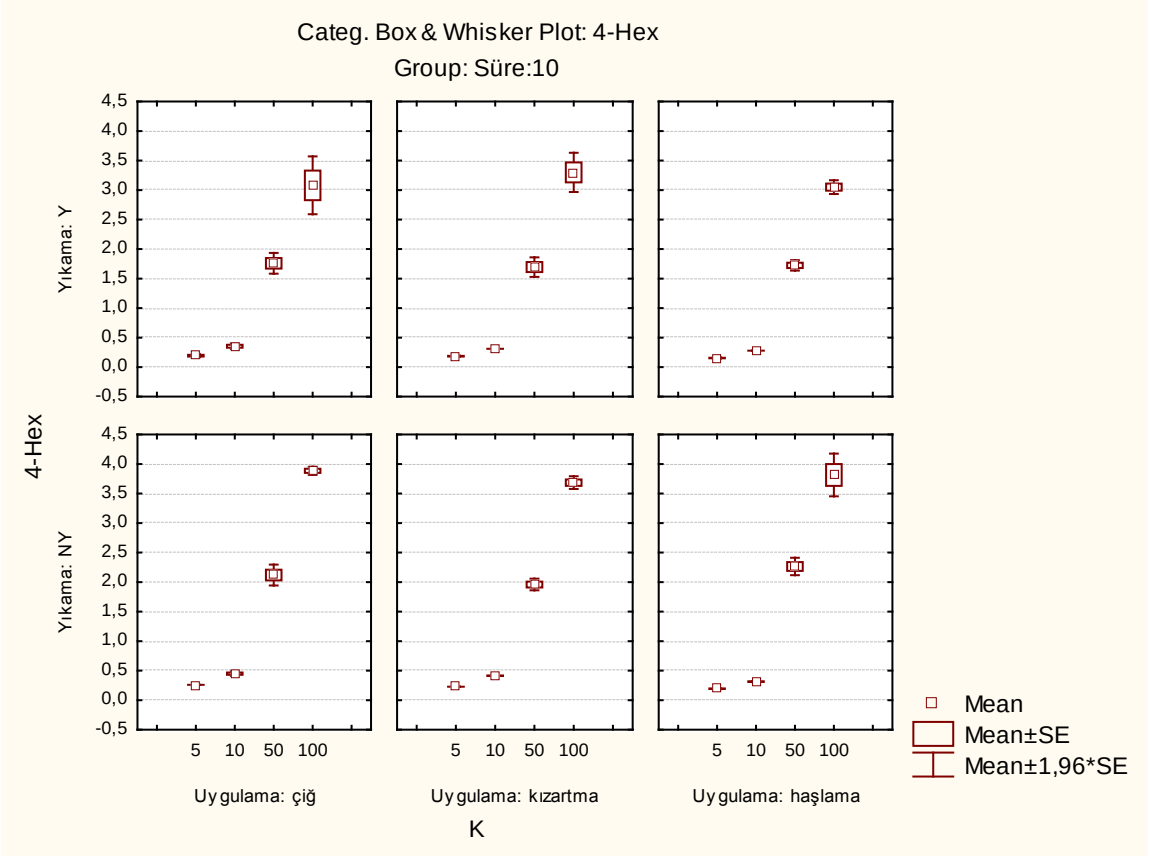
Dört farklı konsantrasyonun 5 dakika süre uygulamasına bakıldığında konsantrasyon miktarı arttıkça alınan kalıntı miktarı sonuçları da anlamlı şekilde artış göstermiştir (Şekil 4.7.). Çiğ analiz edilen karideslerde en düşük konsantrasyonda bulunan kalıntı değeri yıkanmış örneklerde 0.124 mg/kg iken, en yüksek konsantrasyon değeri yıkanmamış örnekte 2.771 mg/kg'dır. Haşlanmış karides örneklerinin kalıntı değerlerinde ise konsantrasyona bağlı olarak artış bulunmaktadır. Haşlanmış karides örneklerinde en düşük değer yıkanmış örneklerde 0.095 mg/kg iken en yüksek değer yıkanmamış örneklerde 2.772 mg/kg' dır. Kızartılmış karides örneklerinde tespit edilen en düşük değer de yıkanmış örneklerde 0.116 mg/kg, en yüksek değer yıkanmamış örneklerde 2.764 mg/kg' dır. %0.0005 ve % 0.001 konsantrasyon uygulamasının 5 dakika süre uygulaması tüm sonuçları incelendiğinde limit değerden yaklaşık 15-20 kat arası düşük kalmaktadır. %0.01 konsantrasyonda yapılan uygulamanın sonuçlarına göre çiğ, kızartılmış ve haşlanmış örneklerdeki kalıntı düzeyi 2 mg/kg limit değerinin üzerinde kalmıştır. % 0.005 konsantrasyonda yapılan uygulamada kalıntı sonuçlarında ise en düşük değer kızartılmış karides örneklerinde 1.24 mg/kg olarak bulunurken en yüksek değer haşlanmış karides örneklerinde 1.81 mg/kg olarak bulunmuştur. Bu konsantrasyonun sonuçları istatistiki olarak değerlendirildiğinde limit değerin altında ve kabul edilebilir durumdadır. Beş dakika süre uygulamasında genel olarak bakıldığında kabul edilebilir sonuçlar limitin altında fakat limite yakın olarak saptanan % 0.005 konsantrasyon uygulamasının sonuçları olarak gözlenmektedir.



Şekil 4.7. %0.0005 (5ppm), 0.001 (10ppm), 0.005 (50ppm) ve 0.01 (100ppm) konsantrasyonlarının 5 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları

4.2.3. On Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatistiki Değerlendirilmesi

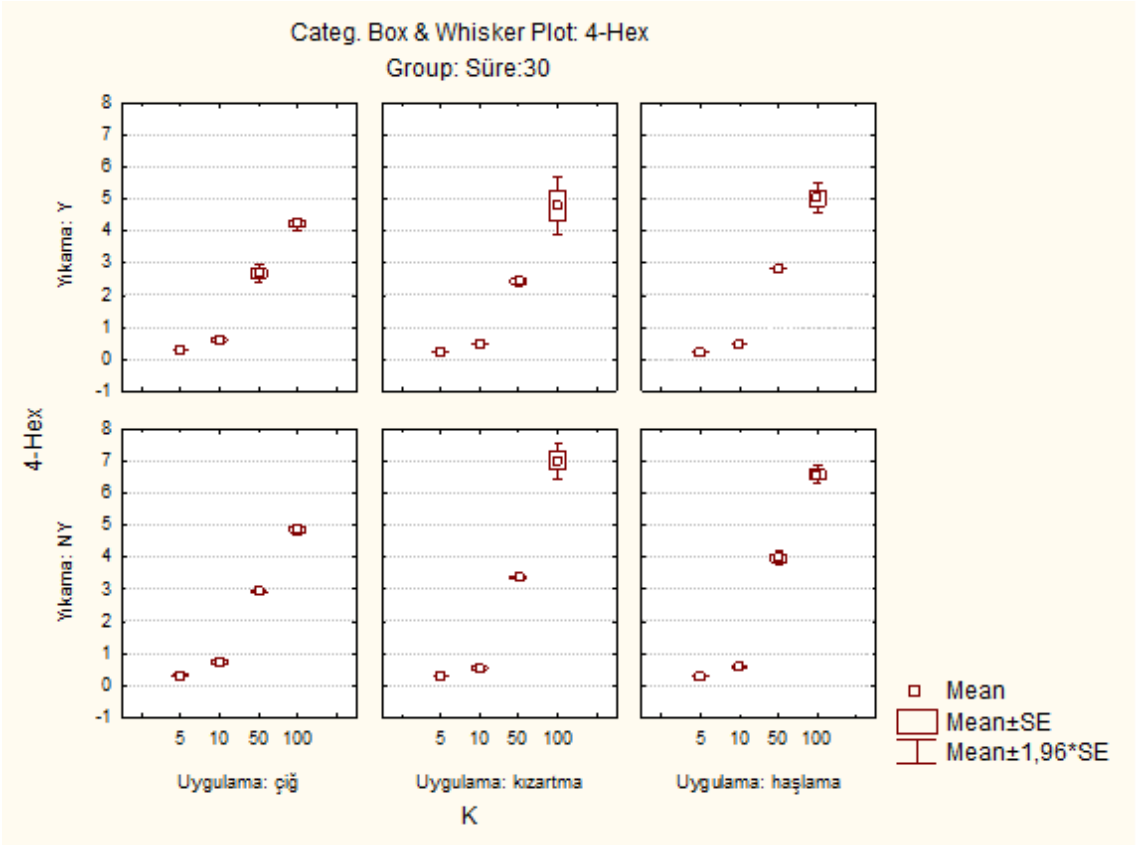
On dakika uygulamasında da 1 ve 5 dakika uygulamalarındaki gibi konsantrasyon artışlarına bağlı olarak kalıntı miktarı artışı gözlenmiştir. %0.0005 konsantrasyonunun sonuçları limit değerin yaklaşık 10 kat altında, %0.001'lik uygulama konsantrasyonlarında ise yaklaşık 6 kat altındadır. %0.01 konsantrasyonda ise tüm değerler limit değerin üzerinde çıkmıştır. % 0.005 uygulama konsantrasyonuna bakıldığında ise kalıntı miktarları limit değerin altında veya üstünde fakat limit değere çok yakın değerler bulunmuştur.



Şekil 4.8. %0.0005 (5ppm), 0.001 (10ppm), 0.005 (50ppm) ve 0.01 (100ppm) konsantrasyonlarının 10 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları

4.2.4. Otuz Dakika Süre İle 4 Farklı Konsantrasyonda 4-Hexylresorcinol Uygulamasının İstatistiki Değerlendirilmesi

Otuz dakika süre uygulamasında da % 0.005 ve % 0.01 konsantrasyonlarının sonuçları incelendiğinde tüm sonuçlar 2 mg/kg' ın üzerinde çıkmıştır. %0.0005 konsantrasyonunda sonuçlar sınır değerin yaklaşık 7 kat altında, % 0.001 konsantrasyonunda elde edilen sonuçlar ise limit değerin yaklaşık 4 kat altındadır (Şekil 4.9.) Elde edilen tüm sonuçlara bakıldığında 30 dakika uygulamasının tüm konsantrasyonları endüstriyel uygulanabilirlik anlamında uygun olmayabilir. Ayrıca 30 dakika süre uygulaması diğer süre uygulamalarıyla karşılaştırıldığında oldukça uzun bir süredir ve endüstriyel uygulamalarda hızlılık ve pratiklik faktörlerine ters düşmektedir. Bu sebepten daha kısa süreli uygulamalarda elde edilen kabul edilebilir sonuçlar 30 dakika uygulamasına göre daha çok tercih edilebilir denilebilir.

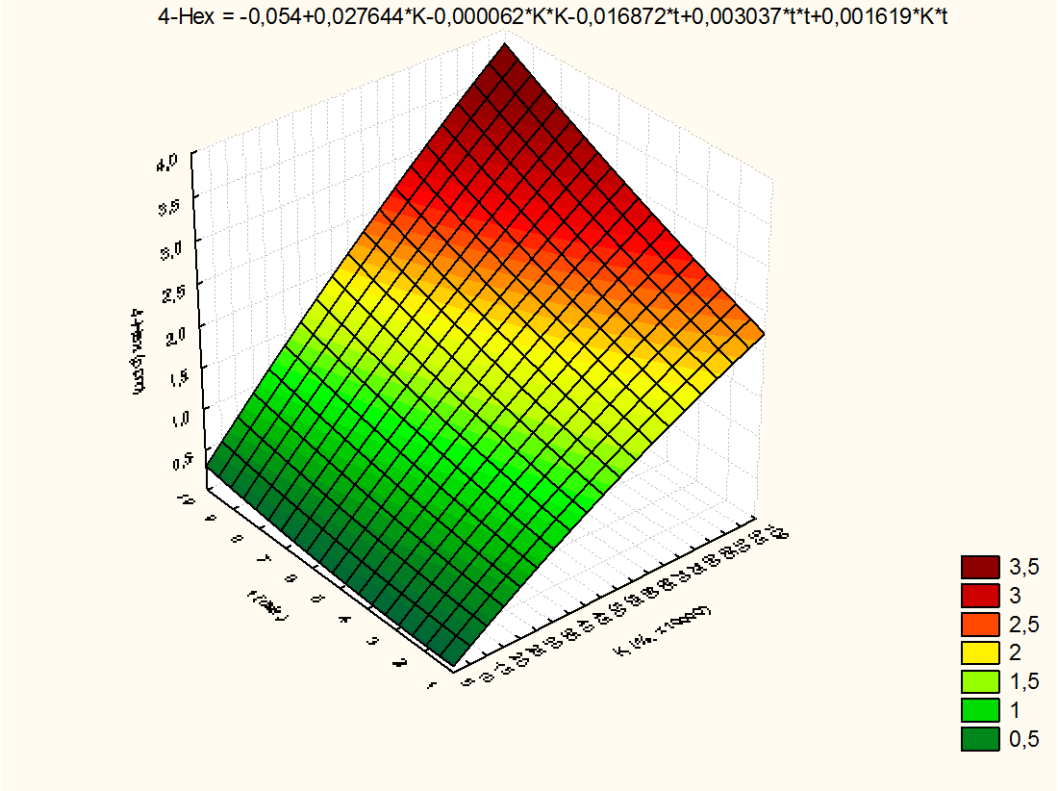


Şekil 4.9. %0.0005 (5ppm), 0.001 (10ppm), 0.005 (50ppm) ve 0.01 (100ppm) konsantrasyonlarının 30 dakika süre uygulamasından sonra çiğ, kızartma ve haşlama proseslerin sonuçlarının Box&Whisker grafiklerine göre güven aralıkları

4.3. MODELLEME ÇALIŞMASI ve TEPKİ YÜZEY GRAFİĞİ OLUŞTURULMASI

4.3.1. Deney Deseni Oluşturulması

Modelleme çalışmasında kullanılmak üzere deney deseni oluşturulmuştur. Deney deseni oluşturmada 3 x 3 deney deseni modeli kullanılmıştır. Bu desenin oluşturulması için 3 farklı süre ve 3 farklı konsantrasyon değişkeni alınmıştır. Çiğ-yıkanmamış örnekleri ana referans gurup olarak düşünerek, modellemede kullanılan tüm değerler bu gruba aittir. Toplam 4 farklı süre ve 4 farklı konsantrasyondan 3 x 3 deney deseni için 1 grup değer çıkarılarak en uygun olan değerler seçilmiştir (0.001 konsantrasyon grubu ve 30 dakikalık grup ticari değerlendirmede tercih edilme olasılığının düşüklüğünden dolayı hesaba alınmamıştır). Şekil 4.10.'da verilen K kısaltması konsantrasyonu, t ise süreyi ifade eder.



Şekil 4.10. 4-Hexylresorcinol değerinin K ve t'ye bağlı değişimini gösteren üç boyutlu tepki-yüzey grafiği (çiğ-yıkanmamış örnekler için).

Modelleme çalışması Statistica programında Response Surface Regression metoduna göre yapılmıştır. Şekil 4.10.' daki Üç Boyutlu Tepki-Yüzey Grafiği aynı programda

oluşturulmuş olup, grafikte görüldüğü gibi yasal sınır olan 2 mg/kg değeri yeşil-sarı bölgeleri kapsamaktadır. Kırmızı bölgelerde 4-Hexylresorcinol değeri yasal limitin üzerine çıkmaktadır. Regresyon analizi tablosunda da görüldüğü gibi, K ve K*t etkileşimi, 4-Hexyresorcinol kalıntı sonuçları üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip parametrelerdir. Modele esas olan değişken aralıklarında, diğer model parametreleri ile kıyaslandığında, sürenin (t) lineer ve kuadratik etkileri 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyi üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir. Düşük konsantrasyon değerlerinde, uygulama süresindeki artış 4-Hexylresorcinol kalıntı düzeyinde önemli bir artışa neden olmamıştır. Ancak, yüksek konsantrasyon değerlerinde süreye bağlı 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarında belirgin bir artış bulunmuştur. Benzer şekilde, uygulama süresi arttıkça, 4-Hexylresorcinol kalıntı değerinde konsantrasyona bağlı olarak meydana gelen değişim de ivmelenerek artmıştır.

Statistica programı vasıtasıyla elde edilen Üç Boyutlu Tepki-Yüzey Grafiği hesaplamaları sonucu Şekil 4.10' da da verilen aşağıdaki formül ile yeniden uygulama ve deney yapmaya gerek kalmadan endüstriyel uygulama düzeyleri ve oluşan kalıntı miktarı hesaplanabilecektir.

$$\boldsymbol{4-Hexylresorcinol} = -0{,}054 + 0{,}027644 \times K - 0{,}000062 \times K \times K - 0{,}016872 \times t + 0{,}003037 \times t \times t + 0{,}001619 \times K \times t$$

Oluşturulan modelin validasyonu amacıyla çiğ-yıkanmamış örnek sonuçları formül yardımıyla da hesaplanarak kontrol edilmiş ve Tablo 4.6.' da verilmiştir.

Tablo 4.6. Deneysel çalışma sonucunda bulunan değerler ile modelden elde edilen formüle göre hesaplanan değerlerin karşılaştırılması (Çiğ-Yıkanmamış örneklerde)

	4-Hexyresorcinol Ölçülen	**4-Hexyresorcinol Hesaplanan**	**4-Hexyresorcinol Fark**
1	0.070000	0.076846	-0.006846
2	0.080000	0.076846	0.003154
3	0.160000	0.114629	0.045371
4	0.150000	0.114629	0.035371
5	0.260000	0.298525	-0.038525
6	0.260000	0.298525	-0.038525
7	1.310000	1.241137	0.068863
8	1.000000	1.241137	-0.241137
9	1.700000	1.570344	0.129656
10	1.610000	1.570344	0.039656
11	2.030000	2.118519	-0.088519
12	2.210000	2.118519	0.091481
13	2.310000	2.242017	0.067983
14	2.350000	2.242017	0.107983
15	2.690000	2.895027	-0.205027
16	2.850000	2.895027	-0.045027
17	3.920000	3.847956	0.072044
18	3.850000	3.847956	0.002044

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan beslenmesinde su ürünlerinin yeri ve önemi büyüktür. Ekonomik değeri yüksek olan su ürünleri arasında kabul edilen karidesler, düşük yağ, yüksek protein ve zengin mineral içeriğine sahiptirler.

Karides avcılığı dünyada geniş bir alanda yapılmakta olup su ürünleri sektöründe ciddi bir ticari hacme sahiptir. Ayrıca dünyada avcılığı yanında yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Karidesin kolay bozulabilmesi, avlandıktan hemen sonra melanosis bakımından kalite kayıplarına uğraması karides satışı yapan tüm işletmeleri ve kişileri kararmanın inhibasyonu bakımından koruyucu madde kullanımına yönlendirmiştir.

Karideslerin kalite kayıplarının önlenmesi için belli başlı birkaç kimyasal kullanılmakta olup bunların istenmeyen yani olumsuz etkilerinden tüketicileri korumak amacıyla kullanımlarına sınırlandırmalar getirilmiştir. Melanosis karideslerde görülen en önemli kalite kaybıdır. Bu kalite kaybının oluşmaması için yakın zaman kadar ve halen Sodyum metabisülfit kullanımı ile kararmanın önüne geçilmektedir. Kullanılan bu maddenin olumsuz etkileri sağlık birimlerince de onaylanmış ve yerine Avrupa Birliği tarafından güvenilir nitelikleri yönünden 4-Hexylresorcinol maddesi kullanımı gündeme alınmıştır. Bu kimyasalın kullanımı ile ilgili 1998 yılında Avrupa Parlamentosu ve Konseyi'nin 98/72/EC numaralı direktifinde sınırlamalar getirilmiş ve ülkemizde de Türk Gıda Kodeksi'nin 2008-22 nolu "Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği" ile 2008 yılında Resmi Gazete'de 22.05.2008 tarihinde 26883 numara ile yayınlanmasıyla yasal sınırlamalar uygulamaya konmuştur.

Bu tebliğ'de 4-Hexylresorcinol kimyasalı E586 kodu ile belirtilmiş olup "taze, dondurulmuş ve derin dondurulmuş kabuklu su ürünlerinde kullanılabilir en yüksek değer 2 mg/kg (kabuklu su ürünü etinde)" ifadesiyle gerekli sınırlama yapılmıştır.

Karideslerde melanosisi önlemek amacıyla kullanılan 4-Hexylresorcinol maddesi gelişi güzel kullanılamaz. Kullanımı sonrası karides etine geçen kısmının miktar tespit analizleri yapılarak uygunluğu test edilmeli ve dolayısıyla bilinçli kullanımı sağlanmalıdır.

5.1. ANALİZ SONUÇLARI

5.1.1. Yıkanmış – Yıkanmamış Örnekler Arasındaki Fark

Tüm konsantrasyon uygulamalarının sonuçları incelendiğinde tüm sonuçlarda yıkama işlemi sonrası analiz edilen karides etlerindeki kalıntı miktarları yıkanmamış örneklerdeki sonuçlardan daha düşük olarak tespit edilmiştir. Tüm örnekler yıkama işlemi uygulandıktan sonra kalıntı miktarlarında yıkama yapılmadan analiz edilen örneklerin sonuçlarına değişen oranlarda azalma tespit edilmiştir. Bu tespit sonucu karides etlerindeki kalıntıyı az miktarda da olsa azaltmak amacıyla yıkama işleminin yararı olduğunu söyleyebiliriz. Fakat tüm konsantrasyonlardaki sonuçlar istatiksel olarak analiz edildiğinde yıkanmış ve yıkanmamış örnekler arasında genel olarak $p<0.05$ aralığında önemli fark bulunmamıştır (Tablo 5.1.).

Mendes ve ark. (2006)' nın yaptığı çalışma sonucunda su ile yıkama işleminin 4-Hexylresorcinol' ün miktarında düşüş yaptığını açıklamıştır. Fakat bazı partilerde ise 5 litre su ile yıkandığı halde kalıntı miktarında önemli düşüş gözlenmemiştir.

5.1.2. Çiğ, Kızartma ve Haşlama Proseslerinin Sonuçları Arasındaki Fark

İstatistikî değerlendirmeler sonucunda çiğ analiz edilen numuneler ile haşlama ve kızartma uygulanan numunelerin sonuçları karşılaştırıldığı zaman kalıntı değerleri arasında azalma veya artışlar görülmektedir. Fakat sonuçlar ayrı ayrı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde genel olarak $p<0.05$ önem düzeyine göre fark bulunmamaktadır. Buna göre karidesler satın alındıktan sonra tüketilmek amacıyla haşlama veya kızartma uygulanarak pişirilmesi etlerindeki kalıntı miktarlarında büyük oranlarda düşüşe sebep olmaz (Tablo 5.1.). Bu sonuca istinaden kalıntı miktarının pişirme prosesleri sonrası istenilen düzeylerde düşürülemeyeceğinden kullanılacak 4-Hexylresorcinol' ün dikkatli ve kontrollü kullanılması yerinde olacaktır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar dahilinde yapılan istatistiksel analizler neticesinde 3 boyutlu tepki-yüzey grafiği oluşturulmuş ve bu grafik yardımıyla bir formül çıkarılmıştır (Şekil 4.10). Bu formül yardımıyla karides etlerindeki kalıntı miktarını ve uygulamak istediğimiz konsatrasyonu girdiğimizde bize uygulama süresini, kalıntı miktarı ve uygulama süresini girdiğimizde uygulanması gereken konsantrasyonu, uygulama süresini ve konsantrasyonu girdiğimizde ise olası kalıntı miktarını bulmuş

oluruz. Bu formül bu maddenin sanayide ve tekne uygulamalarında bilinçli ve doğru kullanımını sağlayacaktır.

5.1.3. Sürenin Etkisi

İstatistiksel hesaplamalar sonucunda düşük konsantrasyon uygulamalarında 4 farklı süre uygulaması arasında farklılık yok veya az görülürken uygulama konsantrasyonlarının yoğunluğu arttıkça farklılıklar önemli ve daha belirgin görülmektedir. Yapılan istatiksel çalışmalar sonucunda sürenin tek başına önemli bir etkisinin bulunmadığı, süre-konsantrasyon ilişkisinin birlikte analiz edildiğinde önemli etkisi bulunduğu saptanmıştır. Sürenin artışında karideslerde tespit edilen kalıntı miktarında da artış gözlenmiştir (Tablo 5.1.).

Benzer bir çalışmada Mendes ve ark. (2006) daldırma zamanına bağlı olarak değerlendirmede uygulama süresinin artışıyla kalıntı miktarında lineer artış olduğunu bildirmektedir. Diğer bir çalışmada ise Iyengar ve ark. (1991) solüsyon konsantrasyonunun artırılmasının zaman kalıntı sonuçlarında lineer bir artış yaptığını gözlemlemişlerdir.

Tablo 5.1. Yapılan çalışma sonuçlarının yasal sınıra göre değerlendirilmesi

	mg/kg (ppm)	%0.0005 (5 ppm)	%0.001 (10 ppm)	%0.005 (50 ppm)	%0.01 (100 ppm)	%0.05 (500 ppm)
ÇİĞ	1dk yıkanmış	0,05 ±0,00	0,18 ±0,05	0,84 ±0.09	1,64 ±0.25	12,48 ±0.42
	1dk yıkanmamış	0,08 ±0,01	0,22 ±0,02	1,15 ±0.22	2,33 ±0.03	15,90 ±0.89
	5dk yıkanmış	0,12 ±0,02	0,25 ±0.01	1,34 ±0.12	2,64 ±0.07	19,01 ±0.96
	5dk yıkanmamış	0,15 ±0,01	0,29 ±0.02	1,66 ±0.06	2,77 ±0.12	20,86 ±0.19
	10dk yıkanmış	0,20 ±0,02	0,36 ±0.03	1,76 ±0.12	3,08 ±0.35	22,38 ±0.37
	10dk yıkanmamış	0,26 ±0,00	0,45 ±0.03	2,12 ±0.13	3,89 ±0.05	24,51 ±0.14
	30dk yıkanmış	0,28 ±0,01	0,60 ±0.05	2,69 ±0.20	4,22 ±0.14	27,10 ±1.79
	30dk yıkanmamış	0,32 ±0,03	0,75 ±0.10	2,93 ±0.04	4,87 ±0.11	35,02 ±4.21
KIZARTMA	1dk yıkanmış	0,06 ±0.01	0,11 ±0.02	0,67 ±0.10	1,43 ±0.25	9,78 ±1.02
	1dk yıkanmamış	0,09 ±0.01	0,19 ±0.01	0,95 ±0.08	1,97 ±0.03	11,46 ±0.48
	5dk yıkanmış	0,12 ±0.01	0,20 ±0.01	1,24 ±0.03	2,24 ±0.17	15,10 ±0.53
	5dk yıkanmamış	0,13 ±0.01	0,24 ±0.02	1,46 ±0.06	2,76 ±0.29	17,14 ±0.71
	10dk yıkanmış	0,19 ±0.01	0,31 ±0.00	1,69 ±0.12	3,30 ±0.25	20,93 ±2.35
	10dk yıkanmamış	0,23 ±0.01	0,42 ±0.01	1,96 ±0.07	3,68 ±0.08	25,46 ±0.30
	30dk yıkanmış	0,25 ±0.01	0,49 ±0.01	2,43 ±0.10	4,78 ±0.66	27,63 ±1.11
	30dk yıkanmamış	0,32 ±0.01	0,55 ±0.06	3,37 ±0.08	7,01 ±0.41	29,35 ±0.43
HAŞLAMA	1dk yıkanmış	0,06 ±0.01	0,12 ±0.00	0,71 ±0.03	1,85 ±0.03	9,69 ±0.16
	1dk yıkanmamış	0,07 ±0.00	0,15 ±0.01	1,01 ±0.03	2,06 ±0.07	13,81 ±0.29
	5dk yıkanmış	0,09 ±0.01	0,20 ±0.00	1,49 ±0.05	2,05 ±0.07	16,13 ±0.32
	5dk yıkanmamış	0,12 ±0.01	0,25 ±0.03	1,81 ±0.06	2,77 ±0.08	19,34 ±0.03
	10dk yıkanmış	0,15 ±0.01	0,28 ±0.00	1,73 ±0.06	3,05 ±0.08	23,08 ±0.38
	10dk yıkanmamış	0,19 ±0.01	0,32 ±0.01	2,27 ±0.11	3,82 ±0.26	25,34 ±0.49
	30dk yıkanmış	0,24 ±0.01	0,48 ±0.00	2,85 ±0.00	5,03 ±0.34	30,03 ±1.71
	30dk yıkanmamış	0,32 ±0.01	0,59 ±0.02	3,97 ±0.15	6,57 ±0.21	34,26 ±1.27

Sarı bölgeler 2 mg/kg' lık yasal sınırın üzerinde tespit edilmiş sonuçlardır.

5.1.4. Konsantrasyonun İstatiksel Analizi

Yapılan çalışmada kalıntı sonuçlarında konsantrasyonun etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde önemli farklılık bulunmuştur. Düşük konsantrasyonlarda farklılık az görülürken konsantrasyon miktarı arttıkça süreye de bağlı olarak belirgin farklılıklar görülmektedir. Yapılan hesaplamalar sonucunda konsantrasyon değişiminin sonucunda $p<0.05$ önem seviyesine göre önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

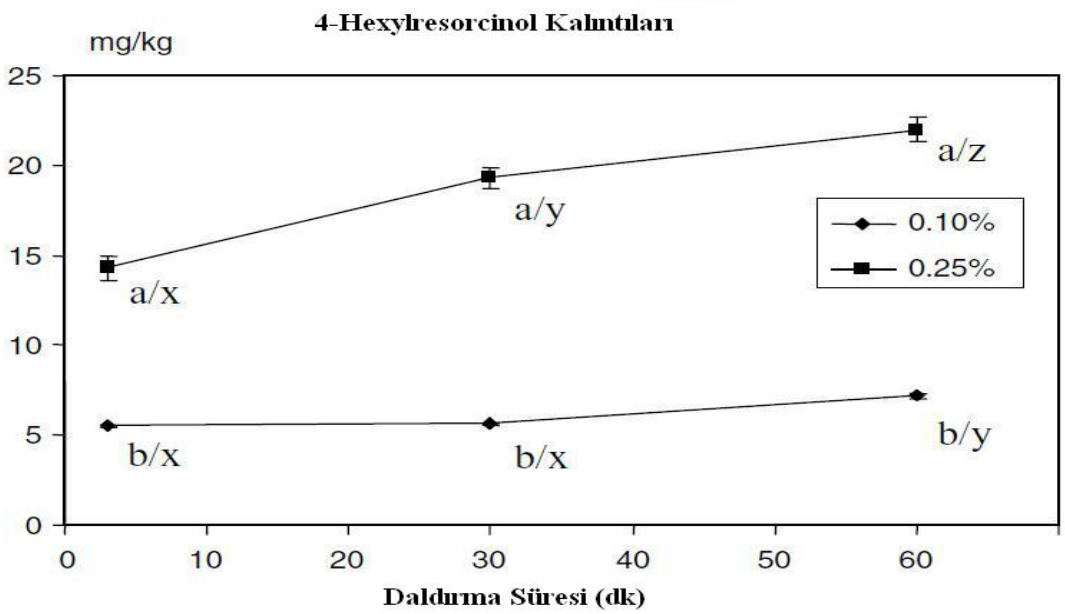
%0.05 konsantrasyonu

Yapılan çalışmaların tüm sonuçları değerlendirildiği zaman en yüksek konsantrasyon olan % 0.05 yani 500 ppm'lik solüsyonla muamele edilen karideslerin etlerindeki kalıntı miktarlarının hepsi Avrupa Parlamentosu ve Konseyi'nin 98/72/EC kodlu direktifinde ve Türk Gıda Kodeksi 2008-22 nolu tebliğinde yer alan kabul edilebilir maksimum 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarı olan 2 mg/kg'ın çok üzerindedir.

Bu konsantrasyonun uygulamasında en düşük değer 1dakika süre ile 4-Hexylresorcinol solüsyonuyla muamele edilen karideslerin yıkanma ve haşlama işleminden sonra analiz edilen etlerinde bulunmuştur. Bu değer 9.69 mg/kg' dır ve limit değerin yaklaşık 5 kat üzerindedir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5). Çiğ ve kızartılmış karideslerde bulunan kalıntı değerleri de bu sonuca yakın durumdadır. Solüsyona daldırma süresi arttıkça tespit edilen kalıntı miktarı da artış göstermiştir. Karidesler satışa sunulduğu zaman yasal çerçevelerde ve kabul edilebilir kalıntı limitlerinde olması gerekir ki ticari olarak herhangi bir engelle karşılaşılmasın ve yasalar çerçevesinde pazara sunulabilsin. Bu nedenlerden dolayı melanosisi önlemek amacıyla karidesleri bu konsantrasyonda 4-Hexyresorcinol içeren solüsyonla muamele etmenin doğru bir uygulama olmayacağı bu çalışmada bulunmuştur.

Benzer çalışmada Mendes ve ark (2006)'nın Karides etindeki 4-Hexylresorcinol kalıntı miktarındaki değişim uygulama solüsyonunun konsantrasyonuna ve daldırma zamanına bağlı olarak değendirmişlerdir. Bu çalışmadaki 4-Hexylresorcinol minimum tespit sınırı 0.2 mg/kg dır. Zamana bağlı olarak daldırma çözeltisinin konsantrasyon miktarına bakıldığı zaman %0.1 lik 4-Hexylresorcinol solüsyonu ile muamele edildiği zaman kalıntı değeri 5.5 ile 7.2 mg/kg arasında tespit edilmiştir. 4-Hexylresorcinol solüsyon

konsantrasyonu %0.025 çıkarıldığında ise örneklerde yüksek seviyede kalıntı (14.3-22.0 mg/kg) tespit edilmiştir (Şekil 5.1.).



Şekil 5.1. Mendes ve ark. (2006) tarafından %0.10 ve %0.25 lik 4-Hexylresorsinol ile muamele yapılan çalışmanın pembe karides etlerindeki kalıntı sonuçları

Mendes ve ark.(2006)'larının çalışma ile ilgili grafiğinde (Şekil 5.1) a ve b harfleri, farklı daldırma solüsyonlarında tespit edilen değişimlerin önemini ($p<0.05$) temsil ederken, x ve y ise farklı uygulama zamanlarındaki değişimlerin önemini ($p<0.05$) göstermektedir.

%0.01 konsantrasyonu

Karides örneklerine uygulanan %0.01' lik 4-Hexylresorcinol uygulamasının sonuçlarına bakıldığı zaman 1 dakika uygulamasında yıkanmamış örneklerde kızartma işlemi yapılmış olan karides etinde 1.971 mg/kg kalıntı tespit edilmiş, 1 dakika süre uygulamasının yıkanmış olan örneklerinde ise çiğ karideste 1.635 mg/kg, kızartılmış örneklerde 1.431 mg/kg, Haşlanmışlarda ise 1.846 mg/kg kalıntı tespit edilmiş diğer tüm sonuçlar sınır değerin üzerinde kalmıştır. Uygulama süresi attıkça kalıntı seviyesi de artmaktadır. Bu sonuçlar dahilinde %0.01 konsantrasyon uygulamasının 1 dakika ve üstü uygulama sürelerinde karides etlerinde yüksek kalıntıya sebep olacağından dolayı bu konsantrasyon ticari uygulamalarda tercih edilmez (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4).

%0.005 Konsantrasyonu

Çiğ olarak analiz edilen karides etlerindeki sonuçlar ile kızartma ve haşlama uygulaması yapılan karides etlerindeki kalıntı düzeyleri genel olarak azalış gösterse de bazı sürelerde kalıntı miktarında artışa rastlanmıştır. Bu azalış ve artışların istatistiksel olarak $p<0.05$ aralığında önemli olmadığı bulunmuştur. Çiğ karides örneklerinin %0.005 konsantrasyonunda 1 dakika bekletilmesi sonucunda yapılan analizlerde kalıntı 1.154 mg/kg düzeyinde iken, uygulama süresi 5 dakika olduğunda bu değer 1.655 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Kızartılmış karides etlerinde 1 dakika uygulaması sonucu 0.950 mg/kg olarak bulunan değer 5 dakika uygulamasında 1.463 mg/kg olarak tespit edilirken haşlanmış karideslerde kalıntı sonuçları 1 dakika uygulamasında da 1.009 mg/kg, 5 dakika uygulamasında ise 1.810 mg/kg olarak bulunmuştur (Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.).

1 ve 5 dakika süre uygulamasının tüm sonuçları limit değer olan 2 mg/kg' ın altındadır. Ayrıca yıkama işlemi sonrasında tüm kalıntı değerlerinde düşüşler tespit edilmiştir.

Bu konsantrasyonda 10 dakika uygulamasına bakıldığında ise çiğ karideste 2.121 mg/kg, kızartılmış karideste 1.962 mg/kg, Haşlanmış karideste ise 2.266 mg/kg olarak bulunmuş, yıkama işlemi sonrası bu değerler sırasıyla 1.760, 1.695, 1.725 mg/kg' a gerilemiştir. 10 dakika uygulamasının tüm değerleri kullanılabilir sınır değer olan 2 mg/kg civarında ve çok yakın olduğundan dolayı bu konsantrasyonda bu süre uyglumasının riskli olacağı söylenebilir. Limit değerin altında kalan sonuçlar da standart sapma ilave edildiğinde limit civarında ve limite çok yakın olur ki bu da istenen bir sonuç olmaz (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3).

Bu konsantrasyonda 30 dakika uygulamasının kalıntı sonuçları incelendiğinde de tüm sonuçlar 2 mg/kg yasal sınırını geçmektedir. Yıkama işlemi uygulandığında dahi kalıntı değerleri yine de sınır değerin üstünde kalmaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak %0.005 konsantrasyonunda 30 dakika uygulaması kabul edilebilir kalıntı sonuçları vermediğinden uygulamada kullanılması doğru olmaz denilebilir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3).

Iyengar ve ark. (1991)' nın çalışmasında 1 dakika %0.005 4-Hexylresorcinol solüsyonuna daldırılan örneklerin kalıntı miktarı 0.6 mg/kg olarak tespit edilmiş ve 15

dakika aynı konsantrasyondaki solüsyonla muamele edildiğinde ise kalıntı miktarının 1.0 mg/kg olduğu görülmüştür ve buna bağlı olarak kalıntı miktarındaki artışın zaman artışıyla da paralel olduğu bildirilmiştir.

%0.001 Konsantrasyonu

%0.001' lik konsantrasyon uygulamasında tüm değerler sınır değer olan 2 mg/kg' ın altında hatta 1 mg/kg değerinden daha düşük olarak tespit edilmiştir.

Bu konsantrasyonda tespit edilen en yüksek kalıntı değeri 30 dakika süre uygulaması yapılan karideslerdir. Bu uygulamada çiğ karides etlerinde 0.751 mg/kg, kızartılmış karideslerde 0.546 mg/kg, haşlanmış karideslerde ise 0.589 mg/kg sonuçları tespit edilmiştir. 10 dakika süre uygulamasında bu değerler sırasıyla 0.452, 0.416, 0.318 mg/kg olarak düşüş göstermişlerdir. 5 dakika süre uygulamasında da sonuçlar daha da düşük bulunmuştur. 1 dakika süre uygulamasında ise değerler 0.225, 0.188, 0.153 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Yıkama işlemi sonrasında tüm değerlerde az miktarda düşüş görülürken bu farkın istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 5.1.).

%0.0005 Konsantrasyonu

%0.0005 konsantrasyonu uygulaması sonucunda karides etlerinde tespit edilen tüm kalıntı sonuçları incelendiğinde sınır değerin çok altında tespit edilmiştir. Tespit edilen en yüksek kalıntı sonucu kızartılmış örneklerde 0.316 mg/kg iken en düşük değer çiğ karideslerde 0.05 mg/kg olarak görülmüştür. En yüksek sonuç bile sınır değerin yaklaşık 6 kat altındadır (Tablo 5.1.).

5.1.5. Konsantrasyonun Uygulanan Sürelere Göre Analizi

Bir dakika süre uygulaması

Bir dakika süre uygulamasında çiğ, haşlama ve kızartma örneklerinin tümünde konsantrasyona bağlı olarak doğru orantılı artış bulunmaktadır. Çiğ analiz edilen karideslerde 1 dakika süre uygulamasında en düşük konsantrasyonda bulunan kalıntı değeri 0.05 mg/kg iken, en yüksek konsantrasyon değeri 2.33 mg/kg' dır. Haşlama uygulaması sonuçlarına bakıldığında da uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak kalıntı

sonuçlarında da artış bulunmaktadır. Haşlamada en düşük değer 0.06 mg/kg iken en yüksek değer 2.06 mg/kg'dır. Kızartmada ise bu değerler 0.06 mg/kg, en yüksek değer 1.97 mg/kg'dır (Tablo 5.2.).

Tablo 5.2. Yapılan çalışmada 1 dakika süre ile farklı 4-Hexylresorcinol konsantrasyonlarındaki uygulamaların sonuçları

1 Dakika Sonuçları (mg/kg)	%0.0005	+/-	%0.001	+/-	%0.005	+/-	%0.01	+/-
ÇİĞ Yıkanmış	**0.05**	0.00	**0.18**	0.05	**0.84**	0.09	**1.64**	0.25
ÇİĞ Yıkanmamış	**0.08**	0.01	**0.22**	0.02	**1.15**	0.22	**2.33**	0.03
KIZARTMA Yıkanmış	**0.06**	0.01	**0.11**	0.02	**0.67**	0.10	**1.43**	0.25
KIZARTMA Yıkanmamış	**0.09**	0.01	**0.19**	0.01	**0.95**	0.08	**1.97**	0.03
HAŞLAMA Yıkanmış	**0.06**	0.01	**0.12**	0.00	**0.71**	0.03	**1.85**	0.03
HAŞLAMA Yıkanmamış	**0.07**	0.00	**0.15**	0.01	**1.01**	0.03	**2.06**	0,07

1 dakika süre uygulamasının çiğ, haşlama ve kızartma sonuçlarının hepsinde %0.0005 ve %0.001 konsantrasyonların sonuçları limit değer olan 2 mg/kg' ın 9 ile 40 kat arasında altında kalmaktadır. En etkili uygulamanın limit değerin altında kalan fakat limite yakın olan sonuçlar veren konsantrasyonlar olduğu düşünülürse, bu süre-konsantrasyon uygulaması ticari olarak tercih edilmeyebilir. %0.01 konsantrasyon uygulamasının sonuçlarını incelediğimizde ise yasal limitin altında veya üstünde fakat sınır değere çok yakın çıkmıştır. Bu sebepten dolayı bu konsantrasyon kullanımı yasal açıdan sıkıntılar oluşturacaktır. %0.005 konsantrasyonun sonuçları incelendiğinde bulunan kalıntı miktarının en düşük 0.67 mg/kg, en yüksek ise 1.15 mg/kg olduğu görülmektedir. Bu konsantrasyon uygulaması sonucu alınan kalıntı değerleri limit değerin altında fakat limit değere yakındır. İstenilen uygulamanın, sonucu limitin altında kalan yüksek konsantrasyon olması istenildiği varsayılırsa %0.005 kosantrasyonu doğru bir seçim olabilir (Tablo 5.2.).

Karideslere teknede veya karada 4-Hexylresorcinol' ün 1 dakika süre uygulaması çok dikkatli yapılması gerekmektedir. Süre çok kısa olduğundan işlemin çok hızlı yapılması gerekmektedir. Sürenin dışına çıkıldığında sonuçlar limitin dışına çıkabilir. Bu sebepten bu süre uygulaması kolay olan bir uygulama olmayabilir.

5 dakika süre uygulaması

Dört farklı konsantrasyonun 5 dakika uygulaması sonuçları değerlendirildiğinde de konsantrasyon miktarı arttıkça kalıntı sonuçlarının da arttığı görülmektedir. Çiğ analiz edilen karideslerde en düşük konsantrasyonda tespit edilen kalıntı değeri 0.12 mg/kg iken, en yüksek kalıntı değeri 2.77 mg/kg' dır. Haşlamada en düşük değer 0.09 mg/kg' ken en yüksek değer 2.77 mg/kg'dır. Kızartmada en düşük değer 0.12 mg/kg, en yüksek değer 2.76 mg/kg'dır (Tablo 5.3.). %0.0005 ve %0.001 konsantrasyonların sonuçları yasal sınırın yaklaşık 9 ile 22 kat altındadır ve bu sebepten dolayı ticari uygulamalara uygun olmayabilir.

Tablo 5.3. Yapılan çalışmada 5 dakika süre ile farklı 4-Hexylresorcinol konsantrasyonlarındaki uygulamaların sonuçları

5 Dakika Sonuçları (mg/kg)	%0.0005	+/-	%0.001	+/-	%0.005	+/-	%0.01	+/-
ÇİĞ Yıkanmış	**0.12**	0.02	**0.25**	0.01	**1.34**	0.12	**2.64**	0.07
ÇİĞ Yıkanmamış	**0.15**	0.01	**0.29**	0.02	**1.66**	0.06	**2.77**	0.12
KIZARTMA Yıkanmış	**0.12**	0.01	**0.20**	0.01	**1.24**	0.03	**2.24**	0.17
KIZARTMA Yıkanmamış	**0.13**	0.01	**0.24**	0.02	**1.46**	0.06	**2.76**	0.29
HAŞLAMA Yıkanmış	**0.09**	0.01	**0.20**	0.00	**1.49**	0.05	**2.05**	0.07
HAŞLAMA Yıkanmamış	**0.12**	0.01	**0.25**	0.03	**1.81**	0.06	**2.77**	0,08

%0.01 konsantrasyon sonuçları değerlendirildiğinde ise çiğ, kızartma ve haşlama sonuçlarının hepsi 2 mg/kg yasal limitinin üzerinde çıkmıştır. Bu sebepten bu konsantrasyon 5 dakika uygulamasında tercih edilmez.

% 0.005' in kalıntı sonuçları incelendiğinde ise sonuçlar çiğde 1.34 mg/kg ve 1.64 mg/kg, haşlamada 1.49 mg/kg ve 1.81 mg/kg, kızartmada 1.24 mg/kg ve 1.46 mg/kg' dır. Bu konsantrasyonun sonuçları değerlendirildiğinde yasal limitin altında ve kabul edilebilir durumdadır (Tablo 5.3).

Çalışmada 5 dakika süre uygulamasının %0.005 konsantrasyonunun sonuçları en kabul edilebilir sonuçlar olarak gözükmektedir.

10 dakika süre uygulaması

10 dakika süre uygulaması da 1 ve 5 dakika uygulamaları gibi konsantrasyon miktarı arttıkça kalıntı miktarı da artmaktadır. %0.0005 ve %0.001 konsantrasyonların sonuçlarına bakıldığında tüm sonuçlar limit değerin yaklaşık 5 ile 10 kat altındadır. %0.01 konsantrasyonunda ise tüm değerler limit değerin üzerinde çıkmıştır. %0.005 konsantrasyonuna bakıldığında ise kalıntı miktarları limit değerin altında veya üstünde fakat değere çok yakın çıkmıştır. Bundan dolayı 10 dakika uygulamasında çalışılan dört konsantrasyonda da ticari uygulanabilirlik anlamında uygun değildir (Tablo 5.4.).

Tablo 5.4. Yapılan çalışmada 10 dakika süre ile farklı 4-Hexylresorcinol konsantrasyonlarındaki uygulamaların sonuçları

10 Dakika Sonuçları (mg/kg)	%0.0005	+/-	%0.001	+/-	%0.005	+/-	%0.01	+/-
ÇİĞ Yıkanmış	**0.20**	0.02	**0.36**	0.03	**1.76**	0.12	**3.08**	0.35
ÇİĞ Yıkanmamış	**0.26**	0.00	**0.45**	0.03	**2.12**	0.13	**3.89**	0.05
KIZARTMA Yıkanmış	**0.19**	0.01	**0.31**	0.00	**1.69**	0.12	**3.30**	0.25
KIZARTMA Yıkanmamış	**0.23**	0.01	**0.42**	0.01	**1.96**	0.07	**3.68**	0.08
HAŞLAMA Yıkanmış	**0.15**	0.01	**0.28**	0.00	**1.73**	0.06	**3.05**	0.08
HAŞLAMA Yıkanmamış	**0.19**	0.01	**0.32**	0.01	**2.27**	0.11	**3.82**	0,26

30 dakika süre uygulaması

30 dakika uygulamasında da %0.005 ve %0.01 konsantrasyonlarının sonuçları incelendiğinde tüm sonuçlar yasal limitin üzerinde çıkmıştır. %0.0005 ve %0.001 konsantrasyonları ise limit değerin yaklaşık 3 ile 8 kat altındadır. Bu bağlamda sonuçlar incelendiğinde 30 dakika uygulamasının iki farklı konsantrasyonu ticari uygulanabilirliği bulunmamaktadır (Tablo 5.5.).

Tablo 5.5. Yapılan çalışmada 5 dakika süre ile farklı 4-Hexylresorcinol konsantrasyonlarındaki uygulamaların sonuçları

30 Dakika Sonuçları (mg/kg)	%0.0005	+/-	%0.001	+/-	%0.005	+/-	%0.01	+/-
ÇİĞ Yıkanmış	**0.28**	0.01	**0.60**	0.05	**2.69**	0.20	**4.22**	0.14
ÇİĞ Yıkanmamış	**0.32**	0.03	**0.75**	0.10	**2.93**	0.04	**4.87**	0.11
KIZARTMA Yıkanmış	**0.25**	0.01	**0.49**	0.01	**2.43**	0.10	**4.78**	0.66
KIZARTMA Yıkanmamış	**0.32**	0.01	**0.55**	0.06	**3.37**	0.08	**7.01**	0.41
HAŞLAMA Yıkanmış	**0.24**	0.01	**0.48**	0.00	**2.85**	0.00	**5.03**	0.34
HAŞLAMA Yıkanmamış	**0.32**	0.01	**0.59**	0.02	**3.97**	0.15	**6.57**	0.21

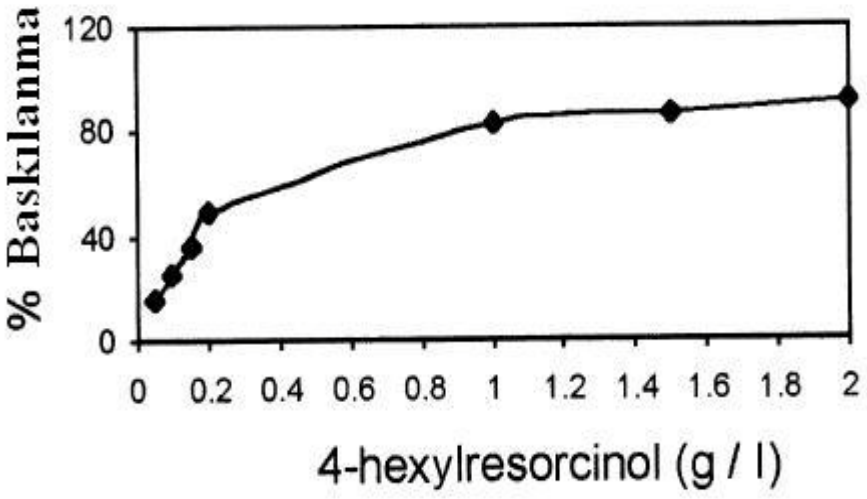
4-Hexylresorcinol ile yapılmış çalışmalar incelendiğinde yaptığımız çalışmaya yakın ve anlamlı sonuçlarla karşılaşılmıştır.

Guandalini ve ark., (1998)' nca yapılan bir çalışmada 25, 50 ve 100 ppm (mg/kg)' lik solüsyonlarla 4-Hexylresorcinol ile muamele edilmiş pembe karidesler için Tablo 5.6.' daki kalıntı sonuçları bildirilmiştir.

Tablo 5.6. Pembe karideslere uygulanan konsantrasyon ve depolamaya bağlı olarak kalıntı düzeylerindeki değişimler

	4-Hexylresorcinol (ortalama +/- standart sapma)		
Günler	25 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg
0 (3saat)	20 ± 0·9	42 ± 1·2	85 ± 2·2
1	10 ± 1·6	23 ± 0·8	39 ± 1·9
2	8·0 ± 0·8	12 ± 1·6	18 ± 1·4
3	2·0 ± 2·8	5·0 ± 2·7	6·0 ± 3·3
4	1·0 ± 0·6	3·0 ± 1·1	3·0 ± 1·2
5	0·9 ± 1·2	1·8 ± 0·9	1·9 ± 1·8
6	0·9 ± 2·0	1·2 ± 2·8	1·9 ± 0·9
7	0·8 ± 1·4	1·0 ± 1·7	1·8 ± 2·2
8	0·8 ± 2·2	1·0 ± 0·8	1·1 ± 1·6
9	0·7 ± 0·7	0·9 ± 2·6	1·0 ± 1·8
10	0·8 ± 1·8	0·9 ± 2·0	1·0 ± 2·6
11	0·8 ± 2·3	0·8 ± 3·3	1·1 ± 2·0

Montero ve ark., (2001)' 4-Hexylresorcinol kullanımının baskılanmaya (inhibasyon) etkisini Şekil 5.2. deki gibi vermişlerdir. Yüzde seksenlik bir inhibisyon için 1 g/L bir 4-Hexylresorcinol konsantrasyonunun yeterli olacağını tespit etmişlerdir.



Şekil 5.2. Montero ve arkadaşlarının çalışmasındaki 4-Hexylresorcinol konsantrasyonunun baskılanmaya etkisi

Montero ve ark. (2005)' nın diğer bir çalışmasında 4-Hexylresorcinol'ün %0,01 konsantrasyonunda uygulaması sonucunda 2.gün 2.73, 4.gün 3.22, 7.gün 2.57 ve 5.günde 5.91 mg/kg kalıntı miktarları bildirilmiştir.

Martinez-Alvarez ve ark. (2007)' nın Norveç istakozlarında yapmış olduğu bir çalışmada 4-Hexylresorcinol (%0.1 ve %0.05) içeren solüsyonlar kullanımının melanosisi önlemek için ticari sülfit bazlı ürünlere iyi bir alternatif olabileceği belirtilmiştir. Çalışmada %0.05 konsantrasyonunda 4-Hexylresorcinol kullanımının 12 gün boyunca melanosisi önleyebildiği belirtilmiştir.

Perez-Mateos ve ark. (2002) istiridyelerde yaptığı bir çalışmada 4-Hexylresorcinol kullanımı yüksek basınç ve vakum paketleme ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada 50 ppm 4-Heylresorcinol solüsyonu kullanılmıştır. Örnekler 21 gün değişik sıcaklıklarda saklanmıştır (60 ^{o}C ve 0 ^{o}C). Sonuç olarak 4-Hexylresorcinol kullanılan istiridyelerde 21. Günde bozulma aktivitelerinde bir miktar artış görülmüştür. En geç bozulma aktivitelerinin diğer uygulamalara göre 0°C' de 4-Hexylresorcinol'lü kontrol örneklerinde olduğu bildirilmiştir.

Iyengar ve ark. (1991) yaptığı çalışmada Atlantik beyaz karideslerinde %0.005' den %0.01' e kadar olan 4-Hexylresorcinol solüsyonu uygulandığı zaman kalıntı miktarındaki artışın 0.4 - 0.9 mg/kg arasında değiştiği saptanmıştır.

Endüstriyel uygulama açısından 5 dakika ve üstü sürelerde uygulamalar hem üretimdeki zaman kısıtlaması hem de ürün kalitesi üzerindeki olası negatif etkileri düşünüldüğünde uygulanabilir görünmemektedir. Bu nedenle, Şekil 4.10.' daki tepki-yüzey grafiğinden de görülebileceği gibi, hem yasal limitlerin sağlanması, hem de endüstriyel uygulanabilirlik bakımından, 2 mg/kg değerinin aşılmadığı süre-konsantrasyon kombinasyonlarının uygun proses koşulları olarak kabul edilmesi gerektiği bulunmuştur.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada farklı süre uygulamaları ve farklı proses uygulamalarında 4-Hexylresorcinol' ün dikkatli kullanılması gerektiği ve yasal limitlerin aşılmaması için tepki yüzey grafiğinden geliştirilen formülün kullanılmasının sağlıklı sonuçlar vereceği tespit edilmiştir. Aynı zamanda uygulanan tüm 4-Hexylresorcinol konsantrasyonlarından yasal sınırı aşmayanların (2 mg/kg altında kalanlar) da melanosisi ne kadar inhibe ettiği yönünde araştırmaların yapılması tavsiye edilir.

KAYNAKLAR

ANGİŞ, Ş., OĞUZHAN, P., 2008, *Su Ürünlerinde Kullanılan Katkı Maddeleri.* Türkiye 10. Gıda Kongresi 21-23 Mayıs 2008 Erzurum, 603-606.

ARIK ÇOLAKOĞLU, F., ORMANCI, H.B., ALTIN, A., 2006, *Frische-Star ile Muamele Edilmiş Taze Karideslerin (Parapenaus longirostris) Raf Ömrünün Saptanması Üzerine Bir Araştırma*. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23 Ek/Suppl. (1/3), 383-386.

ARTÜZ, M. L., 2005, *Türkiye Denizlerinde Bulunan Karides Türleri Üzerine Etüt.* Zoo-Natantia, Publications Scientifiques,
http://www.artuz.com/artuz/PDF/128.pdf

BAŞÇINAR, N.S., 2004, *Karides.* SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni, 4, 1-3.

BAYHAN, K., ÜNLÜER, T., AKKAYA, M., 2005, *Some Biological Aspects of Parapenaeus longirostris (Lucas, 1846) (Crustacea, Decapoda) Inabiting the Sea of Marmara.* Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 29, 853-856.

BİLGİN, S., ERDEM, M.E., DUYAR, H.A., 2006, *Pişmiş ve Çiğ Olarak Buzdolabı Sıcaklığında Muhafaza Edilen Kahverengi Karides'in, Crangon crangon (Linnaeus, 1758), Kimyasal Kalite Değişimleri.* Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 18(2), 171-179.

CHINIVASAGAM, H.Ç.N., BREMNER, H.A., WOOD, A.F., NOTHIGAM, S.M., 1998, *Volatile Components Associated With Bacterial Spoilage of Tropical Prawns.* International Journal of Food Microbiology**,** 42**,** 45-55**.**

ÇAKLI, Ş., KIŞLA, D. 2003, *Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri.* E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20(1-2), 239 – 245.

DAWLEY, R.M., FLURKEY, W.H., 1993, *Differentiation of Tyrosinase and Laccase using 4-Hexyl-resorcinol, a Tyrosinase Inhibitor.* Phytochemistry, 33(2), 281-284.

DİLER, A., ATAŞ, Ş., 2003, *Antalya Bölgesinden Avlanan Penaeus semisulcatus De Haan 1884'un Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi ile Et Verimi.* Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 27, 497-503.

EURACHEM GUIDE 1998, *The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.* The Fitness for Purpose of Analytical Methods. LGC (Teddington) Ltd. 1-61.

ERKAN, N., ÖZDEN, Ö., ÜÇOK ALAKAVUK, D., TOSUN, Y.Ş., VARLIK, C., BAYGAR, T., 2007, *İstanbul'da satılan karideslerin Sodyum Metabisülfit düzeyinin tespiti.* Journal of FisheriesSciences.com, 1(1), 26-33.

FRANKOS V.H., SCHMITT D.F., HAWS L.C., MCEVILY, A.J., IYENGAR, R., MILLER, S.A., MUNRO I.C., CLYDESDALE F.M., FORBES, A.L., SAUER, R.M. 1991, *Generally Recognized as Safe (GRAS) Evaluation of 4-Hexylresorcinol for use as a Processing Aid for Prevention of Melanosis in Shrimp.* Regulatory Toxicology and Pharmacology, 14, 202-212.

GÖKKAYA, Ö., 2009, *Beyaz Kiraz Meyvesi (Starks Gold) Polifenol Oksidaz Enziminin Karakterizasyonu*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Danışman Doç. Dr. M. Ümit ÜNAL

GÖKOĞLU, N., 2004. *The effect of organic acid treatments on melanosis inhibition and shelf life in shrimp (Penaeus japonicus).* Acta Alimentaria, 33(2), 203-211.

GUANDALINI, E., IOPPOLO, A., MANTOVANI, A., STACCHINI, P., GIOVANNINI, C., 1998, *4-hexylresorcinol as inhibitor of shrimp melanosis: Efficacy and residues studies; evaluation of possible toxic effect in a human intestinal in vitro model (caco-2); preliminary safety assessment.* Food Additives & Contaminants: Part A, 15(2), 171-180.

HARDISSON, A., RUBIO, C., FRIAS, I., RODRIGUEZ, I., REGUERA, J.I., 2002, *Content of sulphite in frozen prawns and shrimps.* Food Control 13, 275–279.

http://www.chemexper.com/search/cas/136776.html (ziyaret 09/06/2010)

IYENGAR, R., BOHMONT, C.W., MC EVILY, A.J., 1991, *4-Hexylresorcinol and Prevention of Shrimp Blackspot: Residual Analyses.* Journal of Food Composition and Analysis, 4, 148-157.

JONKER, M.K., DEKKER, P.C., 2000, *Determination of 4- hexylresorcinol in Shrimp by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection.* Journal of AOAC International, 83(1), 241-244.

KOCATAŞ, A., KATAĞAN, T., UÇAL, O., BENLİ, H.A., 1991, *Türkiye Karidesleri ve Karides Yetiştiriciliği.* Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Seri A, Yayın No:4, s. 143.

MANAŞIRLI M., AVŞAR D., YELDAN H., 2008, *Badılimanı Koyundaki (Silifke Mersin) Derinsu Pembe Karidesinin Katmanlarına Göre Bulunurluğu.* Journal of FisheriesSciences.com 2(3), 524-535.

MARTINEZ-ALVAREZ, O., LOPEZ-CABALLERO, M.E., MONTERO, P., GOMEZ-GUILLEN, M.C., 2007, *Spraying of 4-hexylresorcinol based formulations to prevent enzymatic Brown ing in Norway lobsters (Nephrops norvegicus) during chilled storage.* Food Chemistry, 100, 147–155.

MAYER, A.M., 2006, *Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review*. Phytochemistry, 67, 2318–2331.

MCEVILY, A.J., IYENGAR R, OTWELL S., 1991, *Sulfite Alternative Prevents Shrimp Melanosis.* Food Technology, September, 80-86

MENDES R., 2006, *Guidebook on melanosis inhibitors and processing technology of crustaceans.* INIAP/IPIMAR: Project QLK1-CT-2002-71517 (CRUSTAMEL New approaches to the crustaceans prevention of melanosis and quality indices), 41 p.

MENDES R., PESTANA J., PESTANA C., 2006, *Changes in 4-hexylresorcinol residues during processing of deepwater pink shrimp (Parapenaeus longirostris).* European Food Research and Technology, 223, 509–515.

MERT, F., 2007, *Karideslerde Melanosis (Kara Benek) Oluşumunun Engellenmesi ve 4-Hexylresorcinol Kalıntılarının Tespiti.* Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Danışman Prof. Dr. Şükran ÇAKLI, s.42, Bornova-İzmir.

MONTERO, P., AVALOS, A., PEREZ-MATEOS, M., 2001, *Characterization of polyphenoloxidase of prawns (Penaeus japonicus). Alternatives to inhibition: additives and high-pressure treatment.* Food Chemistry, 75, 317–324.

MONTERO, P., MARTINEZ-ÁLVAREZ, O., GOMEZ-GUILLEN, M.C., 2004, *Effectiveness of Onboard Application of 4-Hexylresorcinol in Inhibiting Melanosis in Shrimp (Parapenaeus longirostris).* Journal of Food Science, 69(8), C643-C647.

MONTERO, P., MARTINEZ-ALVAREZ, O., GOMEZ-GUILLEN, M.C., ZAMARANO, J.P., ALIQUE, R., 2005, *Melanosis Inhibition and 4- Hexylresorcinol Residual Levels In Deepwater Pink Shrimp (P. logirostris) Following Various Treatments.* European Food Research and Technology, 223(1), 16-21.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP), 1988, *Toxicology and Carcinogenesis Studies of 4-Hexylresorcinol (CAS NO. 136-77-6) IN F344/N Rats and B6C3Fi Mice (Gavage STudies),* U.S. Department of Health and Human Services, Technical Report Series No. 330.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 1998, *Food Additives Other Than Colours and Sweeteners.* Directive 98/72/EC of the European Parliament and of the Council L295/18-30.

OTWELL, W.S., IYENGAR, R. MCEVILY A.J., 1992, *Inhibition of Shrimp Melanosis by 4-Hexylresorcinol.* Journal of Aquatic Food Product Technology, 1(1), 53-56.

OTWELL, W. S., MARSHALL, M. 1986, *Studies on the Use of Surfices to Control Shrimp Melanosis (Blackspot).* Florida Sea Grant College Technical Paper No. 46. p.1-18, University of Florida, Gainesville, Florida.

ÖZDEN, Ö., 2010, *Seasonal Differences in the Trace Metal and Macrominerals in Shrimp (Parapenaus longirostris) from Marmara Sea.* Environmental Monitoring and Assessment, 162, 191-199.

PEREZ-MATEOS, M., LOPEZ-CABALLERO, M.E., MONTERO, P., 2002, *Effect of High Pressure and 4-Hexylresorcinol on Enzymatic Activity and Darkening in Oysters.* Journal of Food Science, 67(6), 2107-2112.

POZO, R. 1990, *Aditivos y Alergia Alimentaria.* Alimentaria, 210, 73–78.

SCHUBRING, R., 1997, *Die Verwendung von Zusatzstoffen bei Krebstieren unter besonderer Berücksichtigung von Phosphaten.* Informationen aus der Fischereiforschung, 44(2), 80-85.

THEPNUAN, R., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., 2008, *Effect of Pyrophosphate and 4-Hexylresorcinol Pretreatment on Quality of Refrigerated White Shrimp (Litopenaeus vannamei) Kept under Modified Atmosphere Packaging.* Journal of Food Science, 73(3), S124-S133.

TSE, 1991, *Sodyum Metabisülfit- Gıdalarda Kullanılan. Türk Standartları TS 9558/Kasım 1991,* UDK 664.099.4:546.332.24, Birinci Baskı G.T.İ.P. 2832.10, Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Caddesi 112 Bakanlıklar-Ankara.

TUİK, 2008a, *Avlanan Diğer Deniz Ürünleri Miktarı.* **http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=47&ust_id=13**

TUİK, 2008b, *Kültür Balıkları Üretim Miktarı.* **http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=47&ust_id=13**

TÜRK GIDA KODEKSİ, 2008, *Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği,* **www.kkgm.gov.tr/TGK/Teblig/2008-22.html**

VARLIK, C., BAYGAR, T., ÖZDEN, Ö., ERKAN, N., METİN, S., 2000, *Soğukta Depolanan Karideslerin (Parapenaeus longirostris, Lucas 1846) Bazı Duyusal, Fiziksel ve Kimyasal Parametrelerinin Belirlenmesi.* Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 24, 181-185.

VARLIK, C., ÖZDEN, Ö., ERKAN, N., ALAKAVUK UÇOK, D., 2007, *Su Ürünlerinde Temel Kalite Kontrol.* İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4662, Fakülte Yayın No: 8, s. 1-202, İstanbul.

WILLIAMS, D.J., SLATERRY, S.L., NOTTINGHAM, S.M., 1990, *A Comparison of Selected Methods for Determining Sulphite in Prawns.* Journal of Food Protection, 53, 875–877.

ZAMORANO, J.P., MARTINEZ-ALVAREZ, O., MONTERO, P., GOMEZ-GUILLEN, M.C., 2009, *Characterisation and tissue distribution of polyphenol oxidase of deepwater pink shrimp (Parapenaeus longirostris).* Food Chemistry, 112, 104–111.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve liseyi Darıca'da tamamladı. 1998 Yılında Celal Bayar Üniversitesi Saruhanlı M.Y.O Gıda Teknolojisi Programından mezun oldu. 1998 yılında Tübitak-Mam Gıda Enstitüsü'nde Enstrümantal Analiz Laboratuvarı'nda göreve başladı. 2006 yılında lisans eğitimini tamamlamasının ardından 2007 yılında İstanbul Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi İşleme Programında Yüksek Lisans'a başladı. Halen Tübitak-Mam Gıda Enstitüsü'nde Enstrümantal Analiz Laboratuvarı'nda göreve devam etmektedir.