

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**SOĞUKTA VE DONDURULARAK DEPOLANAN USKUMRU
BALIĞINDA (*Scomber scombrus*) LİPİDLERDEKİ VE PROTEİNLERDEKİ
DEĞİŞMELERE BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN ETKİSİ:
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE**

Berna ÖZALP ÖZEN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2014

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Berna ÖZALP ÖZEN tarafından hazırlanan “Soğukta ve Dondurularak Depolanan Uskumru Balığında (*Scomber scombrus*) Lipidlerdeki ve Proteinlerdeki Değişmelere Bitkisel Ekstraktların Etkisi: Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivite” adlı tez çalışması 18.06.2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri :

Başkan: Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof . Dr. Nuray KOLSARICI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Hami ALPAS
Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Halil VURAL
Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim DEMİR
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

18.06.2014

Berna ÖZALP ÖZEN

ÖZET

Doktora Tezi

SOĞUKTA VE DONDURULARAK DEPOLANAN USKUMRU BALIĞINDA (*Scomber scombrus*) LİPİDLERDEKİ VE PROTEİNLERDEKİ DEĞİŞMELERE BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN ETKİSİ: ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE

Berna ÖZALP ÖZEN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Bu çalışmada, soğukta ve dondurularak depolama süresince kıyma ve fileto uskumruların mikrobiyal, oksidatif ve duyu kalitesine yeşil çay (YÇE), üzüm çekirdeği (ÜÇE) ve nar kabuğu (NKE) ekstraktlarının etkinliği incelenmiştir. Bitkisel materyallerin toplam fenolik madde miktarları dikkate alınarak, son üründe istenen toplam fenolik madde miktarı kıymada 100 ppm, fileto da 50 ppm olacak şekilde örnekler hazırlanmıştır. Depolama sırasında bitkisel ekstraktların etkinliği, sentetik antioksidan (BHT) içeren ve hiçbir katkı içermeyen kontrol (K) örnekler ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada ayrıca, bitkisel ekstraktların antioksidan aktiviteleri, antimikrobiyal aktiviteleri, toplam fenolik madde miktarları, fenolik madde dağılımları ve metallerle kelat oluşturma kapasiteleri belirlenmiştir.

NKE'nin (114.27 g gallik asit eşdeğeri/kg), ÜÇE (33.75 g gallik asit eşdeğeri/kg) ve YÇE'dan (22.08 g gallik asit eşdeğeri/kg) daha yüksek miktarda fenolik madde içerdiği ve buna bağlı olarak da daha yüksek oranda antioksidan aktivite (816.99 mM troluks/g) gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.01$). YÇE'nin, *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. NKE, *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili iken *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. ÜÇE'nin, *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a karşı değişik düzeylerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan uygulaması, soğukta depolanan kıyma ve fileto etlerde mikrobiyal ve oksidatif kaliteyi etkilemiştir. Antioksidan kaynağı içeren örneklerde TAPB sayısı daha düşük bulunmuş ve depolama boyunca en düşük TAPB sayısı, NKE (kıyma örneklerde 6.46 $\log_{10}$ kob/g, fileto örneklerde 5.30 $\log_{10}$ kob/g) içeren örneklerde saptanmıştır ($P<0.01$). Soğukta depolanan kıyma K örnekleri ile kıyaslandığında, NKE uygulamasının depolamanın 10. gününde 0.75 log azalma sağladığı belirlenmiştir. TVB-N ve TMA-N miktarları antioksidan ilavesi ile önemli düzeyde azaltılabilmektedir ($P<0.01$). Kıyma K örneklerde, TVB-N miktarı 7. günde bozulma sınırına ulaşırken, antioksidanlı örnekler kabul sınırlarında kalmıştır. Soğukta depolanan fileto örnekler ise 7. günde bozulma sınırını aşmışlardır. TVB-N ve TMA-N bileşiklerinin oluşmasında, mikrobiyal faaliyet yanında enzimatik reaksiyonlar da etkilidir. Depolama süresine bağlı olarak heme demir miktarı azalmış, bu azalma antioksidanlı örneklerde

daha yavaş gelişmiştir ($P<0.01$). Duyusal analizde, depolama süresince K grubu diğer örnek gruplarından daha düşük puanlarla değerlendirilirken, NKE panelistlerin koku puanlarını olumlu yönde etkilemiştir.

Dondurma işlemi ve antioksidan ilavesi TAPB sayısını azaltmıştır ($P<0.01$). Depolama sonunda TAPB sayısı en düşük NKE'lı örnekler (kıyma örnekler için $3.23 \log_{10}\text{KOB/g}$, fileto örnekler için $2.81 \log_{10}\text{KOB/g}$) olmuştur ($P<0.01$). Antioksidan ilavesi, donmuş depolama sırasında daha az TVB-N ve TMA-N oluşumuna neden olmuştur ($P<0.01$). TAPB sayısı, TMA-N ve TVB-N miktarları dikkate alındığında bitkisel ekstrakt uygulamasının dondurarak depolanan kıyma ve fileto uskumruların kalitesini korumada 6 ay etkili olduğu belirlenmiştir. Bitkisel antioksidan kaynaklarının, örneklerde oksidatif reaksiyonları yavaşlatarak renk değişimini sınırlandırdığı belirlenmiştir. Dondurularak depolanan örneklerde depolama süresince taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Panelistler K örneklerine daha düşük puanlar vermiştir.

Soğukta ve donmuş depolama süresinin uzamasına bağlı olarak lipidlerde ve proteinlerde oksidatif reaksiyonlar meydana gelmiştir. Peroksit değeri, TBARM değeri, *p*-anisidin değeri, karbonil ve sülfidril miktarları, BHT ve NKE uygulamalarının oksidasyonu geciktirmede daha etkili olduğunu göstermiştir. Bitkisel antioksidan kaynakları arasında NKE, lipid ve protein oksidasyonunu azaltmada diğerlerinden daha etkili bulunmuştur. Lipid ve protein oksidasyonu üzerine YÇE etkili bulunmamıştır. Depolama süresince kıyma ve fileto örneklerde çoklu doymamış yağ asitlerinde azalma, tekli doymamış ve doymuş yağ asitlerinin miktarlarında artış görülmüştür. Soğukta depolanan kıyma örneklerin çoklu doymamış yağ asitlerinde %27.51, fileto örneklerde %44.02 azalma gözlenmiştir. Dondurularak depolanan kıyma örneklerin çoklu doymamış yağ asitlerinde %29.63, fileto örneklerde %31.48 azalma gözlenmiştir. Depolama süresince protein çözünürlüğü giderek azalmış, miyofibrillar protein fraksiyonlarında değişimler meydana gelmiş ve yüksek molekül ağırlığına sahip protein fraksiyonlarında azalma gözlenmiştir. Protein çözünürlüğünde soğuk depolanan kıyma örneklerde en fazla azalma %36 ile sarkoplazmik protein çözünürlüğünde (SPÇ), fileto örneklerde en fazla azalma %35 ile miyofibrillar protein çözünürlüğünde (MPÇ), donmuş depolanan kıyma örneklerde %67 ile miyofibrillar protein çözünürlüğünde (MPÇ) ve fileto örneklerde %39 ile miyofibrillar protein çözünürlüğünde (MPÇ) gözlenmiştir. Protein çözünürlüğündeki azalmayı, donmuş depolamada NKE ve BHT ilavesi yavaşlatmıştır.

Elde edilen sonuçlar, NKE ve ÜÇE gibi bitkisel kaynakların soğukta ve dondurularak depolanan kıyma ve fileto uskumru etleri için iyi bir antimikrobiyal ve antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. Bunlar arasında NKE, en iyi etkiye sahip bitkisel kaynak olmuştur.

Haziran 2014, 288 sayfa

Anahtar Kelimeler: Uskumru, bitkisel ekstraktlar, soğukta depolama, donmuş depolama, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, lipid oksidasyonu, protein oksidasyonu, protein çözünürlüğü, SDS-PAGE.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EFFECT OF PLANT DIETARY EXTRACTS ON THE CHANGES IN LIPIDS AND PROTEINS OF ATLANTIC MACKEREL (*Scomber scombrus*) DURING REFRIGERATED AND FROZEN STORAGE: ANTIOXIDATIVE AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS

Berna ÖZALP ÖZEN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

In this study, the effect of green tea (GTE), grape seed (GSE) and pomegranete peel (PPE) application on quality of mackerel mince and fillets during refrigerated and frozen storage were investigated. Considering the quantity of plant materials phenolic content, total phenolic content of the final product was adjusted to 100 ppm for mince samples and 50 ppm for fillets. Effects of used extracts was compared with BHT and control (without any antioxidant). In this study also, antioxidant activity, antimicrobial activity, total phenolic content, phenolic composition and chelating capacity of plant material are determined.

Compared to GTE (22.08 g gallic acid equivalent/kg) and GSE (33.75 g gallic acid equivalent/kg), PPE (114.27 g gallic acid equivalent/kg) has more phenolic compounds ($P<0.01$). Therefore, PPE has a higher antioxidant activity (816.99 mM trolox/g) ($P<0.01$). GTE is not effective against *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. PPE showed antibacterial activity against *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*, but it is not active against *Escherichia coli* O157:H7. GSE is effective at different levels against *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*

Antioxidant treatments have influenced microbial and oxidative quality of refrigerated samples. Microbial growth in antioxidant treated samples were slow. PPE samples had significantly lower total viable count than other samples during storage (for mince sample $6.46 \log_{10}\text{cfu/g}$, for fillet sample $5.30 \log_{10}\text{cfu/g}$) ($P<0.01$). Compared with mince and fillet control (C) samples, PPE application decreased total psychrotrophic aerobic bacteria count 0.75 log and 0.98 log at day 10, respectively. During refrigerated storage, the use of antioxidants limited the increase in TVB-N and TMA-N content ($P<0.01$). Considering TVB-N content, minced C samples were close to deterioration after 7 days of storage while other samples were close to acceptance limit. After 7 days of refrigerated storage, fillet samples were not acceptable. In formation of TVB-N and TMAN compounds, besides microbial activity also effect enzymatic reactions during refrigerated storage. During refrigerated storage, heme iron content of all samples decreased ($P<0.01$). These change could be limited by the antioxidants application. In sensory evaluation, C samples had the lowest scores and a positive effect of PPE incorporation on odor of mackerel meat was determined.

Freezing process and antioxidant application slowed down microbial growth ($P<0.01$). At the end of frozen storage, PPE samples had significantly lowered (from in sample 3.23 $\log_{10}\text{cfu/g}$, for fillet sample 2.81 $\log_{10}\text{cfu/g}$) total viable count than other samples ($P<0.01$). Antioxidant application limited the increase in TVB-N and TMA-N content during frozen storage ($P<0.01$). According to microbial growth, and TMA-N and TVB-N contents, application of natural extracts retained their good quality characteristics of mackerel mince and fillets during six months of frozen storage. Antioxidants slowed down the color change by limiting oxidative reactions. It was determined that fresh fish, rancid, oily, painty and chemical/natural extracts odours scores were declining in all samples. The panelists gave lower scores in C samples.

Depending on prolonged refrigerated and frozen storage time, oxidative reactions occurred in lipids and proteins. According to peroxide value, TBARM content, p-Anisidine value, carbonyl and sulphhydryl content, BHT and PPE are more effective in retarding oxidation. Among the natural sources PPE is more effective in retarding lipid and protein oxidation. GTE is not effective against lipid and protein oxidation. During storage, in all samples, polyunsaturated fatty acids content decreased while mono unsaturated fatty acids and saturated fatty acids increased. Polyunsaturated fatty acids content decreased by 27.51% and 44.02% in refrigerated storage of mackerel minces and fillets, respectively. Polyunsaturated fatty acids content decreased by 29.63% and 31.48% in frozen storage of mackerel minces and fillets, respectively. Protein solubility values decreased, myofibrillar protein fractions were altered and the amount of high molecular weight protein fraction decreased. In protein solubility the maximum reduction of 36% was observed in sarcoplasmic protein solubility in refrigerated storage of mackerel mince. In protein solubility the maximum reduction of 35% was observed in myofibrillar protein solubility in refrigerated storage of mackerel fillets. In protein solubility the maximum reduction of 67% and 39% was observed in myofibrillar protein solubility in frozen storage of mackerel mince and fillets, respectively.

Results indicated that natural extracts (such as PPE and GSE) obtained from plant sources can be used as antimicrobial and antioxidant additives in refrigerated and frozen storage of mackerel minces and fillets. Among the antioxidant sources used in the study, PPE has been found to give better results than others.

June 2014, 288 pages

Key Words: Mackerel, plant extracts, refrigerated storage, frozen storage, antioxidant activity, antimicrobial activity, lipid oxidation, protein oxidation, protein solubility, SDS-PAGE.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren ve her konuda hoşgörüsü ile desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Ayla SOYER'e (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), doktora eğitimimi destekleyen TÜBİTAK'a, laboratuvar olanaklarından yararlandığım Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a, renk cihazı için Prof. Dr. Nevzat ARTIK'a, fenolik madde dağılımı analizinin yapılmasına yardımcı olan Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a, yağ asitleri dağılımı analizinin yapılmasına yardımcı olan Prof. Dr. Aziz TEKİN'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa KIRALAN'a ve Araş. Gör. Onur KETENOĞLU'na, antimikrobiyal aktivite analizinin yapılmasına yardımcı olan Dr. Şeref TAĞI'ya, tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı Gıda. Yük. Müh. Mehser TURAN'a, Gıda. Yük. Müh. Hazret ÖZDEMİR'e,

Hayatımın her anında olduğu gibi, bu zorlu çalışmada da benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli eşim Gökhan ÖZEN'e, annem Züleyha ÖZALP'e, babam Abdurrahman ÖZALP'e, kardeşim Şeyda ÖZALP'e ve oğlum Kuzey Efe ÖZEN'e teşekkür ederim.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 13L4343010 no.'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Berna ÖZALP ÖZEN

Ankara, Haziran 2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI	
ETİK SAYFASI.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
SİMGELER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	49
3.1 Materyal.....	49
3.1.1 Et materyali.....	49
3.1.2 Antioksidan kaynakları.....	49
3.2 Yöntem.....	50
3.2.1 Bitkisel antioksidan kaynaklarının hazırlanışı.....	50
3.2.2 Soğukta ve dondurularak depolama için kıyma balık etlerinin Hazırlanışı.....	52
3.2.3 Soğukta ve dondurularak depolama için fileto balık etlerinin hazırlanışı.....	54
3.3 Örnek Alma ve Analiz Yöntemleri.....	56
3.3.1 Bitkisel ekstraktlarda yapılan analizler.....	56
3.3.1.1 Toplam fenolik madde miktarı.....	56
3.3.1.2 Antioksidanların balık etine adsorpsiyonu.....	57
3.3.1.3 ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite tayini.....	57
3.3.1.4 Metallerle kelat oluşturma aktivitesi.....	58
3.3.1.5 Antimikrobiyal aktivite.....	59
3.3.1.6 Fenolik madde dağılımı.....	60
3.3.2 Balık etinde yapılan analizler.....	63
3.3.2.1 Kimyasal bileşim.....	63
3.3.2.2 pH değeri.....	64

3.3.2.3 Enstrümental renk.....	64
3.3.2.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı.....	64
3.3.2.5 Heme demir miktarı.....	65
3.3.2.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı.....	66
3.3.2.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı.....	66
3.3.2.8 Duyusal değerlendirme.....	67
3.3.2.9 Peroksit değeri (PD).....	67
3.3.2.10 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı.....	68
3.3.2.11 <i>para</i> -Anisidin değeri (<i>p</i> -Ad).....	69
3.3.2.12 Yağ asidi kompozisyonu.....	69
3.3.2.13 Toplam karbonil miktarı.....	70
3.3.2.14 Toplam sülfidril miktarı.....	71
3.3.2.15 Protein çözünürlüğü.....	72
3.3.2.16 Biüre yöntemiyle protein miktarının belirlenmesi	73
3.3.2.17 Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrophorezi (SDS-PAGE).....	74
3.3.2.17.1 Miyofibrillar proteinlerin ekstraksiyonu.....	74
3.3.2.17.2 Jel hazırlama ve geliştirme.....	74
3.3.3 İstatistik Analiz.....	75
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	77
4.1 Bitkisel Ekstraktlara Uygulanan Analiz Sonuçları.....	77
4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı.....	77
4.1.2 Antioksidanların balık etine adsorpsiyonu.....	78
4.1.3 ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite.....	79
4.1.4 Metallerle kelat oluşturma aktivitesi.....	82
4.1.5 Antibakteriyal aktivite.....	83
4.1.6 Fenolik madde dağılımı.....	85
4.2 Uskumru Balığının Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri.....	86
4.3 Soğukta Depolanan Uskumru Kıymasına Ait Sonuçlar.....	87
4.3.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarı.....	87
4.3.2 pH değeri.....	88
4.3.3. Renk değerleri.....	90
4.3.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı.....	96
4.3.5 Heme demir miktarı.....	97

4.3.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı.....	100
4.3.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı.....	102
4.3.8 Duyusal değerlendirme.....	104
4.3.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi.....	108
4.3.9.1 Peroksit değeri (PD).....	108
4.3.9.2 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı.....	111
4.3.9.3 <i>para</i> -Anisidin (<i>p</i> -Ad) değeri.....	113
4.3.9.4 Yağ asitleri dağılımı.....	115
4.3.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi.....	117
4.3.10.1 Toplam karbonil miktarı.....	118
4.3.10.2 Toplam sülfidril miktarı.....	120
4.3.10.3 Protein çözünürlüğü.....	122
4.3.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE).....	125
4.4 Soğukta Depolanan Uskumru Filetosuna Ait Sonuçlar.....	126
4.4.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarı.....	126
4.4.2 pH değeri.....	128
4.4.3. Renk değerleri.....	130
4.4.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı.....	136
4.4.5 Heme demir miktarı.....	137
4.4.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı.....	139
4.4.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı.....	141
4.4.8 Duyusal değerlendirme.....	142
4.4.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi.....	146
4.4.9.1 Peroksit değeri (PD).....	146
4.4.9.2 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı.....	148
4.4.9.3 <i>para</i> -Anisidin (<i>p</i> -Ad) değeri.....	150
4.4.9.4 Yağ asitleri dağılımı.....	152
4.4.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi.....	154
4.4.10.1 Toplam karbonil miktarı.....	154
4.4.10.2 Toplam sülfidril miktarı.....	156
4.4.10.3 Protein çözünürlüğü.....	158
4.4.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE).....	161

4.5 Dondurularak Depolanan Uskumru Kıymasına Ait Sonuçlar.....	163
4.5.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarı.....	163
4.5.2 pH değeri.....	164
4.5.3. Renk değerleri.....	166
4.5.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı.....	171
4.5.5 Heme demir miktarı.....	173
4.5.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı.....	174
4.5.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı.....	176
4.5.8 Duyusal değerlendirme.....	178
4.5.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi.....	182
4.5.9.1 Peroksit değeri (PD).....	182
4.5.9.2 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı.....	184
4.5.9.3 <i>para</i> -Anisidin (<i>p</i> -Ad) değeri.....	188
4.5.9.4 Yağ asitleri dağılımı.....	189
4.5.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi.....	192
4.5.10.1 Toplam karbonil miktarı.....	192
4.5.10.2 Toplam sülfidril miktarı.....	194
4.5.10.3 Protein çözünürlüğü.....	196
4.5.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum.....	200
Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)	
4.6 Dondurularak Depolanan Uskumru Filetosuna Ait Sonuçlar.....	201
4.6.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarı.....	201
4.6.2 pH değeri.....	202
4.6.3. Renk değerleri.....	204
4.6.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı.....	208
4.6.5 Heme demir miktarı.....	210
4.6.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı.....	213
4.6.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı.....	214
4.6.8 Duyusal değerlendirme.....	216
4.6.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi.....	220
4.6.9.1 Peroksit değeri (PD).....	220
4.6.9.2 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı.....	223
4.6.9.3 <i>para</i> -Anisidin (<i>p</i> -Ad) değeri.....	225
4.6.9.4 Yağ asitleri dağılımı.....	227

4.6.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi.....	229
4.6.10.1 Toplam karbonil miktarı.....	229
4.6.10.2 Toplam sülfidril miktarı.....	231
4.6.10.3 Protein çözünürlüğü.....	232
4.6.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE).....	236
5. SONUÇ.....	238
KAYNAKLAR.....	243
EKLER.....	262
EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu.....	263
EK 2 Standart Eğriler.....	265
EK 3 Bitkisel Antioksidan Kaynaklarında Fenoliklere Ait HPLC X Kromatogramları.....	267
EK 4 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçları.....	268
EK 5 Araştırma Verilerinin Korelasyon Analizi Sonuçları.....	284
ÖZGEÇMİŞ.....	286

KISALTMALAR DİZİNİ

YÇE	Yeşil çay ekstraktı
NKE	Nar kabuğu ekstraktı
ÜÇE	Üzüm çekirdeği ekstraktı
NÇE	Nar çekirdeği ekstraktı
BHT	Bütillenmiş hidroksi tolüen
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
TBHQ	Tersiyer bütıl hidroksi kinon
EPA	Eikosapentaenoik asit
DHA	Dokosahekzaenoik asit
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
RH	Yağ asidi
R [•]	Yağ asidi alkil radikali
ROO [•]	Yağ asidi peroksil radikali
ROOH	Hidroperoksit
PH	Protein molekülü
P [•]	Protein radikali
POO [•]	Protein peroksil radikali
POOH	Protein alkil peroksit
PO [•]	Protein alkoksil radikali
POH	Protein alkoksil radikalının hidrojenli türevi
RSOH	Sülfenik asit
RSOOH	Sülfinik asit
CAC	Uluslararası gıda kodeksi komisyonu
AH	Antioksidan madde
GRAS	Generally Recognized As Safe
EC	Epikateşin
ECG	Epikateşin galat
EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallokateşin galat
GC	Gallokateşin

DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Cy-3-G	Siyanidin-3-glukozit
Dp-3-G	Delfinidin -3-diglukozit
Cy-3-5-DG	Siyanidin-3-5-glukozit
Dp-3-5-DG	Delfinidin -3-5-diglukozit
Pg-3-G	Pelargonidin-3-glukozit
Pg-3-5-DG	Pelargonidin-3-5-diglukozit
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
DMPD	N,N-dimethyl-p-phenylenediamine
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
DTNB	5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (Ellman reaktifi)
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
RP	Nar kabuğu tozu ekstrakt
MOA	Membran-Over-Agar
TPAB	Toplam psikrofil aerob bakteri
Kob	Koloni oluşturan birim
PD	Peroksit değeri
TBARM	Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi
TBA	Tiyobarbiturik asit
<i>p</i> -Ad	para-Anisidin değeri
DYA	Toplam doymuş yağ asiti
TDYA	Toplam tekli doymamış yağ asiti
ÇDYA	Toplam çoklu doymamış yağ asiti
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
TPÇ	Toplam protein çözünürlüğü
SPÇ	Sarkoplazmik protein çözünürlüğü
MPÇ	Miyofibrilar protein çözünürlüğü
TSA	Tryptic soy agar
ATP	Adenozin trifosfat
AKE	Ananas kabuğu ekstraktı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>Scomber scombrus</i>	6
Şekil 2.2 Oksidasyona eğilimli amino asit kalıntılarının yapıları	13
Şekil 2.3 Protein oksidasyonunun mekanizması	14
Şekil 2.4 Antioksidanların etki mekanizması	20
Şekil 2.5 Dört fenolik bileşiğin yapısı (a) kateşin, (b) kafeik asit, (c) ferulik asit ve (d) tannik asit.....	28
Şekil 2.6 Üzüm çekirdeği ekstraktında belirlenen en önemli polifenollerin yapısı	32
Şekil 2.7 Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları	40
Şekil 3.1 Bitkisel ekstrakt elde etme aşamaları.....	50
Şekil 3.2 Kıyma balık etinin hazırlanışı.....	53
Şekil 3.3 Fileto balık etinin hazırlanışı (A) Soğukta depolama (B) Donmuş depolama	55
Şekil 3.4 Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi ve antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi.....	60
Şekil 4.1. Kuyu difüzyon yönteminde gözlenen inhibisyon zonları	84
Şekil 4.2 Soğukta depolanan uskumru kıymasının pH değerindeki değişim.....	89
Şekil 4.3 Soğukta depolanan uskumru kıymasının L, a*, b*, C ve h ^o değerlerindeki değişim.....	92
Şekil 4.4 Soğukta depolanan uskumru kıymasının TAPB sayısındaki değişim	96
Şekil 4.5 Soğukta depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarındaki değişim.....	98
Şekil 4.6 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim	101
Şekil 4.7 Soğukta depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim	103
Şekil 4.8 Soğukta depolanan uskumru kıymasının duyusal puanlarındaki değişim	105

Şekil 4.9 Soğukta depolanan uskumru kıymasının peroksit değerindeki değişim.....	110
Şekil 4.10 Soğukta depolanan uskumru kıymasının tiyobarbiturik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim	111
Şekil 4.11 Soğukta depolanan uskumru kıymasının p-Anisidin değerindeki değişim .	114
Şekil 4.12 Soğukta depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarındaki değişim ...	119
Şekil 4.13 Soğukta depolanan uskumru kıymasında sülfidril miktarındaki değişim....	121
Şekil 4.14 Soğukta depolanan uskumru kıymasında toplam, sarkoplazmik ve miyofibrillar protein çözünürlüğündeki değişim	123
Şekil 4.15 Soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen miyofibrillar proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları.....	126
Şekil 4.16 Soğukta depolanan uskumru filetosunun pH değerindeki değişim	129
Şekil 4.17 Soğukta depolanan uskumru kıymasının L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim.....	132
Şekil 4.18 Soğukta depolanan uskumru filetolarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim	136
Şekil 4.19 Soğukta depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarındaki değişim.....	138
Şekil 4.20 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim	140
Şekil 4.21 Soğukta depolanan uskumru filetolarının trimetilamin nitrojeni miktarlarındaki değişim	141
Şekil 4.22 Soğukta depolanan uskumru filetosunun duyuşal puanlarındaki değişim ...	144
Şekil 4.23 Soğukta depolanan uskumru filetolarının peroksit değerindeki değişim.....	147
Şekil 4.24 Soğukta depolanan uskumru filetolarının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarlarındaki değişim	149
Şekil 4.25 Soğukta depolanan uskumru filetosunun p-Anisidin değerindeki değişim .	151
Şekil 4.26 Soğukta depolanan uskumru filetosunda karbonil miktarındaki değişim....	155
Şekil 4.27 Soğukta depolanan uskumru filetosunda sülfidril miktarındaki değişim	157

Şekil 4.28 Soğukta depolanan uskumru filetosunda toplam, sarkoplazmik ve miyofibrilar protein çözünürlüğündeki değişim	159
Şekil 4.29 Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen miyofibrilar proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları	162
Şekil 4.30 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının pH değerindeki değişim.....	165
Şekil 4.31 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim.....	168
Şekil 4.32 Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim.....	172
Şekil 4.33 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarındaki değişim.....	173
Şekil 4.34 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim.....	175
Şekil 4.35 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim	177
Şekil 4.36 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının duyusal puanlarındaki değişim.....	180
Şekil 4.37 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının peroksit değerindeki değişim.....	183
Şekil 4.38 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının tiyobarbiturik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim	184
Şekil 4.39 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının p-Anisidin değerindeki değişim.....	189
Şekil 4.40 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarındaki değişim.....	193
Şekil 4.41 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında sülfidril miktarındaki değişim.....	195
Şekil 4.42 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında toplam, sarkoplazmik ve miyofibrilar protein çözünürlüğündeki değişim	197
Şekil 4.43 Dondurularak depolanan kıyma uskumru balığında depolama süresince belirlenen miyofibriler proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları	200
Şekil 4.44 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun pH değerindeki değişim	203

Şekil 4.45 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun L, a*, b*, C ve h ^o değerlerindeki değişim.....	206
Şekil 4.46 Dondurularak depolanan uskumru filetolarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim.....	209
Şekil 4.47 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarındaki değişim.....	211
Şekil 4.48 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim.....	214
Şekil 4.49 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim	215
Şekil 4.50 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun duyusal puanlarındaki değişim.....	218
Şekil 4.51 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun peroksit değerindeki değişim.....	221
Şekil 4.52 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun tiyobarbiturik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim	224
Şekil 4.53 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun p-Anisidin değerindeki değişim.....	226
Şekil 4.54 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarındaki değişim.....	230
Şekil 4.55 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda sülfidril miktarındaki değişim.....	231
Şekil 4.56 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda toplam, sarkoplazmik ve miyofibrillar protein çözünürlüğündeki değişim	234
Şekil 4.57 Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında depolama süresince belirlenen miyofibriller proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları	237

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Uskumru balığının (<i>Scomber scombrus</i>) dünyadaki durumu	6
Çizelge 2.2 Antioksidanların etki mekanizmaları	19
Çizelge 3.1 İşleme şekline göre oluşturulan gruplar	53
Çizelge 4.1 Bitkisel antioksidan kaynaklarının toplam fenolik madde miktarları.....	77
Çizelge 4.2 Bitkisel antioksidan kaynaklarının kıyma ve fileto balık etine adsorpsiyon oranları	79
Çizelge 4.3 Bitkisel antioksidan kaynaklarının antioksidan aktivite düzeyleri.....	80
Çizelge 4.4 Bitkisel antioksidan kaynaklarının metallerle kelat oluşturma aktiviteleri	82
Çizelge 4.5 Bitkisel antioksidan kaynaklarının antimikrobiyal aktivite sonuçları	84
Çizelge 4.6 Bitkisel antioksidan kaynaklarının fenolik madde dağılımları	86
Çizelge 4.7 Denemede kullanılan uskumru balığının fiziksel özellikleri	87
Çizelge 4.8 Denemede kullanılan uskumru balığının nem miktarları, pH değerleri, TAPB sayıları ve TMA-N miktarları	87
Çizelge 4.9 Soğukta depolanan uskumru kıymasının nem, protein, kül ve yağ miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	88
Çizelge 4.10 Soğukta depolanan uskumru kıymasının pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	89
Çizelge 4.11 Soğukta depolanan uskumru kıymasının L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	91
Çizelge 4.12 Soğukta depolanan uskumru kıymasının TAPB sayısına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	96
Çizelge 4.13 Soğukta depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	98
Çizelge 4.14 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	100

Çizelge 4.15 Soğukta depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	102
Çizelge 4.16 Soğukta depolanan uskumru kıymasının duyu analizi sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	104
Çizelge 4.17 Soğukta depolanan uskumru kıymasının peroksit değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	109
Çizelge 4.18 Soğukta depolanan uskumru kıymasının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	111
Çizelge 4.19 Soğukta depolanan uskumru kıymasının <i>p</i> -Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	113
Çizelge 4.20 Soğukta depolanan uskumru kıymasındaki depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı	116
Çizelge 4.21 Soğukta depolanan uskumru kıymasının karbonil miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	118
Çizelge 4.22 Soğukta depolanan uskumru kıymasının sülfidril miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	120
Çizelge 4.23 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam protein çözünürlüğü, sarkoplazmik protein çözünürlüğü ve miyofibriller protein çözünürlüğü miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi ..	122
Çizelge 4.24 Soğukta depolanan uskumru filetosunun nem, protein, kül ve yağ miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi ..	127
Çizelge 4.25 Soğukta depolanan uskumru filetosunun pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	128
Çizelge 4.26 Soğukta depolanan uskumru filetosunun L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	131
Çizelge 4.27 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam aerob psikrofil bakteri sayısına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	136
Çizelge 4.28 Soğukta depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	138
Çizelge 4.29 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	139

Çizelge 4.30 Soğukta depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	141
Çizelge 4.31 Soğukta depolanan uskumru filetosunun duyuşsal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	143
Çizelge 4.32 Soğukta depolanan uskumru filetosunun peroksit değeri (PD) lipid farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	146
Çizelge 4.33 Soğukta depolanan uskumru filetosunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi -miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	148
Çizelge 4.34 Soğukta depolanan uskumru filetosunun <i>p</i> -Anisidin değeri farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	151
Çizelge 4.35 Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı	153
Çizelge 4.36 Soğukta depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	155
Çizelge 4.37 Soğukta depolanan uskumru filetosunun sülfidril miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	156
Çizelge 4.38 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam protein çözünürlüğü, sarkoplazmik protein çözünürlüğü ve miyofibrillar protein çözünürlüğü miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi ..	158
Çizelge 4.39 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının nem, protein, kül ve yağ miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi ..	164
Çizelge 4.40 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının pH değeri farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	165
Çizelge 4.41 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının L*, a*, b*, C ve h° değeri farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	167
Çizelge 4.42 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam aerob psikrofil bakteri sayısına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	171
Çizelge 4.43 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	173
Çizelge 4.44 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	175

Çizelge 4.45 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	176
Çizelge 4.46 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının duyusal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi....	179
Çizelge 4.47 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının peroksit değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	182
Çizelge 4.48 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	184
Çizelge 4.49 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının <i>p</i> -Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	188
Çizelge 4.50 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı	190
Çizelge 4.51 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının karbonil miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	192
Çizelge 4.52 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının sülfidril miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	194
Çizelge 4.53 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam protein çözünürlüğü, sarkoplazmik protein çözünürlüğü ve miyofibrillar protein çözünürlüğü miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	196
Çizelge 4.54 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun nem, protein, kül ve yağ miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	202
Çizelge 4.55 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	203
Çizelge 4.56 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	205
Çizelge 4.57 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam aerob psikrofil bakteri sayısına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	209
Çizelge 4.58 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	211

Çizelge 4.59 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	213
Çizelge 4.60 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi.....	215
Çizelge 4.61 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun duyusal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi....	217
Çizelge 4.62 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun peroksit değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	220
Çizelge 4.63 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	224
Çizelge 4.64 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun <i>p</i> -Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	225
Çizelge 4.65 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı	227
Çizelge 4.66 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	229
Çizelge 4.67 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun sülfidril miktarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	231
Çizelge 4.68 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam protein çözünürlüğü, sarkoplazmik protein çözünürlüğü ve miyofibrillar protein çözünürlüğü miktarlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi	233

1. GİRİŞ

Balık eti; genel olarak %66-84 su, %15-24 protein, %0.1-22 yağ, %0.8-2 mineral madde ve %1-3 glikojen içerir. Diğer etler gibi proteince zengin olan balık eti proteinleri esansiyel amino asitleri de yüksek oranda içermektedir. Balık eti bağ doku miktarının düşük, kaslarının uzun çizgili yapıya sahip olan memelilerden farklı olarak kısa ve myocommata ile ayrılmış myotomlar şeklinde olması nedeniyle yumuşaktır, pişmesi ve sindirilmesi kolaydır. Balık etinin yağ içeriği türlere, aynı tür içerisinde mevsimsel değişimlere, beslenme özelliklerine, balığın yetiştiği suyun tuzluluk oranına ve diğer faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Balık yağları, yağda çözünen vitaminler ile doymamış yağ asitlerini içermektedir. Balık yağı ortalama olarak %20 doymuş, %80 doymamış yağ asidi içerir. Balık yağı Omega-3 grubu yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5 n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6 n-3) gibi uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içerir (Majsood ve Benjakul 2010). Balık eti B grubu vitaminlerinden tiamin (B₁), riboflavin (B₂), niasin (B₃), pridoksin (B₆), ve B₁₂ vitamininin iyi kaynağıdır. Balıklar içerdikleri mineral maddelerce de insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir ve iyot, selenyum, kalsiyum, magnezyum, çinko ve fosfor açısından oldukça zengin kaynaklardır (Baysal 2002).

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de daha fazla balığın işlenerek hem dayanıklılığının artırılması hem de katma değer katılarak ekonomik değerinin artırılması yönünde bir eğilim söz konusudur. Gıdaların düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmeleri, bir taraftan mikroorganizmaların çoğalmalarını ve faaliyetini yavaşlatırken diğer taraftan kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların hızlarını sınırlayarak gıdaların bozulmalarını geciktiren bir uygulamadır. Soğukta depolanan balığın ömrü; ürüne, sıcaklığa ve ambalaj durumuna bağlı olmak üzere birkaç günden birkaç haftaya kadar uzatılabilmektedir. Dondurma, diğer muhafaza yöntemleri ile karşılaştırıldığında balık kalitesini, en az kalite kaybına neden olarak uzun süre koruyan bir muhafaza yöntemidir. Balıkların dondurularak muhafazası, ürünü daha uzun süre taze tutma avantajının yanında diğer bazı avantajlara da sahiptir. Donma olayı, balıkta mevcut parazitlerin ölmesini sağlamaktadır (Freeman 1992). Düşük sıcaklıklarda muhafaza, üründe istenmeyen mikrobiyolojik değişimleri ve biyokimyasal reaksiyonları geciktirmektedir. Bununla

birlikte uzun depolama sürelerinde, ürünün niteliğine bağlı olarak bazı kalite kayıpları meydana gelmektedir. Düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen balıklarda kalite kaybına neden olan önemli faktörlerden bir kısmı da lipidlerde ve proteinlerde meydana gelen değişmelerin neden olduğu lipid oksidasyonu, protein oksidasyonu ve protein denaturasyonudur. Özellikle balık ve kanatlı etleri oksidasyona duyarlı çoklu doymamış yağ asitlerini, oksidasyonu katalize eden unsurları (miyoglobin ve demir gibi) fazla miktarlarda içermeleri nedeniyle depolama sırasında oksidatif reaksiyonlara diğer gıdalardan daha fazla maruz kalmaktadırlar (Asghar vd. 1988, Soyer vd. 2010).

Avlandıktan sonra su ürünlerinde kalite, otolitik faaliyetlerle ve sonradan kontamine olan mikroorganizmaların çoğalması ile ve proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin kaybolması nedenleriyle azalmaktadır (Sikorski vd.1990, Haard 1992). Balıkta meydana gelen otoliz, peptidlerin ve serbest amino asitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Meydana gelen bu bileşikler mikrobiyal çoğalma için uygun besin ortamını oluşturmakta ve üründe kalite kayıplarına neden olmaktadır. Diğer yandan, su ürünleri çoklu doymamış yağ asitlerini, hematin ve metal iyonlarını fazlaca içermelerinden dolayı oksidasyona bağlı kalite kayıplarına uğramaktadırlar (Asghar vd. 1988, Decker ve Hultin 1992, Soyer vd. 2010). Özellikle yağlı balıklarda lipid oksidasyonu daha fazla kalite kaybına yol açmaktadırlar. Bunun nedeni yağlı balıkların içerdiği yüksek düzeyde uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA)'dır. Bu kalite kaybı yağlı balıklarda olduğu kadar yağsız balıklarda da gözlenmektedir. Oksidatif değişmeler sonucu üründe kötü flavor gelişmekte, toksik nitelikte bileşikler birikmekte, esansiyel yağ asitlerinin ve yağda çözünür vitaminlerin miktarlarında azalmalar olmaktadır (Pearson vd. 1983, Shahidi ve Wanasundara 1992).

Soğutularak ve dondurularak depolanan balıklarda lipid oksidasyonu çok fazla çalışılmasına rağmen, protein oksidasyonu ve lipid-protein oksidasyonu arasındaki ilişki az bilinmektedir. Proteinlerin besinsel ve teknolojik önemleri göz önüne alındığında gıdanın kalitesinin korunmasında maruz kaldıkları reaksiyonların belirlenmesi ve alınması gerekli tedbirlerin ortaya konulması gereklidir (Eymard vd 2009, Soyer vd. 2010).

Dondurularak depolanan yağlı balıklarda oksidatif reaksiyonları geciktirmek amacıyla antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Shahidi 1997, Soyer ve Şahin 1999). Sentetik antioksidanların (BHT, BHA, TBHQ) karsinojenik etki gösterdiklerinin ortaya konulması (Wu vd. 1982, Lindberg Madsen ve Bertelsen 1995), doğal antioksidanların kullanımını gündeme getirmiştir. Bu amaçla antioksidan kaynağı olarak fenolik madde içeriği yüksek olan bitkisel ekstraktların kullanılmasına yönelik çalışmalar artmıştır.

Bu çalışmada, ekonomik değeri yüksek ve yağlı bir balık olan uskumrudan elde edilen kıymada ve fileto etlerde soğukta ve dondurularak depolama sırasında lipidlerde ve proteinlerde meydana gelen değişimleri geciktirmek amacıyla yeşil çay, üzüm çekirdeği ve nar kabuğu ekstraktlarının etkinliği belirlenmiştir. Depolama sırasında bitkisel ekstraktların etkinliği, bir sentetik kimyasal (BHT) içeren ve hiçbir katkı içermeyen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada ayrıca, bitkisel ekstraktların antioksidan aktiviteleri, antimikrobiyal aktiviteleri, toplam fenolik madde miktarları, fenolik madde dağılımları ve metallerle kelat oluşturma kapasiteleri belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya nüfusunun hızla artması, sınırlı olan gıda kaynaklarının daha verimli kullanılmasını gerekli kılmaktadır. Gıda maddelerinin üretim miktarındaki artış, nüfus artışının gerisinde kalmaktadır. Bu nedenle gıda kaynaklarından ekonomik olarak yararlanılmasının yanı sıra, elde edilen hammaddenin değerlendirilmesinde uygun teknolojilerin kullanılması da önemlidir. Günümüzde karasal hayvanlardan elde edilen hammadde üretim miktarı nispeten sınırlı bir duruma gelmiştir. Bu nedenle su kaynaklarından yararlanılarak gıda üretiminde artış meydana getirme çabaları gün geçtikçe daha fazla dikkat çekmektedir. Ülkemizin coğrafi yapısı, bulunduğu iklim kuşağı, üç tarafının denizlerle çevrili olması, göl, gölet, baraj gölleri ve akarsularımızın zenginliği nedeni ile deniz ve iç sularda çeşitli su ürünlerinin üretimine imkan verecek kaynaklara sahiptir. Türkiye’yi çevreleyen farklı karakterlere sahip dört ayrı deniz, balık türleri açısından büyük zenginliğe sahiptir. Ülkemiz coğrafi konumu ve uygun iklim kuşağıyla deniz ve iç sularda hemen her çeşit su ürünü yetiştirme ve yetiştirilme imkanına sahip olmasına karşın, balık ve diğer su ürünleri verimli bir şekilde değerlendirilememektedir. Su ürünlerinin insan beslenmesindeki payını artırmak ve ekonomik kazancı yükseltmek için, bu ürünlerin katma değeri arttırılmış işlenmiş ürünlere dönüştürülmesi gerekmektedir. Özellikle son yıllarda tüketicilerin de bilinçlenmesiyle birlikte sağlıklı, tüketime hazır, güvenli, uzun süre dayanıklı gıdalara karşı olan ilginin artmasıyla birlikte işlenmiş balık ve ürünlerinin tüketiminde de artış görülmektedir. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) dünyada en hızlı gelişen gıda sektörünün balıkçılık olduğunu bildirmiştir (Valdimarsson 2005).

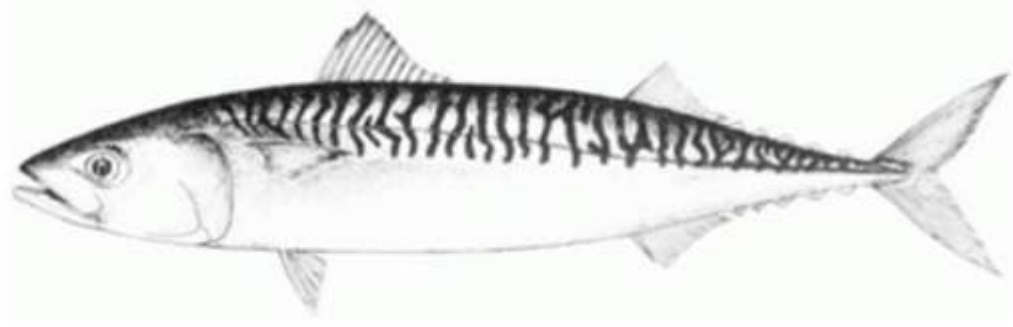
Su ürünlerinin pH ve nem içeriklerinin yüksek olması diğer hayvansal ürünlere göre daha çabuk bozulmalarına neden olur. Bu nedenle artan tüketici talebini karşılamak için avlanan su ürünlerinin taze olarak tüketilmesinin yanı sıra dondurularak veya çeşitli işleme yöntemleri uygulanarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Böylece hem ürün çeşitliliğinin arttırılarak balığın sınırlı miktarlarda elde edildiği dönemlerde de tüketiciye farklı özellikte su ürünlerinin sunulabilmesi, hem de balık etinin daha fazla öğünde tüketilebilmesi söz konusu olacaktır.

FAO 2009 verilerine göre, dünyada avlanan balığın yaklaşık %84'ü (121.8 milyon ton) doğrudan insan tüketiminde kullanılırken, geriye kalan %16'sı (22.8 milyon ton) balık yemi ve balık yağı üretiminde kullanılmıştır. İnsan tüketiminde kullanılan balığın ise %47'si taze olarak tüketilmiş, %53'ü ise çeşitli şekillerde işlenerek piyasaya sunulmuştur (Anonymous 2009).

Ülkemiz su ürünleri üretimi için uygun doğal kaynaklara sahip olduğu halde, ileri derecede işlenmiş su ürünü üretimimiz oldukça sınırlıdır. Balıkçılıkta gelişmiş ülkelerde balığın büyük bir kısmı işlenerek tüketime sunulduğu halde, ülkemizde elde edilen balığın %85'i taze, %15'i işlenmiş olarak (%4'ü dondurularak, %2'si tutsülenerek, %3'ü konserve yapılarak ve %6'sı balık ununa işlenerek) tüketilmektedir (Anonymous 2010).

Uskumru (*Scomber scombrus*) bir deniz balığı olup, vücudu iğ şeklinde, sırt kısmından aşağıya doğru inen yeşilimsi-mavi lekeli bantlara sahip ve karın tarafı açık gümüş renktedir. Sularımızda yaşayan uskumruların büyüklüğü ortalama olarak 20-30 cm, ağırlığı ise 100-125 g civarındadır. Uskumrular yazı Karadeniz'de geçirip, soğukların başlamasıyla birlikte büyük sürüler halinde Kasım - Aralık aylarında Marmara'ya akın etmeye başlarlar. Bu dönemde avlananların uskumrular oldukça yağlıdır.

FAO (2009) verilerine göre, dünyada avlanan uskumru balığının büyük bir kısmı dondurularak muhafaza edilmekte olup, daha düşük miktarlardaki uskumru eti taze olarak tüketilmekte, soğukta depolanmakta ve işlenmektedir (Çizelge 2.1) (Anonymous 2009). Türkiye İstatistik Kurumu'nun yayınlamış olduğu verilere göre, 2011 yılında ülkemizde 3 tonu Karadeniz, 30.5 tonu Marmara, 88.3 tonu Ege ve 25.5 tonu Akdeniz bölgesinden olmak üzere toplam 147.3 ton uskumru balığı avlanmıştır (Anonim 2011).



Şekil 2.1 *Scomber scombrus* (Linnaeus 1758)

Çizelge 2.1 Uskumru balığının (*Scomber scombrus*) dünyadaki durumu (Anonymous 2009)

	Üretim (ton)			İthalat (ton)			İhracat (ton)		
	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009
Taze ve soğukta depolanan uskumru	-	-	-	121846	116851	174309	122437	124306	175035
Dondurulmuş uskumru	942303	1012253	1074370	2147793	1553832	1539815	903246	994221	1071645
İşlenmiş uskumru	174658	185007	178025	160146	148640	145095	120629	127999	115444

Balığın soğukta muhafaza edilerek taze tüketilmesinin yanı sıra dondurularak depolanması yaygın olarak kullanılan bir muhafaza yöntemidir. Dondurularak depolama balıkların fiziksel, kimyasal, duyuşsal ve besleyici özelliklerinde az miktarda değişime neden olur. Dondurulmuş balıklarda oksidatif değişimleri geciktirmede en etkili ve en çok başvurulan yöntemlerden birisi glazelemedir. Glazeleme veya glaze işlemi, bütün veya fileto haldeki balığın ince bir buz tabakası ile kaplanması işlemidir (Freeman 1992). Dondurularak depolanan balıklarda glaze, ürünü oksidasyona karşı korumasının yanı sıra, üründen su kaybını (dehidrasyonu) da azaltır. Donmuş muhafaza, ette meydana gelen birçok istenmeyen değişikliği engellese de ürün kalitesini olumsuz yönde etkileyen bazı oksidatif reaksiyonlar donmuş depolama esnasında da devam eder (Smith 1987).

Kaslı gıdalarda oksidatif reaksiyonlar, lipidlerin ve proteinlerin substrat olarak katıldığı, ortamda bulunan oksidasyonu teşvik eden maddelerin etkisiyle parçalanarak oksidatif ürünlerin oluştuğu ve flavorda, renkte, tekstürde ve besin kompozisyonunda azalmalara

yol açan bir kalite bozukluğudur (Ashgar vd. 1988, Hsieh ve Kinsella 1989, Hultin 1994, Kanner 1994, Fernandez vd. 1997). Kıyma etler oksidatif değişikliklere ve ransit tat oluşumuna parça halindeki etlere kıyasla daha hızlı uğrarlar. Boyut küçültme işlemi et yüzeyinin daha fazla oksijene maruz kalmasına ve daha fazla mikrobiyal kontaminasyona neden olur.

Balık eti yapısında bulunan yüksek orandaki doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle oksidatif değişmelere hassasiyet göstermekte ve bu şekilde kalite kayıplarına uğramaktadır. Özellikle yağlı balıklar oksidasyona duyarlıdırlar. Oksidatif reaksiyonlar balıklarda acılaşmaya (ransit tat oluşumu), besin değerinde kayıplara ve toksik reaksiyon ürünleri oluşturarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Hsieh ve Kinsella 1989, Frankel 1998). Yağlı balıkların yüksek oranda içerdikleri çoklu doymamış yağ asitlerinin yanı sıra, yapılarında bulunan heme pigmentleri ve iz miktarlardaki metal iyonları, özellikle kara etli balıkların oksidasyona duyarlılıklarını artırmaktadır (Hsieh ve Kinsella 1989). Acılaşma özellikle istavrit (*Trachurus trachurus*) gibi kaslarında yüksek oranda hemoglobin bulunan yağlı balıklarda ve yarım yağlı balık türlerinde başlangıçta hızlıdır (Richards ve Hultin 2002).

Su ürünlerine ait yağlar özellikle eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5 n-3) ve dokosaheksanoik asit (DHA, 22:6 n-3) gibi çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içerirler. Yağlı balıkların veya balık yağlarının depolanması ya da işlenmesi esnasında otooksidasyon sonucunda çoklu doymamış yağ asitlerinin bozulması, ransit tatla alakalı uçucu aroma bileşenlerinin oluşmasına neden olur. Bu reaksiyonun hızı ve derecesi başta balık çeşidine bağlı olmakla birlikte, aktivatör ve inhibitör maddelerin varlığına, uygulanan işleme yöntemine ve depolama durumuna bağlı olarak değişmektedir. İstenmeyen ransit flavor balık ve balık yağı içeren gıdaların üretiminde ve pazarlanmasında başlıca sorundur.

Lipid oksidasyonu çeşitli kimyasal ve fiziksel değişikliklere neden olan birçok reaksiyondan oluşan oldukça kompleks bir prosestir. Bu reaksiyonların bilinen izyolları vardır, ancak reaksiyonların aynı anda gerçekleşmesi bu olayın karmaşık bir nitelik

kazanmasına neden olmaktadır. Lipidlerde meydana gelen oksidasyon tepkimeleri oluşum şekli ve koşullarına bağlı olarak kimyasal veya enzimatik olabildiği gibi, otokatalitik, termik oksidasyon, oksipolimerizasyon veya bunların karışımı şeklinde de ortaya çıkabilmektedir.

Otooksidasyon, atmosferik oksijen ile lipidler arasında kendiliğinden meydana gelen reaksiyon olarak bilinir. Bu reaksiyon oksidatif bozulmaya neden olan en önemli prosestir. Lipid oksidasyonu hammaddenin taşınması, işlenmesi, depolanması ve pişirilmesi aşamalarında oluşabilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin bu yolla parçalanması yaygın olarak görülen bir durumdur. Lipidlerin otooksidasyonundaki tepkime hızı; kısmi oksijen basıncına, lipidlerin oksijenle temas ettiği yüzey alanına, yağın yapısında bulunan yağ asitlerinin çeşit ve miktarına, sıcaklık ve nem gibi depolama koşullarına ve lipidce zengin gıdaların içerdikleri prooksidan ve antioksidanların yapılarına, etkinliklerine ve miktarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Lipid oksidasyonunu indükleyen prooksidan maddeleri yüksek oranda ve antioksidan maddeleri düşük oranda içeren gıdaların yapısında bulunan lipidlerin daha hızlı oksidasyona uğradığı bilinmektedir. Bu reaksiyonlarda başlıca substratlar doymamış yağ asitleri ve O_2 'dir. Ortamda ışık ve klorofil gibi duyarlılığı arttırıcı maddeler bulunduğunda oksijen, singlet oksijene dönüşür ve oksidatif bozulma başlar. Kaslarda off-flavor heme proteinler, demir ve lipoksigenaz enzimi tarafından katalizlenen lipid oksidasyonuna bağlı olarak oluşur. Bu üç farklı katalizörün lipid oksidasyonunun mekanizması ve kinetiği üzerine gösterdiği etkiler de farklıdır. Genel olarak demir ve hemoglobin, doymamış yağ asitlerinden bir proton kopararak serbest radikallerin oluşmasına neden olurken, lipoksigenaz enzimi pozisyona özgü olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin dioksijenasyonuna neden olarak lipid oksidasyonunu başlatıcı etki gösterir (Kanner 1994). Hemoglobin, miyoglobin ve ferritin gibi yüksek molekül ağırlığına sahip demir kaynaklarından ayrılan demir amino asitler, nükleotidler ve fosfatlar gibi düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklere taşınarak kelat oluşturur. Oluşan bu kelatların lipid oksidasyonunun katalizlenmesinden sorumlu oldukları düşünülmektedir (Decker vd. 1993). Lipid oksidasyonu, kaslı gıdalarda bulunan lipidlerin, işleme ve depolama sırasında ortamda bulunan prooksidan maddelerin varlığında parçalanarak oksidatif ürünlerin oluştuğu ve ileri düzeyde acı (ransit) tat

oluşumuna yol açan bir kalite bozukluğudur.

Lipid oksidasyonu; başlangıç, gelişme ve sonuç aşamalarından oluşan ve serbest radikal oluşturan bir mekanizmaya sahiptir. Başlangıç aşamasında yağ asidinin (RH) metilen karbonundan bir hidrojen ayrılır. Bu durum çoklu doymamış yağ asitlerinde yaygın olarak görülür. Doymamış yağ asidinin yapısında bulunan çift bağa komşu karbon atomuna bağlı kararsız yapıdaki hidrojen ortamda bulunan oksijen ısı, ışık veya ağır metal iyonlarının etkisiyle alkil ve hidroksil radikallerine parçalanır. Başlangıç aşaması $\text{HO}^\bullet$ veya demir-oksijen kompleksleri (ferril veya perferril radikalleri gibi) tarafından katalizlenir.



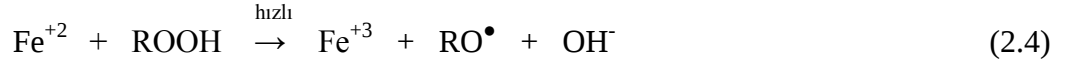
Gelişme aşamasında yağ asidi alkil radikali ($\text{R}^\bullet$), O_2 ile hızla reaksiyona girer ve peroksil radikalini ($\text{ROO}^\bullet$) oluşturur.



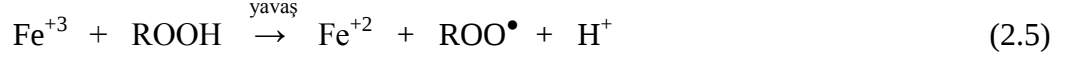
Bu reaksiyonun hız sabiti (k_1) $3.10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir (Buettner 1993). Peroksil radikali ($\text{ROO}^\bullet$), yağ asidi alkil radikali ($\text{R}^\bullet$) ve yağ asidinin (RH) kendisinden çok daha hızlı okside olur ve diğer yağ asitlerini de okside ederek zincir reaksiyonunun başlamasına neden olur. Bu aşamada hidroperoksitler (ROOH) oluşmaktadır.



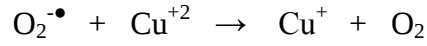
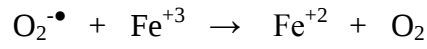
Bu aşamanın hız sabiti (k_2) $1.10^1 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir (Buettner 1993). Hidroperoksitler uçucu olmayan, kokusuz ve stabil olmayan bileşiklerdir. Hidroperoksitler (ROOH), Fe^{+2} ve Cu^+ ile reaksiyona girerek peroksil radikali ($\text{ROO}^\bullet$) ve alkoksil radikallerinin ($\text{RO}^\bullet$) oluşmasına neden olurlar (Morrissey vd. 1994). Fe^{+2} , hidroperoksitlerin (ROOH) parçalanmasına neden olur.



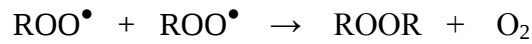
Fe^{+2} aşağıda gösterilen reaksiyonla yeniden oluşur.



$\text{O}_2^\bullet$, Fe^{+3} , ü Fe^{+2} , ye ve Cu^{+2} , yi Cu^{+} , ya indirger.



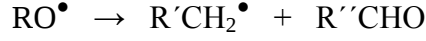
Sonuç aşamasında ise peroksil ve alkil radikalleri reaksiyona girerek radikal olmayan ürünlere dönüşürler.



Askorbik asit gibi diğer güçlü redüktanlar da Fe^{+3} ü Fe^{+2} ,ye indirgerler (Buettner ve Jurkiewicz 1996). Hem $\text{ROO}^\bullet$ hem de $\text{RO}^\bullet$ daha ileri reaksiyonların başlamasında etkilidirler.



$\text{RO}^\bullet$, β - parçalanmasına uğrar. Bu parçalanma sonrasında alkil radikalleri ($\text{R}'\text{CH}_2^\bullet$) ve çeşitli aldehytler ($\text{R}''\text{CHO}$) oluşur (Morrissey vd. 1994).



$R'CH_2^{\bullet}$, hekzanal, malondialdehit ve 4-hidroksilnonenali de içeren aldehitlerin yanı sıra etan ve pentan oluşumu ile sonuçlanan zincir reaksiyonlarını başlatabilir. Ayrıca $R'CH_2^{\bullet}$, proteinlerin ϵ -amino grupları ile reaksiyona girerek Maillard tipi kompleksleri de oluşturabilirler.

Lipid oksidasyonunun oranı ve hızı; etin kompozisyonuna, yağ asidi içeriğine, işleme koşullarına ve et ürünlerinin hazırlanması aşamasında ilave edilen katkı maddelerinin özelliklerine bağlıdır (Yu vd. 2002).

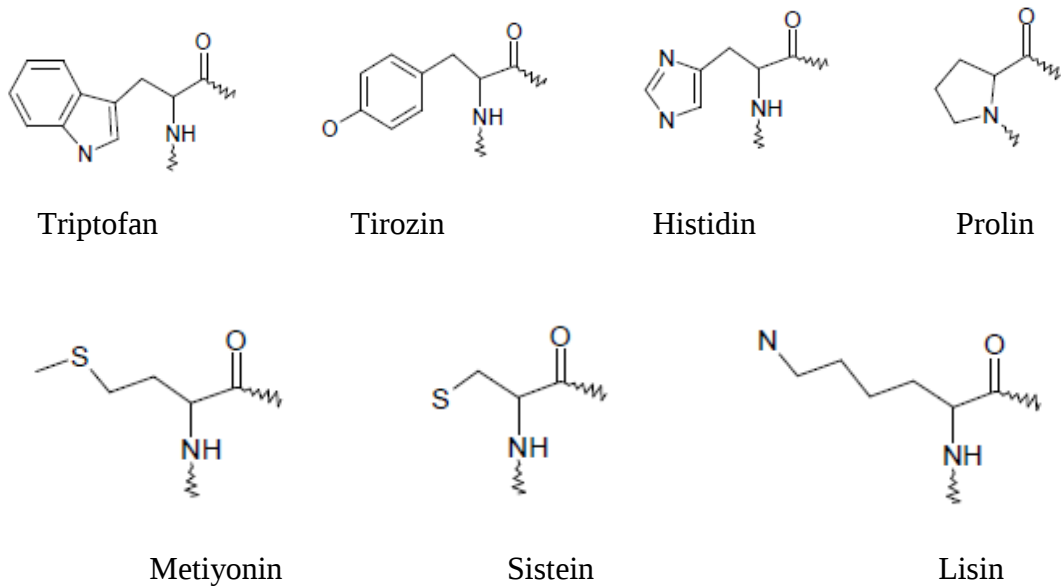
Otooksidasyon reaksiyonları, lipidlerde çok az miktarda değişim gösteren bir indüksiyon periyodu gösterir. Bu periyottan sonra lipidlerde çok hızlı bir değişim gözlenir. İndüksiyon periyodu sonrasında off-flavor (kötü koku) farkedilir hale gelir. Oksidasyon sonucunda belirlenen off-flavor bileşenlerinin yapısı, substratın yağ asidi kompozisyonuna ve oksidatif reaksiyonların ilerleme durumuna bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca oksidasyon koşulları da oluşan uçucu bileşiklerin yapısını, konsantrasyonunu ve yağın duyuşal özelliklerini etkilemektedir. Oksidatif off-flavora örnek olarak soya yağında gözlenen fasulyemsi flavor, balık yağında gelişen balığımsı flavor ve süt yağlarında oluşan kremamsı ve metalik flavor verilebilmektedir. Aldehitler, lipid oksidasyonu sırasında oluşan off-flavor oluşumuna neden olan bileşiklerdir. Ransit tat gelişiminin yanı sıra, lipidlerin oksidatif olarak bozulması ve özellikle karotenoidler gibi pigmentler ile lipid oksidasyonu sırasında oluşan serbest radikaller gibi ara ürünlerin reaksiyonu sonucunda gıdaların renklerinde açılmalar meydana gelebilmektedir. Antioksidan olarak etki göstermesi sonucunda gıdadaki miktarı azalan E vitamini gibi bazı vitaminlerde meydana gelen kayıplar, gıdanın besleyici kalitesinde azalmaya neden olur.

Yapılan çalışmalarda, lipid oksidasyonunun yanı sıra protein oksidasyonunun da kash gıdalardaki kalite kaybında etkili olduğu ortaya konmuştur (Decker vd. 1993, Srinivasan ve Hultin 1995, Berlett ve Stadtman 1997). Okside olmuş lipidlerin

parçalanma ürünlerinin protein, karbonhidrat ve vitamin gibi gıda bileşenleriyle reaksiyona girmesi, kalitenin azalmasına neden olur. Okside olmuş lipidlerle proteinler arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucu polipeptid zinciri bozulmakta ve bu durum protein çözünürlüğünün azalmasına neden olmaktadır (Smith 1987). Güçlü bir interaksiyon sonucunda oksidasyon reaksiyonları lipidlerden proteinlere yönelir. Protein oksidasyonu, proteinlerin üç boyutlu yapısını etkileyerek (hidrofobik grupları etkileyerek, ikincil yapıda ve disülfid gruplarında değişikliğe neden olur), enzim aktivitesinin azalmasına ve esansiyel amino asitlerde kayıplara neden olarak gıdanın besin değerinin azalmasına yol açar (Karel vd. 1975, Gerrard ve Brown 2002). Protein oksidasyonu serbest radikal oluşumuna, proteinlerde parçalanmaya, çözünürlükte azalmaya, polimerizasyona ve amino asit ürünleri oluşumuna neden olmaktadır. Lipid hidrolizi ve oksidasyonunun proteinlerin denaturasyonu üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Lipid oksidasyonu ile oluşan formaldehitin proteinler arasında çapraz bağlantı görevi görmesi sonucunda kaslı gıdalarda tekstürün sertleştiği de tespit edilmiştir (Kelleher vd. 1981). Ayrıca formaldehitin kendisi, kas proteinleri ile reaksiyona girerek proteinlerin denaturasyonuna neden olmaktadır (Crawford vd. 1979). Okside olmuş lipidler, et proteinlerinin yapısındaki amino asitler ile proteinlerdeki spesifik ve hassas fonksiyonel gruplara bağlanarak da reaksiyon verebilirler. Bu gruplar sistenin -SH, lisinin NH₂ grubu iken aspartik asit, metiyonin, tirozin ve arjinin gibi aminoasitlerin N-terminal gruplarıdır. Bu reaksiyonlar sonucu proteinlerin hidrofobik özelliklerinde artış gözlenir. Bu şekilde agregasyona uğrayan proteinlerin çözünürlükleri de azalır (Kussi vd. 1975).

Protein ve amino asitlerin oksidasyonu pH, sıcaklık, su aktivitesi, katalist veya inhibitör madde varlığı gibi birçok çevresel faktörden etkilenmektedir. Her bir proteinin üç boyutlu yapısı, proteinler ile lipidler arasındaki etkileşimin nasıl gerçekleşeceğini belirlemektedir. Örneğin kazein düzensiz halkalı yapısı ve esnek olması nedeniyle okside lipidler varlığında globüler yapıya dönüşerek daha kompakt peynir altı suyu proteinlerine göre daha kolay çapraz bağlanma eğilimi kazanır (Sharma vd. 2002). Heterosiklik amino asitlerin oksidasyona karşı daha duyarlı oldukları bilinmektedir. Amino asitlerin amino ve fenolik grupları oksidasyona daha duyarlıdır. Triptofan, histidin ve prolinin yapılarına bağlı olarak; lisin, metiyonin, sistein ve tirozin ise

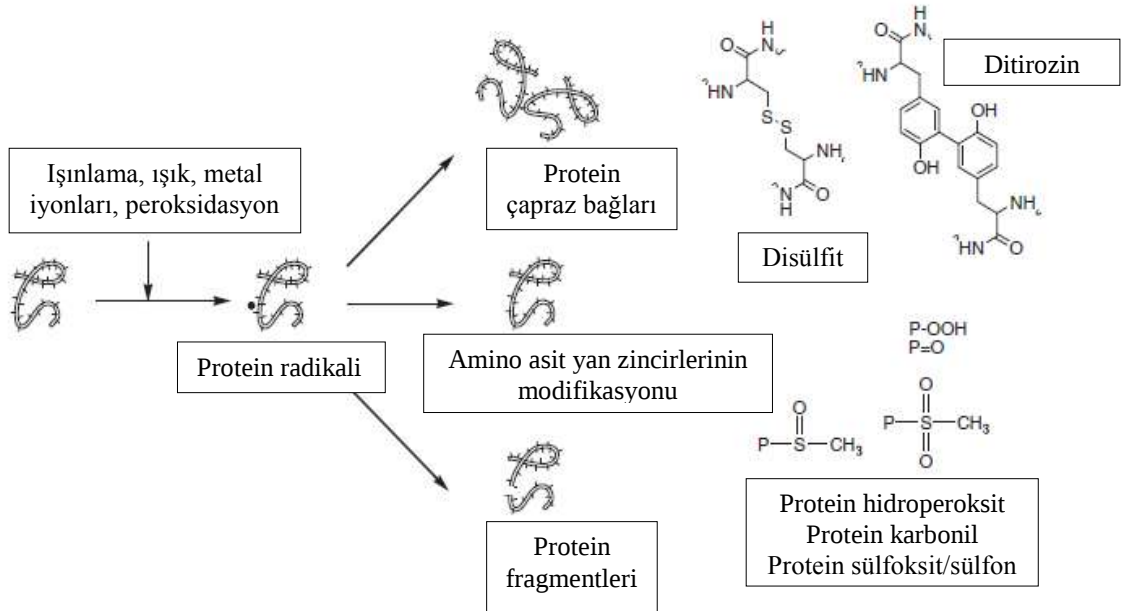
yapılarındaki –OH, S- ve N- içeren gruplardan hidrojenin ayrılmasıyla oksidasyon reaksiyonlarına daha yatkın hale gelirler (Kikugawa vd. 1991, Stadtman ve Berlett 1991, Alaiz ve Girón 1994, Doorn ve Petersen 2002), (Şekil 2.1). Metiyonin okside olduğunda metiyonin sülfona, triptofan kynurenine, tirozin ditirozine dönüşür (Kikugawa vd. 1991, Chowdhury vd. 1995). Temel peptid bağlarının oksidatif parçalanması ve lizin, prolin, arjinin, treonin içeren yan zincirlerin oksidasyonu sonucunda karbonil türevlerinde artış gözlenir (Stadtman ve Berlett 1997).



Şekil 2.2 Oksidasyona eğilimli amino asit kalıntılarının yapıları

Protein molekülüne reaktif oksijen türlerinin etkisi ile hidrojen atomunun girişi, karbon merkezli bir protein radikalının ($P^\bullet$) oluşmasına neden olur. Oluşan bu protein radikali ($P^\bullet$) oksijen varlığında peroksil radikaline ($POO^\bullet$) dönüşür. Peroksil radikaline ($POO^\bullet$) bir hidrojen atomunun girmesi sonucunda alkil peroksitler ($POOH$) oluşur. $H_2O^\bullet$ ile ilerleyen reaksiyonlar alkoksil radikalının ($PO^\bullet$) ve bunun hidrojenli türevlerinin (POH) oluşmasına neden olur. Diğer birçok makromolekülde olduğu gibi kas proteinleri de özellikle miyosin ve troponin-T varlığında oksidatif reaksiyonlara karşı yüksek hassasiyet gösterirler. Amino asitler arasında sistein, tirozin, fenilalanin, triptofan, histidin, prolin, arjinin, lizin ve metiyoninin reaktif oksijen türlerine karşı çok daha hassas oldukları bilinmektedir. Oluşan protein oksidasyon ürünlerinin yapısı, reaksiyona

giren amino asidin türüne ve oksidasyon prosesinin başlama şekline bağlı olarak değişmektedir. Arjinin, prolin ve lizin gibi bazı amino asitlerin yan zincirleri metallerin katalize ettiği reaksiyonlar ile karbonil kalıntılarına okside olurlarken, sistein ya da metiyonin gibi bazı amino asitler çapraz bağlanarak ya da sülfür içeren türevler oluşturarak okside olurlar. Genel olarak, yüksek reaktiviteye sahip radikaller protein oksidasyonunun başlatılmasında daha az seçicidirler. Ancak, oluşan protein oksidasyon ürününün miktarı ve yapısı kaslı gıdalarda doğal olarak bulunan prooksidan türlerine bağlı olarak değişmektedir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Protein oksidasyonunun mekanizması (Lund vd. 2011)

Birincil (hidroperoksitler) ve ikincil (aldehitler ve ketonlar) lipid oksidasyonu ürünlerinin proteinler ile reaksiyona girerek protein oksidasyonuna neden oldukları bilinmektedir (Reyftmann vd. 1990, Kikugawa vd. 1991). Protein oksidasyonu bir serbest radikal reaksiyonu olup, bu reaksiyonda lipid oksidasyonu sırasında oluşan peroksil radikallerinin ($ROO^\bullet$), protein moleküllerinden (PH) hidrojen atomlarını koparması ve sonuç olarak protein radikallerinin oluşması ($P^\bullet$) ile başlar. Oluşan protein radikalleri etkileşerek P-P'ye dönüşür.



Protein oksidasyonu, lipid hidroperoksitleri veya ikincil lipid oksidasyon ürünleri ile azot veya sülfür içeren proteinlerin reaktif amino asitleri arasında meydana gelen hem hidrofobik hem de elektrostatik etkileşimler sonucunda oluşan non-kovalent komplekslerin oluşumu ile de meydana gelebilir (Kikugawa vd. 1991).



Kaslı gıdalar miyoglobin ve hemoglobin gibi prooksidatif heme proteinlerini doğal olarak içerirler. Bu heme proteinlerinin protein oksidasyonun başlamasında etkili oldukları bilinmektedir. Miyoglobinin prooksidatif aktivitesi, etin renk döngüsüyle bağlantılıdır. Etteki indirgeyici enzimler kesim sonucunda tükendiğinde, ette metmiyoglobin (MbFe(III)) düzeyi artar, H_2O_2 ile reaksiyon sonucunda perferrilmiyoglobin (MbFe(IV)=O) ve ferrilmiyoglobin (MbFe(IV)=O) gibi çok değerlikli miyoglobin türevleri oluşur (peroksidasyon siklusu). Perferrilmiyoglobinden diğer proteinlere radikal transferinin, uzun ömürlü protein radikallerinin oluşmasına neden olduğu belirlenmiştir. Protein oksidasyonu sadece perferrilmiyoglobin tarafından başlatılmaz, bazı durumlarda ferrilmiyoglobinin de etkili olduğu gösterilmiştir. Miyosin tarafından ferrilmiyoglobin indirgenmesiyle protein oksidasyonunun başladığı belirlenmiştir. Ette çok değerlikli miyoglobin türevlerinin varlığı tam olarak bilinmemekle birlikte, ferrilmiyoglobinin (MbFe(IV)=O) ette bulunabildiği ve uygun koşullarda lipid oksidasyonunu başlatıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiş, ancak protein oksidasyonunu başlatıcı etkisinin olduğu henüz gösterilmemiştir. Heme olmayan demir ve diğer geçiş metalleri kas dokusunda H_2O_2 varlığında hem protein hem de lipid oksidasyonunu katalize etmektedir. Demir ve H_2O_2 arasındaki reaksiyonun mekanizması (Fenton reaksiyonu) kesin olarak bilinmemekle birlikte, genel olarak Fenton reaksiyonunun yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikallerinin ($\text{OH}^\cdot$) oluşmasında etkili olduğu belirlenmiştir. Kaslı gıdalarda ve model sistemlerde kas proteinlerinde oksidasyonu başlatıcı faktörün Fe^{+3} 'ün varlığı olduğu bilinmektedir.

Geçiş metalleri ise genellikle bazı amino asitlerden karbonil türevlerinin oluşmasında ve nadiren kas proteinlerinin çapraz bağlanmasında etkilidirler.

Sistinin tiyol grubu (RSH), hücrede oluşan ve post mortem fazda ette biriken hidrojen peroksit varlığında oksidasyona karşı oldukça duyarlıdır. Ancak, H₂O₂ ve sistin içeren peptidler ya da proteinler arasında meydana gelen reaksiyonun hızı oldukça yavaştır. Proteolitik bir et enzimi olan ve sistine bağlı aktif kısımlar içeren μ -kalpeinin H₂O₂ ile oksidasyonunun disülfid bağı oluşumuna bağlı olarak enzimatik aktiviteyi azalttığı bilinmektedir. Tiyol gruplarının oksidasyonunun neden olduğu bir dizi reaksiyon, sülfenik asit (RSOH), sülfenik asit (RSOOH) ve disülfid çapraz bağlanması (RSSR) gibi çok çeşitli oksidasyon ürünlerinin oluşmasına da neden olmaktadır.



Biyolojik sistemlerde protein oksidasyonunun, lipid oksidasyonundan daha hızlı gerçekleştiği bilinmektedir. Proteinler birçok radikalın de bulunduğu sulu fazda yer aldıkları için kolaylıkla okside olurlar (Srinivasan ve Hultin 1995). Ferro demir gibi katalistler ve proteinler arasındaki bağlar, proteinlerin yan zincirlerine yakın radikallerin oluşmasına neden olurlar (Soyer ve Hultin 2000). Bu gibi değişimler özellikle pişmiş balık kaslarının tekstürel ve yapısal özelliklerden sorumlu olan miyofibrilar proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin değişmesine neden olurlar. Lipid oksidasyonu yan ürünlerinin proteinlerin yapısında meydana gelen değişiklikleri tetiklediği bilinmektedir. Bu durumun sonucu olarak, balık kaslarının tekstürü ve su tutma kapasitesi gibi çeşitli fonksiyonel özellikleri değişmektedir (Davies 2005). Okside olan proteinler okside olmayanlara kıyasla dondurma, çözündürme ya da düşük pH değerine sahip ortamlara maruz kalma gibi uygulamalara bağlı olarak çok daha hızlı bir şekilde çözünürlüklerini kaybederler.

Depolama süresince balık ve diğer kaslı gıdalarda bulunan tiyol gruplarındaki azalmanın düzeyi oldukça değişkendir. Yapılan bir araştırmada, yüksek oksijen atmosferinde yapılan 14 gün süreli depolama sonrasında domuz etinde bulunan tiyol gruplarında %6 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir (Lund vd. 2007). Lund vd. (2008) tarafından yapılan bir başka araştırmada ise, yüksek oksijen atmosferinde depolanan kıyma domuz etinde tiyol gruplarının 7 günlük depolama sonunda %37 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bol su ile yıkanan istavrit balığında tiyol grubu miktarının %50 oranında azaldığı, farklı düzeylerde yapılan yıkamalar sonucunda balıklarda depolama süresince tiyol grubu miktarının %0-40 düzeyinde azaldığı gösterilmiştir (Eymard vd. 2009). Yapılan çalışmalar tiyol gruplarındaki azalma düzeyinin kasın çeşidine, uygulanan deneysel koşullara ve türe bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Soğukta ve dondurularak depolanan et proteinlerinde meydana gelen değişmeler besin değerinin azalmasına, donmuş etin çözündürülmesi esnasında çözünür proteinlerin bir kısmının çözme sonucu oluşan sızıntı suyuna geçmesine ve ette bulunan proteinlerde ise denatürasyona neden olmaktadır. Depolama sırasında meydana gelen denatürasyona bağlı olarak et proteinlerin çözünürlükleri de azalmaktadır (Sebranek 1996).

Soğukta ve dondurularak depolama sırasında et proteinlerinin denatüre olma nedenleri:

- a) Dondurma sırasında oluşan buz kristallerinin hücre membranına zarar vermesi,
- b) Protein moleküllerinin dehidrasyonu,
- c) Donmamış su fazındaki çözünür madde konsantrasyonunun artması,
- d) pH değerindeki değişmeler,
- e) Enzimatik aktivitedeki değişmeler,
- f) Proteinlerin serbest yağ asitleri ve diğer lipid grupları ile reaksiyonu,
- g) Proteinlerin okside olmuş lipidlerle reaksiyonu gibi faktörlerdir (Pandey vd. 1990, Alasnier vd. 2000).

Dondurularak depolama süresince meydana gelen enzimatik ve enzimatik olmayan ransidite gelişiminin su ürünlerinin raf ömrü üzerine etkili olduğu gösterilmiştir

(Aubourg vd. 2004). Bu durum su ürünlerinin kaslarında yüksek oranda bulunan çoklu doymamış yağ asilerine ve prooksidan madde miktarına bağlı olarak değişmektedir.

Lipidler, yağlı ve proteince zengin gıdalar ısıtılma işlem ve uzun süreli depolama sırasında meydana gelen birçok reaksiyona bağlı olarak bozulurlar. Bozulmaya neden olan temel etmen, besleyici değerin ve duysal kalitenin azalmasına neden olan oksidasyon reaksiyonları ve oksidasyon ürünlerinin parçalanma ürünleridir. Oksidasyon prosesinin yavaşlatılması, gıda üreticileri ve üretimden tüketime kadar gıda zincirinde çalışan tüm bireyler için oldukça önemlidir. Oksidasyon, oksijenle temasın engellenmesi, proses esnasında sıcaklıkların düşük tutulması, oksidasyonu katalize eden enzimlerin inaktif hale getirilmesi, oksijen basıncının azaltılması ve uygun ambalaj materyallerinin kullanılması gibi çeşitli yollarla azaltılabilmektedir (Pokorny 2001). Oksidasyon reaksiyonları, yağlar ve/veya yağlı gıdaların işleme ve depolanmaları sırasında oksijenle temasları olabildiğince kesilerek, hatta mümkünse inert atmosfer veya vakum ortamında tutularak önlenabilir. Bunun dışında, yağ veya gıda maddesine glikozoksidaz enzimi ilave edilerek ortamda bulunan aktif oksijenin bu enzim ile reaksiyona girmesi ve bu yolla oksidasyonun engellenmesi sağlanabilir. Yağ ve yağlı gıdaların düşük sıcaklıkta, ışıktan korunarak depolanması da oksidasyon üzerine etkilidir. İnce bir buz tabakası ile glazeleme ya da ortamda bulunan prooksidan maddeleri uzaklaştırmak amacıyla yapılan yıkama işlemi gibi teknolojik yaklaşımların, yağlı balıklarda gözlenen oksidasyon reaksiyonlarını azalttığı da bilinmektedir (Richards vd. 1998). Oksidatif tepkimeleri önlemek için kullanılan diğer bir yol ise antioksidan maddelerin kullanılması olup, diğer yöntemlere kıyasla en etkin olan yöntemdir. Lipid oksidasyonunun lag fazını mümkün olduğunca uzatmak amacıyla antioksidanların kullanılmasına yönelik büyük bir ilgi söz konusudur. Ortamda antioksidan maddelerin bulunması halinde oksidatif reaksiyonlar, oksidatif tepkimelerin başlangıç aşamasında oluşan oksi- ve peroksi radikalleri, zincir tepkimeleri başlamadan ve tepkimeler otokatalitik bir karakter kazanmadan önce engellenir. Metal kelatörleri ve indirgen bileşikler bu amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır (Richards vd. 1998).

Uluslararası gıda kodeksi komisyonu (CAC)'nın tanımında antioksidanlar, “gıdada yağın acılaşması ve renk değişimleri gibi bir oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan

bozulmaları önleyerek raf ömrünü uzatan maddeler” olarak ifade edilmektedir. Gıda maddelerinde lipid oksidasyonunun engellenmesi veya azaltılmasında antioksidanların kullanımı, toksik oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geçiktirmek, besin değerini korumak ve gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla uygulanan en etkili yoldur (Boyd vd. 1993, Frankel 1998). Antioksidanlar; otooksidasyonu erteleyenler, durduranlar ve önleyenler olarak sınıflandırılabilirler. Ancak, antioksidanlar oksidasyon prosesini tersine çevirmezler veya hidrolitik ransidite gelişimini önleyemezler.

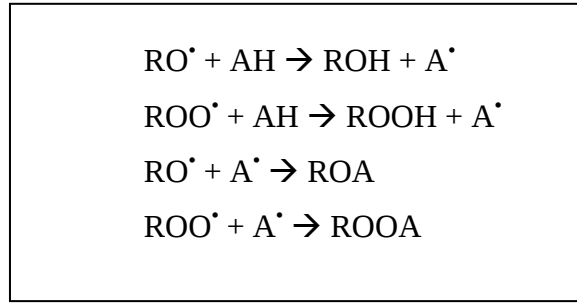
Antioksidanlar kimyasal yapıları ve etki mekanizmaları çok farklı olan maddelerin bir sınıfını temsil ederler (Çizelge 2.2). Bu maddelerin en önemli etki mekanizması, lipid serbest radikalleri ile reaksiyonları sonucunda inaktif ürünler oluşturmalarıdır.

Çizelge 2.2 Antioksidanların etki mekanizmaları (Pokorny 2001)

Antioksidan sınıfı	Antioksidan etki mekanizması	Antioksidan örneği
Antioksidanlar	Lipid serbest radikallerini inaktive ederler	Fenolik bileşikler
Hidroperoksit stabilizörleri	Hidroperoksitlerin serbest radikallere dekompozisyonunu engellerler	Fenolik bileşikler
Sinerjistler	Antioksidanların aktivitesini arttıırırlar	Sitrik asit, askorbik asit
Metal kelatörleri	Ağır metalleri bağlayarak inaktif bileşiklere dönüştürürler	Fosforik asit, Maillard reaksiyonu ürünleri, sitrik asit
Singlet oksijen yiyiciler	Singlet oksijeni, triplet oksijene dönüştürürler	Karotenler
Hidroperoksit oluşumunu engelleyen maddeler	Radikal olmayan yolla hidroperoksit oluşumunu azaltırlar	Proteinler, amino asitler

Antioksidanlar genellikle lipid hidroperoksitlerinin dekompozisyonuyla oluşan peroksil veya alkoksil serbest radikalleri ile reaksiyona girerler. Diğer inhibitörler ise lipid hidroperoksitlerini stabilize ederek, serbest radikal oluşumunu engellerler. Hidroperoksitlerin dekompozisyonu ağır metaller tarafından katalize edilir. Bu nedenle oksidasyonun engellenmesi amacıyla metal kelatlama ajanlarının kullanılması da yaygın bir uygulamadır. Sinerjist olarak adlandırılan bazı bileşikler metaller üzerine antioksidan etki göstermezler, ancak kullanılan uygun antioksidanların aktivitesini arttıırırlar. Diğer bir grup madde ise lipid hidroperoksitlerini, serbest radikal miktarını

azaltarak, radikal olmayan bir yolla dekompoze eder. Singlet oksijen, lipidleri doğada yaygın olarak bulunan triplet oksijene göre çok daha hızlı bir şekilde okside eder. Singlet oksijeni triplet oksijene dönüştüren çeşitli bileşikler, lipid oksidasyonun engellenmesi üzerine önemli etkilere sahiptirler.



Şekil 2.4 Antioksidanların etki mekanizması (Belitz ve Grosch 1992)

Yapılarında fenolik OH grubu içeren birçok antioksidan şekil 2.4’de verilen tepkimelere uygun olarak işlev görmektedirler. Şekil 2.4’de görüldüğü gibi antioksidan maddeler (AH), hidrojen verdiklerinde oluşan kendi radikalleri ortamdaki diğer alkoksil ve peroksil radikallerini bağlayarak, otooksidasyondaki zincir tepkimelerini kırarlar ve bu şekilde oksidasyon engellenir. Antioksidanlar yalnızca aktif radikalleri yakalamakla kalmaz, aynı zamanda ortamda hidroksit ve hidroperoksitlerin oluşumunu da baskı altına alırlar. Antioksidanlar, lipid radikali (R[•]) ile reaksiyona girerek lipid oksidasyonunun başlamasını engelleyebildikleri gibi, peroksil (ROO[•]) veya alkoksil (RO[•]) radikalleri ile de reaksiyona girerek oksidasyonun gelişimini önlerler. Diğer yandan, ikincil antioksidanlar ise lipid oksidasyonunu geciktirerek etkilerini gösterirler. Örneğin, antioksidanlar metallerle kelat oluşturarak, ferro demirin (Fe⁺²) katıldığı Fenton tipi reaksiyonların oluşumu önlenmekte ve böylece bu reaksiyon sonucunda meydana gelen reaktif hidroksil radikalının (•OH) oluşumu da engellemektedirler.



Antioksidan aktivite; lipid kompozisyonu, antioksidan konsantrasyonu, sıcaklık, oksijen basıncı ve diğer antioksidanlar ile protein ve su gibi gıdaların yapısında yaygın olarak

bulunan gıda bileşenlerinin miktarı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, askorbik asit ile yapılan pekçok çalışma askorbik asidin kullanıldığı düzeye bağlı olarak prooksidan veya antioksidan özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Yüksek oranda kullanılan askorbik asit (%5 ve üzeri) antioksidan etkiye sahip iken, düşük oranda kullanımı (%0.02-0.03) prooksidan etki göstermektedir (Mielche ve Bertelsen 1993, Schaefer vd. 1995, Decker ve Xu 1998, Mielnik vd. 2003). Depolama sıcaklığının antioksidanın etkinliği üzerine etkili olduğu, soğukta depolanan örneklerde antioksidanların dondurulmuş olarak depolanana kıyasla daha etkili oldukları Medina vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada ortaya konmuştur. Düşük sıcaklık derecelerinde antioksidanların difüzyon oranı oldukça düşüktür ve kasa kütle transferi de yavaştır (Romesh ve Dudo 2001). Dondurularak depolamada donmuş fraksiyonlar oldukça viskoz özelliktedir. Bu nedenle de antioksidanların difüze olmaları da zordur. Antioksidanların difüze olması ve oksidasyona duyarlı membranlar gibi lipid oksidasyonuna neden olan önemli maddelerin bulunduğu kısımlara etki etmeleri oldukça zordur (Frankel 1998, Sigfusson ve Hultin 2002). Ayrıca, proteinlerdeki değişmelerin antioksidan aktiviteyi etkilediği bilinmektedir. Protein agregasyonunun (kümeleşme) hemoglobin ile hücre membranlarının interaksiyonuna bağlı olarak oluştuğu ileri sürülmektedir (Pazos vd. 2005b). Donmuş depolama sırasında oluşan protein agregasyonuna ve denaturasyonuna bağlı olarak membranlara yakın kısımlarda değişimler gözlenir. Bu durum fosfolipid membranları gibi oksidasyona hassas kısımlar ile antioksidanların interaksiyonunu zorlaştırır. Böylece antioksidanların etkinlikleri azalır.

Kaslı gıdalarda oksidasyonu engellemek amacıyla yapılarında doğal olarak endojen antioksidan sistemleri bulunmaktadır. Taze etlerde bilinen endojen sistemler tokoferoller, karnosin, lipoik asit ve çeşitli enzimatik sistemlerdir (Decker ve Mei 1996). Ayrıca pişirme sırasında oluşan çok sayıda Maillard ürününün de antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Bailey 1988). Ancak bu sistemlerin hiç birinin hem tek başına hem de birlikte, yaygın olarak kullanılan işleme koşullarında et ürünlerinde meydana gelen oksidatif reaksiyonlarını engellemek için yeterli olmadıkları tespit edilmiştir (Decker ve Mei 1996). Bu nedenle oksidatif reaksiyonları engellemek amacıyla eksojen antioksidan kullanımı gündeme gelmiştir. Gıda sistemlerinde

antioksidan aktivitenin anlamı; lipid peroksidasyonunun zincir kırma reaksiyonu ile engellenmesidir.

Antioksidanlar; ette ve heme-demir, geçiş metalleri, çoklu doymamış yağ asitleri ile prooksidan maddeleri yüksek oranda içeren diğer gıda maddelerinde protein oksidasyonunu engellemek amacıyla da kullanılmaktadırlar. Yağlarda ve yağlı gıdalarda kullanılacak antioksidanların ilave edildiği gıdanın renk, tat ve koku gibi özelliklerini olumsuz yönde etkilememesi, üründe homojen olarak dağılması önemlidir. Antioksidan maddelerin toksik olmaması, düşük konsantrasyonlarda bile etkili olmaları, yeterli miktarda, kolay bulunabilmeleri, uygulanan işlemlere karşı dayanıklı olmaları ve fiyatlarının uygun olması önemlidir.

İlk kez I. Dünya Savaşı sırasında gıdaların muhafazasında kullanılan antioksidanlar doğal kaynaklardan elde edilmiştir. Ancak, daha sonraki zamanlarda doğal antioksidanlar yerlerini daha ucuz, daha saf ve antioksidan özellikleri daha homojen olan sentetik antioksidanlara bırakmışlardır. Sentetik antioksidanlar gıdalardaki lipid oksidasyonunu geciktirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Ahmad 1996). Sentetik fenolik antioksidanlar; bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) et ürünlerinde ransit tat gelişimini nemek için yaygın olarak kullanılan katkı maddeleridir (Barlow 1990). Balık ve balık ürünlerinin işlenmesi ve depolanması sırasında oksidasyon kaynaklı kalite kayıplarını azaltmak veya geciktirmek amacıyla sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Deng vd. 1977, Boyd vd. 1993, Soyer ve şahin 1999). Ancak kullanılan sentetik antioksidanların çeşitli sağlık sorunlarına neden olduğu belirlenmiştir (Shahidi vd. 1992). Bu sentetik kimyasalların sağlık üzerine olumsuz etkilerinin öğrenilmesi, et ürünlerinde doğal antioksidan kaynaklarının kullanılmasına yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur. Ransiditeyi kontrol etmek ve bu olayın neden olacağı istenmeyen sonuçları azaltmak için antioksidan kullanımında doğal kaynaklar giderek önem kazanmaya başlamıştır (Löliger 1983). Yapılan birçok araştırmada et ve et ürünlerinde lipid ve pigment oksidasyonunu önlemek amacıyla endojen ve eksojen antioksidanlar (E vitamini, C vitamini gibi) kullanılmıştır. C vitamini antioksidan olarak çok çeşitli ürünlerde denenmiş ve alınan sonuçlar doğrultusunda da gıda endüstrisinde yaygın olarak

kullanılmıştır (Larsen 1997). Son zamanlarda özellikle bitkisel kaynaklı doğal katkı maddelerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir.

Sentetik katkı maddeleri ile ilgili olarak yapılan araştırmalarda bu maddelerin sağlık üzerine olumsuz etkilerinin olduğunun belirlenmesi tüketicilerin, sentetik gıda katkı maddelerinin kullanımının engellenmesine yönelik tepkilerinin artmasına neden olmuştur. Son zamanlarda gıdalarda doğal antioksidanların kullanılması konusuna artan bir ilgi söz konusudur (Lölinger 1983).

Doğal antioksidan kullanımının birçok avantajı vardır. Bunlar;

- Tüketiciler tarafından kolaylıkla kabul edilirler.
- Güvenli olduğuna inanılır.
- “Kimyasal” değildirler.
- Kullanılan gıda bileşeni GRAS (Generally Recognized As Safe) olarak tanımlandıysa güvenlik testlerine gereksinim duyulmaz.

Doğal antioksidan kullanımının birçok dezavantajı vardır. Bunlar;

- Eğer saf halde iseler pahalıdır.
- Ürünün rengini olumsuz yönde etkileyebilirler.
- Ürünün tadını olumsuz yönde etkileyebilirler (Pokorny 1991).

Bitkiler doğal antioksidan içeren en önemli kaynaklar arasında yer almaktadır. Yağlı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, yapraklar, kökler, baharat ve şifalı otlar gibi çeşitli bitkisel kaynaklardan birçok doğal antioksidan elde edilmektedir. Meyve çekirdekleri, meyvelerin işlenmesinden sonra elde edilen bir yan üründür. Birçok çekirdek yağ içeriği bakımından zengindir. Çekirdek unları, çekirdeklerin yağa işlenmesinden sonra elde edilir. Meyve çekirdeklerinin ve yağı alınmış çekirdek unlarının antioksidan ve antimikrobiyal kapasitelerine bağlı olarak doğal gıda katkı maddelerinin geliştirilmesi, gıdaların besleyicilik değerlerinin, gıda güvenliğinin ve kalitesinin artırılması açılarından oldukça önemlidir. Bu durum ayrıca, meyve işleme endüstrisi açısından karlılığın artırılmasına da katkı sağlar.

Asırlardır gıdaların duyuşal özelliklerini geliştirmek ve raf ömürlerini artırmak için geleneksel olarak kullanılan baharat ve şıfalı otların ekstraktlarına olan ilgi son yıllarda artmıştır. Baharatların ve şıfalı otların antioksidan özellikleri fenolik içerikleriyle ilişkilidir. Dolayısıyla antioksidan etkileri de sentetik fenolik antioksidanlara benzemektedir (Juntachote vd. 2006).

Gıda güvenliği açısından gıda kaynaklı patojenler önemli bir sorundur. Et ve et ürünlerinin tüketimi sonucunda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelerine neden olan patojen mikroorganizmaların en önemlileri *Salmonella* türleri, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*'dur. Özellikle et konservelerinde *Clostridium botulinum*  nemli bir sorundur. Deniz  r nlerinde *Clostridium botulinum* tip E, proteolitik olmayan *Clostridium botulinum* tip B ve tip F ile *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholera*, *Salmonella*, *Shigella* rastlanabilen patojenlerdir.

Mikrobiyal gelişmeyi kontrol etmek amacıyla kullanılan maddeler genel olarak antimikrobiyal maddeler olarak adlandırılırlar. Antimikrobiyal maddelerin etkisi kullanılan antimikrobiyal maddenin yapısına, konsantrasyonuna, ortamda bulunan mikroorganizmaların cinsine, fizyolojik durumuna, sayısına, gıdanın kimyasal yapısına, ortam pH'sına ve sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Mikroorganizmalar antimikrobiyal maddelere karşı çok değişik şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem antimikrobiyal maddelerin yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişebilir. Bu bakımdan koruyucu amaçla kullanılacak antimikrobiyal maddenin söz konusu mikroorganizmaya karşı etkisinin belirlenmesi önemlidir. Kullanılacak antimikrobiyal madde seçilirken düşük dozda kullanımının söz konusu mikroorganizma üzerine etkili olmasına, toksik özellikte olmamasına, etki spektrumunun geniş olmasına, ucuz olmasına ve kolay bulunmasına dikkat edilmelidir. Conner ve Beuchat (1984), doğal ekstraktların düşük pH değerindeki ortamlarda antimikrobiyal aktivitelerinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Doğal ekstraktların  z n rl ğ n n artışına bağlı olarak antimikrobiyal aktivitelerinin de arttığı Hao vd. (1998) tarafından ortaya

konmuştur. Antimikrobiyal maddeler diğer katkı maddelerinde olduğu gibi laboratuvar ortamında sentetik olarak üretilibildikleri gibi hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklardan doğal olarak da elde edilebilirler. Bitkisel kaynakların antimikrobiyal özellikleri yapılarındaki esansiyel yağ asitlerine, aldehitlere, organik asitlere ve fenolik bileşiklere bağlı olarak değişmektedir (Davidson ve Naidu 2000, Ahn vd. 2000).

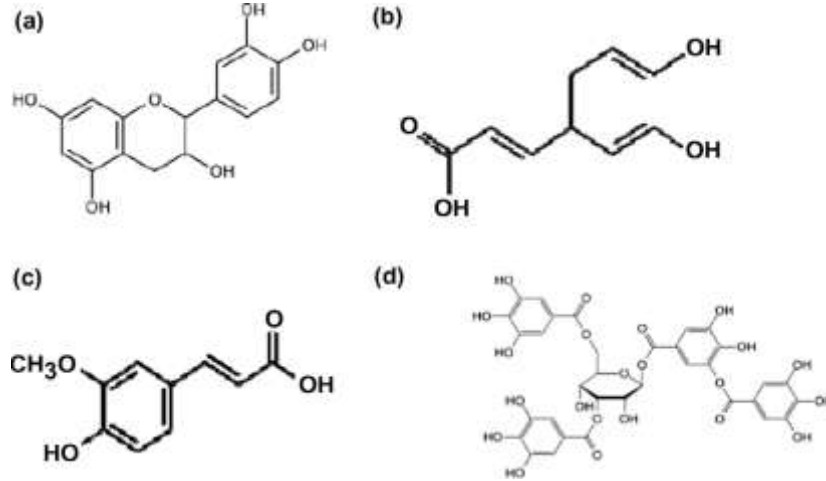
Polifenoller tüm yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan, bitkiyi patojenlere, otobur canlılara ve yağışlar ile UV radyasyon gibi abiyotik stres koşullarına karşı koruyan ikincil metabolitlerdir. Kimyasal yapıları çok çeşitli molekülden oluşur. Patojenlere karşı etkili olmaları ve meyve, sebzelerin renkleri ile duyuşal özellikleri üzerine etkili göstermeleri bu bileşikleri büyüme ve çoğalmada önemli kılmaktadır. Yapısal olarak fenolik bileşikler, aromatik bir halka ile bir veya daha fazla hidroksil grubundan oluşurlar. Birçok fenolik bileşik doğal olarak mono- ve polisakkaritler ile birleşerek esterler ve metil esterler gibi fonksiyonel türevler oluştururlar. Polifenoller flavonoid ve flavonoid olmayanlar olarak ikiye ayrılırlar. Flavonoidler, difenil propan ile 2 benzen halkasının 3 düz karbon zinciri ile ortak bir karbon iskeletini paylaşmaları ile oluşurlar. Bu 3 karbon zincirinin ortasında kapalı 1 piran halkası ile 1 benzen halkası bulunur. Merkezdeki bu piran halkasının oksidasyon durumuna bağlı olarak flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, flavanoller ve izoflavonlar olarak alt gruplara ayrılırlar. Flavonoid olmayanların en önemli grubunu fenolik asitler, stilbenler ve liganlar oluşturur. Fenolik asitler benzoik asidin gallik asit ve protokateşuik asit gibi türevleri ile sinamik asidin kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit türevlerinden oluşur. Stilbenlerin en önemli temsilcisi resveratroidir. Liganlar ise 2 fenilpropan biriminin oksidatif dimerizasyonu sonucunda oluşur. Bunlardan farklı olarak, bitkinin yapısındaki polifenoller glikozit olarak, çeşitli organik asitlerle birlikte ya da tanenler gibi yüksek moleköl ağırlığına sahip moleküller ile kompleks polimerler oluşturmuş olarak bulunabilirler. Flavan-3-oller, flavonoller ve tanenler diğer polifenollere kıyasla daha geniş bir spektrumda daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirler. Bu bileşikler biyofilm oluşumunu engelleyerek ve antibiyotiklerle sinerjik etki göstererek etkilerini gösterirler. Flavan-3-oller arasında kateşinlerin yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları çok uzun zamandır bilinmektedir. Oolong çayı ve yeşil çayda yüksek oranda bulunan bu bileşiklerin *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Campilobacter jejuni*,

Colstridium perfringens ve *Escherichia coli* gibi bakteri gelişimini in vitro koşullarda engellediği belirlenmiştir. -Gallokateşin-3-gallat, -epigallokateşin-3-gallat, -kateşin-3-gallat ve -epikateşin-3-gallatın *Bacillus cereus* gibi gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı etkili olduğu yakın zamanda gösterilmiştir. Bu bileşiklerin tetrasiklin ve vankomisin gibi antibiyotiklerden daha etkili oldukları belirlenmiştir. Çay kateşinleri arasında EGCG ile ilgili fazla sayıda araştırma yapılmış ve EGCG'nin antibakteriyal, antifungal ve antiviral etkileri olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda EGCG ve ECG'nin, EGC'ye göre grip virüslerine karşı 10-15 kat daha etkili oldukları belirlenmiştir. Flavonollerin *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Actinomyces naeslundii* gibi Gram (+) bakteriler ile *Prevotella oralis*, *Prevotella malaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi Gram (-) bakterilere karşı farklı etki mekanizmaları ile etkili oldukları belirlenmiştir. Flavonoller hidrofobik özelliklerine bağlı olarak fosfolipid hücre membranına penetre olarak hücre içerisinde antimikrobiyal aktivite göstermektedirler. Tanenler proantosiyanidinler (kondense tanenler) ve gallotanenler ile elejitaneneler (hidrolize tanenler) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Proantosiyanidinler birçok bitkinin meyvelerinde, kabuklarında, yapraklarında ve çekirdeklerinde bulunurlar. Çileksi meyvelerden elde edilen proantosiyanidinlerin *E.coli*, *S. mutans* ve *S. aureus* gibi birçok patojenik bakteriye karşı etkili oldukları gösterilmiştir. Antibakteriyal aktivitelerinin yanı sıra protoantosiyanidinlerin influenza A virüsüne ve tip-1 herpes simpleks virüsüne karşı etkili oldukları da belirlenmiştir. Hidrolize tanenlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine pekçok çalışma yapılmıştır. Elajitanenler, seçilen bağırsak kökenli Gram (-) bakteri (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Helicobacter*, *E. coli*, *Clostridium*, *Campylobacter* ve *Bacillus* türleri) gelişimini farklı derecelerde engelleme özelliğine sahipken, Gram (+) yararlı probiyotik laktik asit bakterilerine karşı etkili değildir. Mango meyvesinin çekirdeklerinden elde edilen gallotanenlerin gıda kaynaklı bakterilere karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Gallotanenlerin aktiviteleri, demire karşı gösterdikleri yüksek affinite ve bununla ilgili olarak membrana bağlı proteinleri inaktive etme özelliklerine bağlıdır. Flavonoid olmayan bileşiklerin flavonoidlere göre daha zayıf antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir. Gallik asit, kafeik asit ve ferulik asit gibi bazı fenolik asitler Gram (+) (*S. aureus* ve *L. monocitogenes*) ve Gram (-) (*E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermektedirler. Bu bileşiklerin

gentomisin ve streptomisin gibi ticari olarak kullanılan antibiyotiklerden daha etkili oldukları belirlenmiştir. Bu bileşiklerden farklı olarak klorojenik asidin Gram (+) bakterilere karşı etkili olmadığı da gösterilmiştir (Daglia 2012).

Bitkilerde bulunan polifenollerin, tanenlerin ve flavonoidlerin antimikrobiyal etkileri yapılan araştırmalar ile belirlenmiştir (Ahmad ve Beg 2001, Machado vd. 2003, Naz vd. 2007, Shan vd. 2007). Üzüm ekstraktının 13 farklı bakteriye karşı antimikrobiyal etkisi olduğu Özkan vd. (2004) tarafından belirlenmiştir. Yeşil çay ve üzüm çekirdeği polifenollerinin *in vitro* koşullarda antibakteriyal aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Üzüm çekirdeği, yapısında bulunan yüksek orandaki gallik aside bağlı olarak özellikle Gram (+) bakterilere karşı etkilidir (Jayaprakasha vd. 2003). Yeşil çay ekstraktının *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Streptococcus mutans*’a karşı inhibitör etkisi olduğu bilinmektedir (Ahn vd. 2004).

Bir gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından çeşitli fonksiyonları, tat ve koku oluşumundaki katkıları, renk üzerine etkileri, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip olmaları, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi farklı özellikleri açısından önem taşımaktadır. Fenolik bileşikler yapılarındaki farklılıklar ve içerdikleri hidroksil grubu sayılarına göre birbirlerinden ayrılırlar (Şekil 2.4) ve antioksidan aktiviteleri farklılık gösterir (Majsood ve Benjakul 2010). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bazı flavonoid bileşiklerin önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Gorinstein vd. 2004). Bu grupta; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler ve antosiyaninler yer almaktadır. Bu bileşiklerin, yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlı olarak farklı düzeylerde antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Miller ve Rice-Evans 1997).



Şekil 2.5 Dört fenolik bileşiğin yapısı (Maqsood ve Benjakul 2010)
 a. kateşin, b. kafeik asit, c. ferulik asit ve d. tannik asit.

Fenolik bileşiklerin antioksidan mekanizmaları, lipofilik ve hidrofilik molekül yapılarına, hidroksil gruplarının yerine, sayısına, aromatik halkanın molekül içerisindeki pozisyonuna ve proteinler ile membranların oksidasyona duyarlı kısımlarının reaksiyona girme yeteneklerine bağlıdır. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri yakalayarak, hidrojen atomu veya elektron vererek ya da metal katyonları kelatlayarak antioksidan aktivite gösterirler (Afanas'ev vd. 1989, Amarowicz vd. 2004). Antioksidan aktivite karboksil grubuyla ilişkili olan hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonu ile alakalıdır. Hidroksilasyon derecesinin artışına bağlı olarak fenolik asitlerin antioksidan aktivitesi de artış göstermektedir. Örneğin 3 adet hidroksil grubuna sahip olan gallik asidin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Ancak, metoksil grupları ile 3. ve 5. pozisyonda yer alan hidroksil gruplarına sahip fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri düşüktür. Diğer hidroksibenzoik asitlerle karşılaştırıldığında hidroksisinamik asidin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Andreasen vd. 2001). Hidroksisinamik asidin bu yüksek aktivitesi $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ grubuna bağlıdır. Bu grup hidroksisinamik aside, $-\text{COOH}$ grubuna sahip hidroksibenzoik aside kıyasla daha fazla hidrojen verme ve radikal stabilizasyonu yeteneği sağlar (Rice Evans vd. 1996). Antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, delfinidin süperoksit anyonuna karşı etkili iken, pelargonidin hidroksil radikallerine karşı etkilidir. Genel olarak, antosiyaninlerin antioksidan etkileri piran halkasında bulunan serbest hidroksil

grubu sayısına bağlıdır. Hidroksil grubu sayısı arttıkça, antioksidan aktivite de artar. 3', 4'-dihidroksi grubuna sahip antosiyanler stabil antosiyanin-metal kompleksleri oluşturarak metal iyonlarını kelatlarlar (Sarma vd. 1997).

Doğal antioksidanların kullanımını fiyatları, renkleri ve duyuşal özellikleri sınırlı hale getirmektedir. Son zamanlarda bazı doğal fenolik bileşikler gibi çeşitli bitkisel ekstraktların lipid oranı yüksek olan gıdalarda lipid oksidasyonunu engellemek veya azaltmak amacıyla kullanımına olan ilgi artmıştır. Doğal fenolik bileşiklerin birçok lipid sisteminde, özellikle de balık yağlarında, kıyma halindeki balık etlerinde veya surimide ransit tat oluşumunun engellenmesinde etkili olduğu kanıtlanmıştır (Ramanathan ve Das 1992, Fagbenro ve Jauncey 1994, Ikawa 1998, Medina vd. 1999). Bu bileşiklerin aktiviteleri antioksidan etkinliği için farklı mekanizmaların varlığına bağlı olarak genellikle tahmin edilenden farklı olmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda tahıllar, yağlı tohumlar, baharat, meyve ve sebze gibi doğal kaynaklardan elde edilen bileşenler araştırılmış (Chen vd. 1996); çeşitli baharat bitkileri, biberiye, kekik ve adaçayıdan elde edilen ekstraktların BHA ve BHT ile karşılaştırıldığında daha fazla antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Kramer 1985). Yapılan çalışmalar, meyvelerin işlenmesi sırasında elde edilen yan ürünlerin sentetik antioksidanların yerine geçebilecek doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Kiraz meyvesinin domuz köftesinde ve sosislerdeki antioksidan etkinliği Britt vd. (1998) tarafından araştırılmıştır. Sosislerde antioksidan kaynağı olarak elmanın kullanılabirliği Osada vd. (2000) tarafından incelenmiştir. Yu vd. (2002), 13 gün süre ile yapılan soğukta depolama süresince pişirilmiş hindi ürünlerinde meydana gelen renk değişimleri ve lipid oksidasyonu üzerine suda çözündürülerek hazırlanmış biberiye ekstraktının (0, 100, 250 ve 500 ppm konsantrasyonlarda) etkinliğini incelemiştir. Fernandez-Lopez vd. (2004), sitrus meyvelerinin atıklarının et ürünlerinde kullanılabirliği araştırmışlardır. Hindi sosislerinde yeşil çay yaprağı ekstraktının antioksidan aktivitesi Bozkurt (2006) tarafından araştırılmıştır. Meyve püreleri ile hazırlanan ısıt işlemler görmüş kahvaltılık domuz sosislerinin fenolik madde içerikleri ve duyuşal özellikleri Leheska vd. (2006) tarafından incelenmiştir. Domuz ürünlerinde kızılalık kullanımının oksidasyon

stabilitesini arttırdığı saptanmıştır (O'Grady vd. 2008). Tavuk butlarında üzüm çekirdeği ekstraktının oksidasyon stabilitesi üzerine etkili olduğu Brannan (2008) tarafından belirlenmiştir. Üzüm çekirdeğinin, kekik ekstraktının ve biberiyenin donmuş depolanan vakum ambalajlı sığır ve domuz etlerindeki antioksidan etkileri Rojas ve Brewer (2008) tarafından araştırılmıştır. Hernandez-Hernandez vd. (2009), domuz kıymasında biberiye ve kekik ekstraktlarının antioksidan etkinliklerini TBARM değeri ile değerlendirmişlerdir.

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, şarap üretiminde elde edilen polifenollerce zengin yan ürünlerin önemini vurgulamaktadır (Alonso vd. 2002, Torres vd. 2002). Üzüm fenolikleri en iyi bilinen doğal antioksidanlardır. Üzüm yan ürünlerinin, çoğunluğu flavonoidler olmak üzere önemli miktarda fenolik bileşikler içerdiği ve bu bileşiklerin de lipid metabolizması üzerine olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir (Escribano-Bailo'n vd. 1995, Mazza 1995, Teissedre vd. 1996). Üzüm çekirdekleri lif (%40) açısından zengin kaynaklardır. Yapılarında %16 lipid, %11 protein ve %7 kompleks fenoller bulunur (Kim vd. 2006). Üzüm kabukları ve çekirdekleri proantosiyanidinler olarak bilinen farklı polimerizasyon derecelerine sahip flavonoidleri de kapsayan pekçok antioksidan özelliğine sahip maddeyi içermektedir (Souquet vd. 1996). Üzüm polifenollerinin antioksidan aktivitesi polimerizasyon derecesine bağlı olarak değişiklik gösterir. 2-7 monomer ünitesinden oluşan oligomerler, monomerlerden daha etkilidirler. Kateşin ve epikateşin iki proantosiyanidin monomeridir. Dimerler, trimerler ve tetramerler bu iki monomerin α ve β pozisyonlarında bağlanmasıyla oluşur. Kateşin ve epikateşin, kateşin/epikateşin galat gibi esterler oluşturmak için çeşitli gruplarla birleşebilirler. Ayrıca, glikozitleri ve peptidleri oluşturmak için şekerler ve proteinlerle de birleşebilirler. Daha yüksek polimerizasyon derecesine sahip materyallerin daha aktif oldukları bilinmektedir. Üzüm polifenollerini ekstrakte edilebilen ve edilemeyen polifenoller olarak ikiye ayrılır. Ekstrakte edilemeyen polifenoller; polimerik proantosiyanidinler ve molekül ağırlığı yüksek hidrolize tanenlerdir. Ekstrakte edilen polifenoller ise flavonoid türevleri flavonoller (quersetin), flavon-3-oller (kateşin, epikateşin, bunların polimerleri ile galakturonik asit ve glukoz esterleri) ve fenolik asitlerdir. Ekstrakte edilebilen polifenollerin antioksidan kaynağı olarak kullanımı ile ilgili pekçok çalışma vardır. Hagerman vd. (1998), ekstrakte edilemeyen polifenollerin

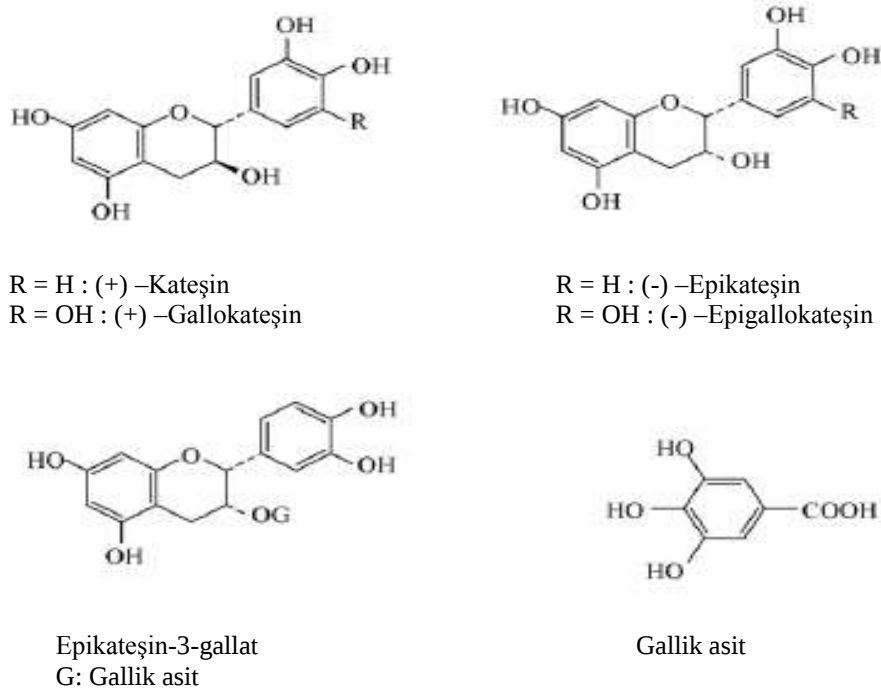
peroksil radikali oluşumunu engellemede basit fenollere kıyasla 15-30 kat daha etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Üzümde en yaygın olarak bulunan polifenolik asitler; sinamik, kumarik, kafeik, ferulik, klorojenik ve neoklorojenik asitlerdir. Oligomerik proantosiyanidinler, polifenolik biflavonoidlerin meyve ve sebzelerde bulunan bir sınıfıdır. Bu grup bileşikler üzüm çekirdeklerinde yaygın olarak bulunur. Flavanoidler elektron vererek, metallerle kelat oluşturarak ve radikal zincir reaksiyonlarını durdurarak antioksidan özellik gösterirler. Ayrıca, flavanoidler hidroksil, peroksil, süperoksit ve nitrik oksit radikallerine karşı etkilidirler (Sanchez-Alonso vd. 2007). Bu şekilde lipid oksidasyonu, serbest radikal yakalama yetenekleri ve singlet oksijenin tüketilmesiyle başlangıçta engellenir. Gelişme aşamasında ise peroksil radikal yakalayıcılar tarafından reaksiyon zinciri kırılır (Torel vd. 1986). Literatürde üzüm polifenollerinin kompozisyonunu ve antioksidan özelliklerini gösteren pekçok referans vardır (Gonza'lez-Parama's vd. 2004, Yılmaz ve Toledo 2004). Üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidatif etkisinin radikal yakalama yeteneğine, metal kelatlama aktivitesine ve diğer antioksidanlarla gösterdiği sinerjistik etkiye bağlı olduğu Lu ve Foo (1999) tarafından ortaya konmuştur.

Lau ve King (2003), %1 ve %2 oranında üzüm çekirdeği ekstraktı ilave ederek hazırlamış oldukları kanatlı köftelerinin TBARM değerlerinin kontrol örneklerinden yaklaşık 10 kat daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Pazos vd. (2005a) tarafından yapılan çalışmada, presleme ve maserasyon sonrasında üzüm (*Vitis vinifera*) cıbresinden elde edilen üzüm fenolik bileşikleri kullanılmıştır. Bu çalışmada üzüm ekstraktından ekstrakte edilen fenolikler kromatografi tekniği kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmış, flavanol monomerleri, oligomerleri (prosiyanidin) ve glikozillenmiş flavoneller elde edilmiştir. Bu fraksiyonlar, balık lipidlerinin oksidasyonunun engellenmesi amacıyla kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada üzüm flavonoidlerinin balık yağında, hazırlanan emülsiyonda ve yağlı bir balık olan uskumrudaki etkinliği araştırılmıştır. Üzüm fenolik bileşikler, sulu ortamda ve düşük yağlı ortamlarda yüksek çözünürlük göstermiştir. Balık yağında üzüm flavonoidlerine

kıyasla propil gallat dahi iyi antioksidan özellik gösterirken, hazırlanan emülsiyonda üzüm polifenolik fraksiyonları propil gallat kadar etkili olmuştur. Balık yağında monomerlerin, polimerlere kıyasla daha etkili oldukları gözlenmiştir. Emülsiyon ve balık kasında ise polimerler, monomerlere kıyasla daha etkili olmuşlardır. Sonuçlar, üzüm polifenollerinin test edilen farklı sistemlerde yüksek antioksidan etkiye sahip olduklarını göstermiştir. Dondurularak depolanan yağlı balıkların oksidasyona karşı korunmasında ve balık kas dokusunu oksidasyona karşı koruyan E vitamin miktarının azalmasını önlemede üzüm prosiyanidinlerinin etkili olduğu da belirlenmiştir.



Şekil 2.6 Üzüm çekirdeği ekstraktında belirlenen en önemli polifenollerin yapısı (Nawaz vd. 2006)

Mielnik vd. (2006), pişirilmiş hindi göğüs etinde dört farklı konsantrasyonda hazırlanan üzüm çekirdeği ekstraktının (0.0, 0.4, 0.8 ve 1.6 g/kg) oksidatif ransiditenin geciktirilmesindeki etkinliğini test etmişlerdir. Hekzanol, pentanol, oktanol, 2-oktenal, 1-okten-3-ol, 2-okten-1-ol ve 1-penten-ol'ün tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) değeri ile yüksek oranda korelasyon ($r > 0.95$) gösterdiği belirlenmiştir. Pişirme işlemi öncesinde üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin kıyma halindeki hindi etinin ısıtılması ve depolanması süresince oksidatif stabiliteyi önemli düzeyde arttırdığı

ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının lipid oksidasyonunu engelleme kapasitesinin konsantrasyona bağlı olduğu tespit edilmiştir. Vakum paketlemenin kullanılan üzüm çekirdeği ekstraktının konsantrasyonuna bağlı olmaksızın etin oksidatif stabilitesini önemli düzeyde geliştirdiği gözlenmiştir; buzdolabı koşullarında pişirilmiş hindi etinde lipid oksidasyonunun engellenmesinde üzüm çekirdeği ekstraktının oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. İşlenmeden önce hindi etine üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin pişirilmiş ette lipid oksidasyonunu engellenmede önemli avantajlar sağladığı da görülmüştür. Çalışılan konsantrasyon aralığında (0.4-1.6 g/kg) antioksidan miktarındaki artışın üzüm çekirdeği ekstraktının etkinliğini de arttırdığı belirlenmiştir. Bu çalışmada, vakum paketlemeyle birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin pişirilmiş kanatlı etlerinde lipid stabilitesini geliştirmek için iyi bir yöntem olduğu tespit edilmiştir.

Banon vd. (2007), yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının düşük sülfid içeriğine sahip sığır köftelerinin raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Yeşil çay ve üzüm çekirdeği ilavesinin çiğ örneklerde mikrobiyal bozulmayı engellediği, kırmızılık değerinin azalmasına neden olduğu ve lipid oksidasyonunu engelleyerek ürünün raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Pişirilmiş örneklerde ise yeşil çay ve üzüm çekirdeği ilavesinin ransit tat oluşumunu engellediği gösterilmiştir.

Luther vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, Chardonnay cinsi üzüm ve ahududu çekirdeklerinin tozundan elde edilen etanol ekstraktlarının lipid oksidasyonunu engelleme kapasiteleri araştırılmıştır. Test edilen iki ekstraktın da balık yağında ransidite gelişimini ve lipid oksidasyonunu engellediği tespit edilmiştir. Ahududu ekstraktının hızlandırılmış oksidatif koşullarda n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin değişimini önemli ölçüde azalttığı, her iki ekstraktın da *E. coli* ve *L. monocytogenes* üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Luther vd. (2007) tarafından yapılan bu çalışma ile, Chardonnay cinsi üzüm ve ahududu çekirdek tozlarının gıda stabilitesi, kalitesi, güvenliği ve tüketici kabul edilebilirliğinin geliştirilmesinde kullanılma potansiyeli olduğu ortaya konmuştur.

Kıyma balık kaslarına ilave edilen üzüm diyet lifinin dondurularak depolama süresince

lipid stabilitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, orta yağlı bir balık türü olan istavrit materyal olarak seçilmiştir. Depolama süresince kıyma balık kaslarında üzüm diyet lifinin (%0, %2 ve %4) antioksidan aktivitesini ölçmek amacıyla farklı yöntemler kullanılmıştır. Kıyma istavrit etine kırmızı üzüm lifinin ilavesi, -20°C’de dondurarak depolamanın ilk üç ayında oksidasyonu önemli ölçüde engellemiştir. Bu sonuç üzüm diyet lifinin kıyma balık etinde donmuş depolama süresince lipid oksidasyonunu engelleyici bir katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu etkinin nedeninin ya lifin bazı prooksidan metaller üzerindeki kelatör etkisinden ya da diyet lifin yapısında bulunan polifenollerden kaynaklanmış olabileceği ifade edilmiştir (Sánchez-Alonso vd. 2007).

Ahn vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, pişmiş kıyma örneklerinde BHA/BHT, üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE), ananas kabuğu ekstraktı (AKE) ve biberiye oleoresininin mikrobiyal gelişim, renk değişimi ve lipid oksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, %1’lik ÜÇE ve AKE’ nin *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* sayısını azalttığı, *L. monocytogenes* ve *Aeromonas hydrophila* gelişimini geciktirdiği belirlenmiştir. AKE’nin, soğukta 9 gün süre ile yapılan depolama sonunda *E. coli* O157:H7 sayısında 1.7 kob/g, *Salmonella typhimurium* sayısında 0.8 kob/g, *L. monocytogenes* sayısında 2.0 kob/g ve *Aeromonas hydrophila* sayısında 0.4 kob/g düzeyinde azalma sağladığı tespit edilmiştir. ÜÇE uygulanan etlerin diğer gruplara kıyasla daha açık (L*), daha kırmızı (a*) ve daha sarı (b*) olduğu, ÜÇE ve AKE’nin kırmızılığı daha uzun süre koruduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, ÜÇE ve AKE’nin et kalitesinin ve mikrobiyal güvenilirliğinin korunmasında etkili bir şekilde kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Beyaz üzümünden elde edilen diyet lifinin kıyma haline getirilmiş balık etinde donmuş depolama süresince antioksidan kapasitesinin belirlendiği bir çalışmada (Sanchez-Alonso vd. 2008), et örneklerine %0, %2 ve %4 düzeylerinde beyaz üzüm lifi ilave edilmiş 6 ay süre ile -20°C’de depolanmıştır. Kullanılan diyet lif, toplam polifenol miktarı ve antioksidan kapasitesi açısından değerlendirilmiş ve sonuç olarak lif ilavesinin donmuş depolama süresince kıyma halindeki istavritte lipid oksidasyonunu geciktirdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada, yüksek düzeyde (%2) beyaz üzüm

lifi ilavesi ve vakum paketlemenin daha etkin bir koruma sağladığı belirlenmiştir. Şarap fabrikalarının yan ürünü olarak elde edilen bu ürünün, yüksek konsantrasyonda diyet lif içerdiği ve yapısındaki polifenollerin de önemli düzeyde antioksidan kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, üzüm diyet lifinin donmuş depolama süresince balıklarda oksidasyonu önlemek amacıyla kullanılabilecek doğal bir katkı maddesi olabileceğini ve gıdalarda yüksek diyet lif içeriği nedeniyle fonksiyonel bir katkı olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Sanchez-Alonso vd. 2008).

Sanchez-Alonso ve Borderias (2008), kıyma istavrit balığına %0, %2 ve %4 oranında ilave edilen kırmızı üzüm diyet lifinin 6 aylık donmuş depolama süresince etkinliğini araştırmışlardır. Diyet lif ilavesinin çözme ve pişirme sonrasında belirlenen bağlı su miktarını arttırdığı, yumuşaklık gibi mekanik özellikleri geliştirdiği belirlenmiştir. Ayrıca, üzüm diyet lifinin donmuş depolama süresince lipid oksidasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Kimyasal, fiziksel ve duyu analizi sonuçları üzüm diyet lifinin kıyma halde dondurulmuş koyu renkli balık kaslarında oldukça etkili bir katkı maddesi olabileceğini göstermiştir.

Dünyada alkolsüz içecekler arasında en ucuz ve en popüler olanı çaydır. Yeşil çay yaprakları iklime, mevsime, türe ve olgunluk düzeyine bağlı olarak %36'ya kadar (kurumadde miktarına bağlı olarak) polifenolik madde içerir (Huang vd. 1992, Shahidi ve Alexander 1998). Yeşil çay Çin'de ve Japonya'da fazlaca tüketilen ve sağlık üzerine önemi anlaşıldıktan sonra dünyadaki tüketimi de giderek artan bir içecektir. Yeşil çay polifenollerini içerisinde en baskın grup kateşinlerdir. Yeşil çay, yapısındaki "çay kateşinleri" adı verilen fonksiyonel polifenoller nedeniyle üzerinde durulan bir bitkidir. Yeşil çayın yapısında bulunan başlıca kateşinler; epikateşin (EC), epikateşin galat (ECG), epigallokateşin (EGC), epigallokateşin galat (EGCG), gallokateşin (GC)'dir (Graham 1992, Huang vd. 1992, Shahidi vd. 1992, Ho vd. 1994, Amarowicz ve Shahidi, 1995). Çay yapraklarında bulunan polifenollerin $\frac{3}{4}$ 'ü, %60-70 oranında (-)-epigallokateşin-3-gallat içeren flavonollerden oluşmaktadır (Tosun ve Karadeniz 2005). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, çay kateşinlerinin toksik etkisi olmayan, ucuz antikarsinojen ve antioksidan ajanları olduğunu göstermiştir (Yamane vd. 1996). ECG ve EGCG'nin *in vitro* koşullarda düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonuna karşı

inhibitör etkilerinin olduğu Miuro vd. (2000) tarafından belirlenmiştir. Çay kateşinlerinin domuz etinde (Shahidi vd. 1992), sebze yağlarında (Chen ve Chan 1996), balık yağlarında (Wanasundara ve Shahidi 1996), gıda emülsiyonlarında (Huang ve Frankel 1997) ve hayvansal yağlarda (Wang ve Zhao 1997) güçlü antioksidan etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur.

Wanasundara ve Shahidi (1998) tarafından yapılan araştırmada, yeşil çayın su-etanol ekstraktlarının tüketilebilir yağlarda prooksidan etkili olduğu; bu durumun yeşil çayın yapısında bulunan ve katalitik etkili olan klorofil pigmentinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın ikinci aşamasında ise klorofil pigmenti yeşil çay ekstraktından kolon kromatografisi tekniği kullanılarak uzaklaştırılmış ve deklorofilize yeşil çay ekstraktı elde edilmiştir. Deklorofilizasyon işlemine tabi tutulan ekstraktların ise balina ve ringa balığı yağlarında antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. 500 ve 1000 ppm düzeylerinde deklorofilize yeşil çay ekstraktlarının; 500 ppm α -tokoferolden, 200 ppm BHA ve BHT'den daha fazla etkili olduğu; ancak 200 ppm konsantrasyondaki tersiyer bütıl hidrokinondan (TBHQ) daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Etkili bir antioksidan olmasının yanı sıra deklorofilize yeşil çay ekstraktının görünür renk ve fark edilebilen bir koku değişikliğine neden olmadığı da belirlenmiştir. Doğal antioksidan kaynağı olarak deklorofilize yeşil çay ekstraktının çoklu doymamış yağ asidi içeriği fazla olan su ürünleri yağlarında kullanımının olumlu sonuç verdiği gösterilmiştir.

Shahidi ve Alexander (1998), EC, EGC, ECG ve EGCG adı verilen yeşil çay kateşinlerinin antioksidan aktivitelerini et model sisteminde değerlendirmişler, kateşinlerin TBA değeri üzerine inhibitör etkilerinin konsantrasyona bağlı olduğunu ve 200 ppm konsantrasyonun en iyi sonucu verdiğini belirlemişlerdir. Aynı konsantrasyonda uygulanan kateşinlerin antioksidan aktivitelerinin EGCG = ECG > EGC > EC olarak sıralandığı ve et lipidlerindeki oksidasyonun kontrol edilmesinde kateşinlerin α -tokoferol ve BHT'den daha etkili olduğu da gösterilmiştir.

Tang vd. (2001), kıyma kırmızı etlerinde (sığır ve domuz eti), kanatlı etlerinde (tavuk, ördek ve devekuşu) ve balık etlerinde (mezzgit ve uskumru) çay kateşinlerinin ve α -

tokoferolün antioksidan etkilerini araştırmışlardır. Farklı türlere ait kıyma haldeki etler 300 ppm düzeyinde çay kateşinleri ve α -tokoferol ile muamele edilmiş ve 4°C’ de 10 gün süre ile depolanmıştır. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında, farklı türlere ait kontrol örnekleri arasında oksidasyona en duyarlı türün uskumru olduğu, bunu sırasıyla sığır, ördek, devekuşu, domuz, tavuk ve mezgit etlerinin izlediği belirlenmiştir. Bu durumun, türler arasındaki toplam yağ ve demir miktarları ile yağ asidi kompozisyonlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Araştırmada kullanılan yedi farklı türe ait etlerde çay kateşini uygulanan grupların kontrol gruplarına kıyasla çok daha düşük TBARM değerine sahip oldukları ve türlere bağlı olarak α -tokoferol uygulananlardan 2-4 kat daha etkili oldukları belirlenmiştir. Yapılan bu araştırmada 300 ppm konsantrasyonda uygulanan α -tokoferolün domuz, tavuk, ördek ve mezgitte lipid oksidasyonunu engelleme etkisinin oldukça sınırlı olduğu da belirlenmiştir.

Tang vd. (2002) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, 50, 100, 200 ve 300 mg/kg çay kateşinleri ilave edilmiş gıda maddesi ile beslenen tavuklardan elde edilen göğüs ve but etlerinin -20°C’de 12 ay süre ile depolanması esnasında α -tokoferol düzeyleri belirlenmiş ve oksidatif stabilite değişimleri araştırılmıştır. α -tokoferol seviyesinin uzun süre donmuş depolanan tavuk etinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir. α -tokoferol tüketimine karşı çay kateşinlerinin koruyucu etkisi, çay kateşinlerinin hücre içerisindeki antioksidan aktiviteleri ile açıklanmıştır. Çay kateşinlerinin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikallerini yakalama kapasitelerinin yüksek olduğu ve metal kelatlama yeteneklerine bağlı olarak *in vitro* koşullarda etin yapısında antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir.

Alghazeer vd. (2008), 26 hafta süre ile -10 ve -80°C’de depolanan yeşil çay antioksidanlarını içeren ve içermeyen (kontrol) uskumruda lipid peroksidasyonunu incelemişlerdir. -80°C ile karşılaştırıldığında -10°C’de daha fazla hekzanal meydana geldiği, depolama süresince aldehit miktarındaki artışa bağlı olarak peroksit değerinde de artış olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada, yeşil çayın (250 ppm) oksidasyon prosesini önemli düzeyde yavaşlattığı tespit edilmiştir. Ancak 500 ppm düzeyinde ilave edilen yeşil çayın 250 ppm’e kıyasla daha az etkili olduğu da belirlenmiştir. Lipid

peroksidasyon ürünlerinin, özellikle de aldehitlerin ransiditeye, gıda bozulmasına, proteinlerle çapraz bağlanma ve donmuş depolama sırasında balıkların sertleşmesine neden oldukları tespit edilmiştir. Bu çalışmayla ilk kez LC-MS ile manolaldehit miktarı ve donmuş depolanan balıklarda gluteraldehit varlığı tanımlanmıştır. Aldehitler, proteinler gibi farklı bileşenlere çapraz bağlanma yeteneğinde olan bileşenlerdir. Gluteraldehit ve malonaldehitin DNA'nın veya proteinlerin amino grupları ile reaksiyonu, strüktürel yapıya zarar verir ve proteinlerin fonksiyonel özelliklerini etkiler. Proteinlerin çapraz bağlanması sonucunda agregatlar oluşur. Bu durum protein çözünürlüğünün azalmasına neden olur. Hekzanal düzeyindeki artışın ransit koku ve off-flavor oluşumundaki artış ile ilişkili olduğu, ikincil ve nihai oksidasyon ürünlerinin flavordaki bozulmaların belirlenmesinde güvenli birer indikatör oldukları bu çalışma ile ortaya konmuştur. Çay kateşinlerinin serbest radikalleri toplama kapasitelerinin E vitamini ve askorbik asitten oldukça yüksek olduğu da tespit edilmiştir.

Nar (*Punica granatum*) Punicaceae familyasından çok yıllık bir bitki olup genellikle tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilmektedir. Nar, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve suyu, nar ekşisi, nar konsantresi, nar danesi konservesi ve şarap üretiminde kullanılan bir meyvedir. Narın yenebilen kısmı yani daneleri, meyvenin %52'sini oluşturmaktadır ve danelerin de; %78'i meyve eti, %22'si ise çekirdekten oluşmaktadır (Kulkarni ve Aradhya 2005). Nar daneleri asitler, şekerler, vitaminler, polisakkaritler, polifenoller ve önemli minerallerce zengindir (Maskan 2006). Nar fazla miktarda antosiyanin içerdiği bilinen bir meyvedir. Nar suyunda bulunan antosiyaninlerin; siyanidin-3-glukozit (Cy-3-G), delfinidin -3-diglukozit (Dp-3-G), siyanidin-3-5-glukozit (Cy-3-5-DG), delfinidin -3-5-diglukozit (Dp-3-5-DG), pelargonidin-3-glukozit (Pg-3-G) ve pelargonidin-3-5-diglukozit (Pg-3-5-DG) olduğu bilinmektedir (Gil vd. 2000, Marti vd. 2001, Turfan vd. 2008). Son yıllarda sağlık üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesi nedeniyle nar meyvesi ve nar suyuna olan ilgi artmıştır. Nar biyoaktif bileşenlerin önemli bir kaynağıdır ve geleneksel yöntemlerle çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllardır kullanılmakta olan bir meyvedir. Nar meyvesi, kabuğu ve kökleri yüzyıllardır birçok ülkede bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Ahmad ve Beg 2001, Braga vd. 2005, Voravuthikuncha vd. 2005, Reddy vd. 2007). Yapılan klinik araştırmalar nar suyunun LDL, HDL ve kolestrol gibi çeşitli kan parametrelerinde

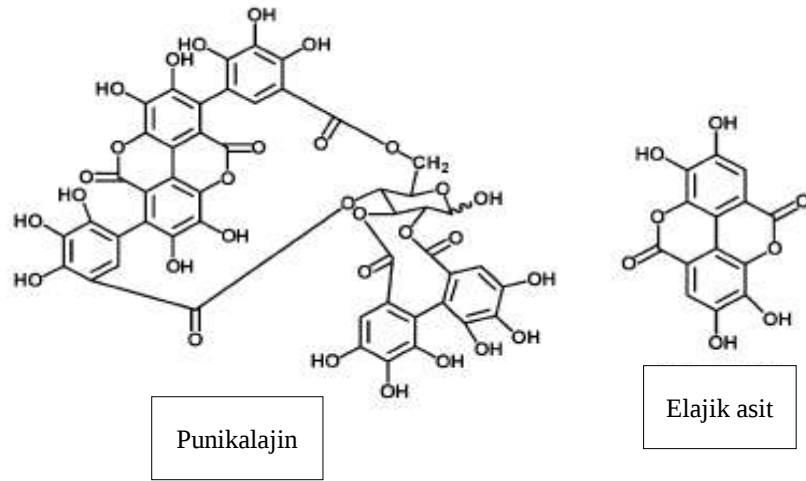
değişikliklere neden olduğu (Aviram vd. 2000, Aviram ve Dornfeld 2001), kalp rahatsızlıklarının (Sumner vd. 2005), Alzheimer hastalığının (Singh vd. 2008) ve kanserin (Khan vd. 2007) önlenmesinde etkili olabileceği belirlenmiştir.

Yapılan bir araştırmada, nar suyunun önemli miktarda fenolik madde içerdiği ve bu oranın çeşide bağlı olarak %0.2–1.0 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Heftaman ve Bennett 1966). Suda çözünen bu fenolik maddelerin önemli bölümünü antosiyaninler (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitleri), kateşinler, ellajitanenler, gallik ve ellajik asit oluşturmaktadır (Aviram vd. 2000). Tanenler birçok bitkinin yapısında bulunan yüksek moleküler ağırlığa sahip fenolik bileşiklerdir. Hidrolize tanenler (ellajitanenler) ve kondense tanenler (proantosiyanidinler) fiziksel ve kimyasal özellikleri farklı fitokimyasallardır (Cowan 1999). Nar kabuğu tanenler açısından oldukça zengindir. Nar kabuğu, yaprakları ve bölüm zarları ellajitanenler ve gallotanenlerce zengindir. Nar kabukları hidrolize olabilen fenolikler açısından son derece zengin olup, başta ellajitanen ve izomerleri olmak üzere daha az miktarlarda punikalin, gallik asit, ellajik asit ve ellajik asit glikozitlerini (hekzosit, pentozit, vd) içermektedir. Ellajitanenlerin içinde en önemli grup, punikalajindir. Punikalajinin hidrolize olması ile punikalin ile ellajik asit oluşmaktadır (Gil vd. 2000) (Şekil 2.6). Nar yapraklarında apigenin, lutedin glikozitleri ve bölüm zarlarında punikalajin ile punikalin hidrolize tanenleri olduğu bilinmektedir (Tanaka vd. 1986, Nawwar vd. 1994). Bazı meyvelerin kabuk ve çekirdeklerinin meyve etinden daha fazla biyoaktif bileşen içerdiği bilinmektedir (Balasundram vd. 2006). Nar fenoliklerinin önemli bir bölümü de kabukta bulunmaktadır. Guo vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, nar kabuklarından elde edilen ekstraktın (249.4 mg/L), pulptan elde edilen ekstrakta (24.4 mg/L) göre yaklaşık 10 kat daha fazla toplam fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Gill vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada ise, narda bulunan fenolik bileşikler içinde, punikalajinin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu, bunu gallik asit ve ellajik asidin izlediği tespit edilmiştir.

Tanen bakımından zengin kabuklar, gıda endüstrisinde narın işlenmesi sırasında elde edilen bir yan üründür. Nar kabuklarının yapılarındaki tanenlere bağlı olarak patojen bakterilere karşı antimikrobiyal etkili olduğu da yapılan çalışmalarla belirlenmiştir

(Ahmad ve Beg 2001, Voravuthikuncha vd. 2004, Braga vd. 2005, Shan vd. 2007, McCarrell vd. 2008).

Staphylococcus aureus gibi antibiyotiğe dirençli patojenlerin yayılması, bitkileri de kapsayan doğal kaynaklardan elde edilen antimikobiyal bileşenlerle ilgili araştırmaların artmasına neden olmuştur. Nar meyvesinin özellikle *Staphylococcus aureus* gibi gram (+) bakterilerin gelişimini engellediğini gösteren pekçok çalışma yapılmıştır (Machado vd. 2003, Braga vd. 2005).



Şekil 2.7 Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları (Seeram vd. 2005)

Özkal ve Dinç (1994), nar zarlarının tanenler, antosiyaninler ve flavonoidlerce zengin olduğunu belirlemişlerdir. Nar bölüm zarları kullanılarak elde edilen ekstraktların, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunun engellenmesinde olduğu gibi süperoksit anyonu, hidroksil ve peroksil radikallerine karşılı etkilili olduğu ve meyve pulpu kullanılarak hazırlanan ekstraktlardan daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Li vd. 2006). İlave edilen nar kabuğu ekstraktının konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve antimutajenitesi de artış gösterdiği bilinmektedir (Ghasemian vd. 2006).

Nar suyunun antioksidan aktivitesinin dört farklı yöntemle (ABTS, DPPH, DMPD ve FRAP) değerlendirildiği ve elde edilen sonuçların kırmızı şarap ve yeşil çay ile karşılaştırıldığı bir araştırmada, nar suyunun kırmızı şarap ve yeşil çaydan 3 kat daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Gil vd. 2000). Bu aktivitenin, nar meyvesinin tamamının işlenmesi ile elde edilen ticari meyve sularında sadece nar taneleri kullanılarak elde edilen meyve suyundan daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir.

Braga vd. (2005) tarafından yapılan bir araştırmada, nar ekstraktının *Staphylococcus aureus* FRI 722 gelişimi ve enterotoksin oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Bakterilerin duyarlılıkları tüp dilüsyon metodu ile ve enterotoksin oluşumu ise Membran-Over-Agar (MOA) kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda düşük konsantrasyonda (%0.01 v/v) nar ekstraktı kullanımının bakteri gelişimini engellediği, yüksek ekstrakt konsantrasyonunda (%1 v/v) ise bakteriyel gelişimi durduğu tespit edilmiştir. %0.05 konsantrasyonda kullanılan nar ekstraktının *Stafilokok* enterotoksinlerinin oluşumunu engellediği de saptanmıştır.

Gölükcü vd. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, nar meyvesinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin narın çeşidine, yetiştirildiği bölgeye, iklim koşullarına, toprak yapısına, hasat zamana bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca nar çekirdeği örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin 1535 - 3701 mg/kg arasında değişim gösterdiği yapılan bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Naveena vd. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, nar kabuğu tozu ekstraktlarının (RP) radikal yakalama aktivitesi, indirgeme gücü ve fenolik madde kompozisyonu belirlenmiş; pişirilmiş tavuk köftelerinin soğutularak muhafazası süresince nar kabuğu tozu ekstraktlarının antioksidan etkinliği C vitamini ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, kıyma haline getirilen 100g taze tavuk etlerine 5, 10, 15, 20 mg'a eşdeğer düzeylerde RP fenolikleri ile 50 mg C vitamini ilave edilmiştir. Karşılaştırmanın yapılabilmesi amacıyla da antioksidan madde ilave edilmeyen kontrol grubu oluşturulmuştur. RP'nin yüksek antioksidan kapasitesine ve yüksek indirgeme

gücüne sahip olduğu belirlenmiştir. Tavuk köftelerine RP ilavesi, L* değerinin kontrol ve C vitamini içeren örneklerle göre daha düşük bulunmasına neden olmuştur. Toplam fenolik madde içeriği tannik asit eşdeğeri olarak kontrol örneğinde 308 µg/g iken, RP-20 örneğinde 441 µg/g'a yükselmiştir. Yapılan duyusal analiz sonucunda RP ilavesinin tavuk köftelerinin duyusal özelliklerini etkilemediği de belirlenmiştir. TBARM değeri kontrol örneğinde 1.530 mgMA/kg köfte, RP içeren köftelerde ise 0.135 mgMA/kg köfte olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak nar kabuğu tozu ekstraktı uygulamasının pişirilmiş tavuk köftelerinde lipid oksidasyonunu C vitamini uygulamasından daha fazla engellediği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile nar kabuğu tozu ekstraktından doğal antioksidan kaynağı olarak yararlanılabileceği tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada, nar kabuğu ekstraktının ayçiçeği yağında antioksidan olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır (Sahahid vd. 2008). Bu amaçla ayçiçeği yağına farklı düzeylerde (250, 500 ve 1000 ppm) nar kabuğu ekstraktı ilave edilmiş, kontrol olarak ise 200 ppm BHT içeren örnek kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda 1000 ppm ekstrakt içeren örneğin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tezcan vd. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada, ülkemizde üretilen çeşitli firmalara ait nar sularının antioksidan aktiviteleri ile organik asit ve şeker içerikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada, 7 farklı firmaya ait nar suyu örneğinin toplam fenolik madde miktarları, DPPH yöntemi ile serbest radikal yakalama kapasitesi ve demir kelatlama aktivitesi belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda ticari olarak üretilen nar sularının fenolik madde miktarlarının ve antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Al-Zoreky (2009) tarafından yapılan bir araştırmada, nar meyvesinin kabuklarından elde edilen çeşitli ekstraktların gıda kaynaklı bazı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi hem *in vitro* koşullarda (agara yayılarak) ve hem de gıdada kullanılarak değerlendirilmiştir. Kabuklardan %80'lik metanol kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* ve *Yersinia enterocolitica* için potansiyel bir inhibitör olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan ekstraktın

Salmonella enteritidis'e karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu diğer mikroorganizmalardan daha yüksek bulunmuştur (4mg/ml). Metanolik ekstrakt, 4°C'de depolanan balıkta *Listeria monocytogenes* sayısının 1 log'dan daha fazla azalması neden olmuştur. Fizikokimyasal analizler nar kabuğunda fenolik ve flavonoid bileşikler gibi çeşitli biyoaktif inhibitörlerin bulunduğunu ortaya koymuştur. Metanolik ekstraktın aktivitesinin yüksek olması, toplam fenolik madde miktarı (262.5 mg/g) ile ilişkilendirilmiştir.

Yapılan bir araştırmada 4°C'de depolanan marine edilmiş hamsi eti kalitesi üzerine nar sosunun etkileri araştırılmıştır (Gökoğlu vd. 2009). Hamsi etlerinin marinasyonunda 30g/L asetik asit ve 150 g/L tuz içeren solüsyon ile ayçiçeği ve nar sosu kullanılmıştır. Hazırlanan etler 4°C'de depolanmıştır. Toplam uçucu bazik nitrojen ve trimetilamin değerleri depolama süresince artış göstermiştir. Serbest yağ asidi, konjuge dien, *para*-anisidin değerleri ayçiçeği yağı içeren örneklerde nar sosu içeren örneklerle göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak nar sosu içeren örneğin oksidatif stabilitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Nar soslu örnekler ayçiçeği yağı içeren örneklerden daha yüksek tat ve flavor; daha düşük görünüm puanları almıştır. Nar sosunun kalitenin korunmasında en az ayçiçeği yağı kadar etkili olduğu belirlenmiştir. Nar sosunun üründe istenilen tat ve flavoru oluşturduğu ancak ürünün rengini olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir.

Kanatt vd. (2010) tarafından yapılan bir araştırmada, nar kabuğu ve nar danesi ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli incelenmiş; nar kabuğu ekstraktının (NKE), nar danesi ekstraktından (NDE) daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. NKE'nin hidroksil grubu ve süperoksit anyonunu bağlama etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. NKE *Staphylococcus aureus*'a ve *Bacillus cereus*'a karşı güçlü antimikrobiyal etki göstermiş olup ve bu etkinin gözlenebilmesi için en düşük konsantrasyonun %0.01 olması gerektiği belirlenmiştir. NKE, *E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı etkisiz iken, %0.1 ve daha yüksek konsantrasyonlarda *Pseudomonas* inhibe olmuştur. NKE'nin çeşitli pişmiş tavuk ürünlerine ilave edilmesinin, ürünün soğukta muhafazası sırasında raf ömrünü 2-3 haftaya kadar uzattığı tespit edilmiştir. Ayrıca NKE'nin söz konusu tavuk ürünlerinde

oksidatif ransiditenin kontrolünde önemli etkileri olduğu da belirlenmiştir.

Et ürünlerinde kullanılan sentetik antioksidanların etkilerini azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada kinnow adı verilen bit tür mandalina kabuğu tozu, nar kabuğu tozu ve nar danesi tozu ekstraktlarının keçi eti kullanılarak hazırlanan köftelerdeki antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır (Devatkal vd. 2010). Kinnow, Hindistan ve çevresinde yetiştirilen bir sitrus meyvesidir. Kinnowun meyve suyuna işlenmesi sırasında %30-34 oranında kabuk elde edilir ve kinnow kabukları C vitamini, karotenoidler ve polifenolik antioksidanlarca zengindir (Anwar vd. 2008). Yapılan çalışmada örneklerde toplam fenolik madde miktarı, DPPH radikal yakalama aktivitesi, renk, duyu analizi ve lipid oksidasyon analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, kullanılan bu ekstraktların fenolik madde kompozisyonu açısından zengin birer kaynak olduklarını ve yüksek serbest radikal yakalama aktivitesine sahip olduklarını göstermiştir. Nar kabuğu tozu ilave edilen köfte örneklerinde L* değerinde azalma saptanmış olup, bu azalmayı nar danesi ekstraktı ve kinnow ekstraktı izlemiştir. Duyu analizi sonucunda köfteler arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı da belirlenmiştir. Ayrıca kontrol örneği ile karşılaştırıldığında bitkisel ekstrakt ilave edilen örneklerde depolama süresince TBARM değerinde önemli bir azalma gözlenmemiştir. Soğukta depolama süresince belirlenen ortalama TBARM değerinin nar kabuğu tozunda düşük olduğu, bunu sırasıyla nar danesi ekstraktı ve kinnow ekstraktının izlediği belirlenmiştir. Genel olarak antioksidan etkinliği nar kabuğu tozunda en yüksek iken, nar danesi tozunda daha düşük, kinnow türü mandalina kabuğu tozunda ise en düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak yapılan bu çalışma ile, çeşitli meyvelerden yan ürün olarak elde edilen çeşitli ekstraktların et ürünlerinde birer antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Lipidlerin oksidasyonu ile ilgili çalışmalar çok uzun yıllar yürütülmesine rağmen proteinlerde meydana gelen oksidatif değişmelere yönelik çalışmalar son 10 yılda önem kazanmaya başlamıştır. Bilindiği gibi serbest radikal bir veya daha fazla harcanmamış elektron içeren ve kolayca reaksiyona giren bileşik grubudur. Reaktivitesi yüksek bu okside edici bileşikler lipidlerin yanı sıra bazı amino asitlerin oksidasyonuna,

proteinlerin parçalanmasına, polimerizasyonuna ve fonksiyonel özelliklerde azalmalara neden olmaktadır (Xiong 2000).

Medina vd. (2009) tarafından yapılan araştırmada, kıyma halde -10°C ve -18°C’de depolanan istavrit kaslarında ransidite ile ilişkili off-flavor oluşumunun engellenmesi için, farklı hidroksi sinamik asitlerin antioksidan etkilerini, protein agregasyonu, denatürasyonu ve su tutma kapasitesi üzerine lipid oksidasyonunun etkilerini araştırmışlardır. Kafeik asit, o-kumarik asit ve ferulik asit araştırmada test edilen antioksidanlardır. Antioksidanların etkinliklerinin kafeik asit > ferulik asit > o-kumarik asit olarak sıralandığı ve lipid/antioksidan konsantrasyonunun antioksidan etkinliğini etkilediği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre antioksidanların, protein agregasyonu ve su tutma kapasitesi üzerine etkili olmadığı da tespit edilmiştir.

Ülkemizde balıkta lipid ve protein oksidasyonu konusunda yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Mevcut çalışmalar genellikle balıkta lipid oksidasyonu üzerine yoğunlaşmıştır (Soyer ve Şahin 1999, Serdaroğlu ve Felekoğlu 2005, Gökoğlu ve Yerlikaya 2008, Kenar 2009, Yerlikaya ve Gökoğlu 2010, Taşkaya 2010, Özalp Özen vd. 2011).

Soyer ve Şahin (1999), -18°C’de dondurularak depolanan kolyoz balıklarında lipid oksidasyonunun geciktirilmesinde sentetik antioksidanların (BHT, BHA ve BHT+BHA) etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, antioksidan kullanımının etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2005) tarafından yapılan çalışmada, kıyma haldeki sardalya eti 300 ppm düzeyinde biberiye ekstraktı ve 1ml/100g et düzeyinde soğan suyu ile muamele edilmiş ve -20°C’de 5 ay süre ile depolanmıştır. TBA sayısı, peroksit değeri ve serbest yağ asidi düzeyinin lipid oksidasyonuna bağlı olarak tüm gruplarda artış gösterdiği belirlenmiştir. Depolama süresince TBA sayısı, peroksit değeri ve serbest yağ asidi düzeyindeki değişimlere bağlı olarak biberiye ekstraktının antioksidan etkiye sahip olduğu, oksidasyonun ise soğan suyu uygulaması ile 3 ay ertelenebildiği belirlenmiştir. Yapılan 5 aylık depolama sonunda soğan suyu ilave edilen grup ile kontrol grubunda

TBA değerinin tüketilebilirlik sınırının üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna ait örneklerde çoklu doymamış yağ asidi miktarı azalırken doymuş yağ asidi miktarı artmıştır. Biberiye ekstraktı ve soğan suyu uygulanan balıklarda ise yağ asidi kompozisyonunda herhangi bir değişim olmadığı saptanmıştır.

Gökoğlu ve Yerlikaya (2008) tarafından yapılan çalışmada, karideslerde ileri derecede meydana gelen renk değişimlerinin üzüm çekirdeği ilavesi ile engellenebilirliği araştırılmıştır. Yağı uzaklaştırılmış üzüm çekirdeği tozu etanol kullanılarak ekstrakte edilmiş ve elde edilen çözeltiler su ile 0, 2.5, 5.0, 10 ve 15 g/L konsantrasyonlara ayarlanmıştır. Hazırlanan çözeltilere daldırılan karidesler 4°C’de depolanmıştır. Meydana gelen renk değişimleri parlaklık, kırmızılık, sarılık değerlerinin ölçülmesi ve duyusal analiz sonuçları ile değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler üzüm çekirdeği ekstraktının renk değişimi üzerine inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir. En iyi sonuç 15 g/L konsantrasyondaki ekstrakt çözeltisi ile muamele edilen karideslerde gözlenmiştir.

Kenar (2009) tarafından yapılan çalışmada, biberiye ve adaçayı bitkilerinden solvent ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen doğal antioksidanların vakum paketlenen sardalya filetolarının duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Duyusal analiz verilerine göre, 4°C’de depolanan sardalya filetosunun raf ömrü kontrol grubunda 13 gün, biberiye ve adaçayı ile muamele edilen gruplarda ise 20 gün olarak belirlenmiştir. Depolama süresince tüm grupların peroksit değerleri ve serbest yağ asitleri düzeylerinin arttığı, biberiye ve adaçayı uygulamasının TVB-N değeri üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre depolama süresince biberiye ve adaçayının balık eti üzerinde antibakteriyal etki gösterdiği de belirlenmiştir.

Yerlikaya ve Gökoğlu (2010), dondurularak depolanan palamut filetolarındaki lipid oksidasyonuna yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstraktının etkisini incelemişlerdir. Araştırmada kullanılan ekstraktlar, kurutulmuş ve toz haline getirilmiş örneklerden etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktların konsantrasyonları %1 olacak şekilde destile su yardımıyla ayarlanmıştır. Balık filetoları ekstrakt çözeltisine

daldırılmış ve ekstrakt çözeltileri ile glazelenmiştir. Donmuş depolama süresince oksidasyon reaksiyonlarının ilerlediği, bitkisel ekstraktlarla muamele edilen grupların TBA ve *p*-anisidin değerlerinin diğerlerine göre düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar her iki bitkisel ekstraktın da lipid oksidasyonunu geciktirmede etkili olduğunu, ekstrakt çözeltisine daldırılarak hazırlanan örneklerde oksidatif reaksiyonların daha yavaş ilerlediğini göstermişlerdir.

Taşkaya (2010) tarafından yapılan çalışmada, -18°C’de 4 ay süre ile depolanan kıyma haldeki sardalya etinde erik ekstraktının (%1, 2 ve 3) antioksidatif etkisi araştırılmıştır. Yapılan bu araştırma sonucuna göre, oluşturulan tüm gruplarda lipid oksidasyonuna bağlı olarak TBA sayısı, peroksit değeri, serbest yağ asitleri ve renk analizi değerlerinin arttığı; erik ekstraktının güçlü antioksidatif etkiye sahip olduğu ve lipid oksidasyonunu geciktirdiği belirlenmiştir. Kıyma sardalya etine %3 düzeyinde ilave edilen erik ekstraktının sentetik bir antioksidan olan BHT yerine kullanılabileceği bu çalışma ile gösterilmiştir.

Özalp Özen vd. (2011), -18°C’de 3 ay depolanan kıyma kolyoz balıklarında lipid oksidasyonuna nar çekirdeği ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının (%2) etkisini incelemişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nar çekirdeği ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının hidroperoksit ve TBARM oluşumunu engelledikleri belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm gruplarda L*, a* ve b* değerlerinin azaldığı da gösterilmiştir.

Günümüzde, insan beslenmesinde oldukça büyük öneme sahip olan hayvansal protein kaynaklarından maksimum düzeyde yararlanabilme ve bu kaynakları daha ekonomik ve kaliteli şekilde değerlendirebilme konusunda yapılacak çok çeşitli araştırmalara ihtiyaç vardır. Lipid ve protein içeren gıdalarda oksidasyon sırasında oluşan değişik tepkime ürünlerinin insan sağlığı açısından tehlike oluşturması, hatta karsinogenik maddelerin oluştuğunun ileri sürülmesi bu tepkimelerin mekanizması ve oluşan ürünlerin nitelikleri üzerinde araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur. Balık etlerinin de diğer gıdalar gibi, tüketime hazır gıda haline getirilmesi için depolama sırasında yaşanan

problemlerin ve ekonomik kayıpların azaltılmasına yönelik araştırmalar önemlidir. Yapılan alışmalar doğrultusunda geliştirilecek yeni ürünlerin uzun raf ömrüne sahip olmaları, balık etininin her yerde ve her mevsim tüketilmesine imkan sağlayacaktır. Bu açıdan soğukta muhafaza edilen ve dondurularak depolanan yağlı balıklarda doğal antioksidan kaynaklarının lipid ve protein oksidasyonu üzerine etkilerinin belirleneceği araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Literatür bilgileri incelendiğinde, balık, tavuk ve kırmızı etlerde ve et ürünlerinde oksidatif değişmeleri geciktirmek, mikrobiyal yükü azaltmak ve bu şekilde raf ömrünü uzatmak amacıyla üç bitkisel kaynağın ne çıktığı görülmektedir. Bunlar; şarap üretiminde yan ürün olarak ortaya çıkan üzüm çekirdeği, nar suyu üretiminde yan ürün olarak ortaya çıkan nar kabuğu ve yeşil aydır. Bu üç bitkisel ekstraktın birlikte çalışıldığı ve balık lipidlerinde ve proteinlerinde etkilerinin ortaya konulduğu bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Et materyali

Araştırmada, İğne Ada (Kırklareli) bölgesinde avlanan uskumru (*Scomber scombrus*) materyal olarak kullanılmıştır. İstanbul Büyükşehir Belediyesi Toptancı Hali'ne getirilen balıklar anlaşmalı balıkçılardan satın alınmış ve buzda depolanarak en kısa sürede (5-6 saat) denemenin kurulacağı Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne getirilmiştir.

3.1.2 Antioksidan kaynakları

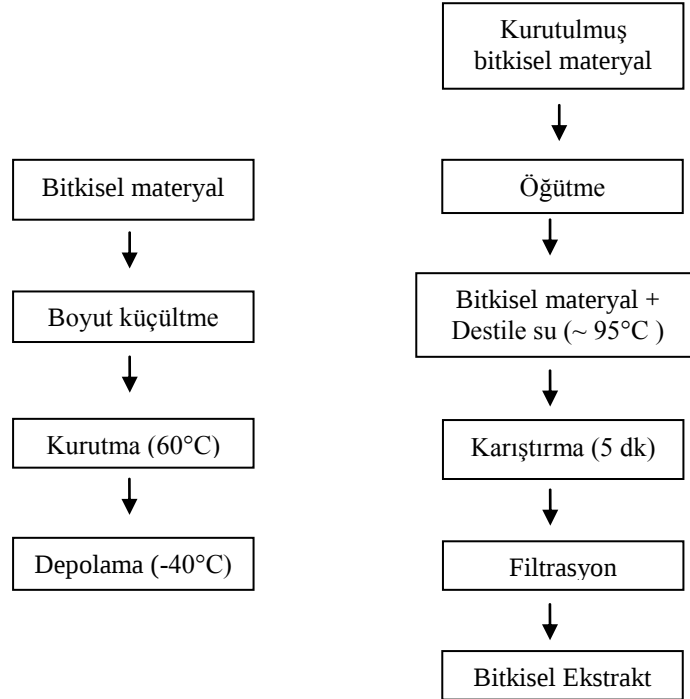
Araştırmada doğal antioksidan kaynağı olarak laboratuvarında hazırlanan yeşil çay, nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ekstraktları kullanılmıştır. Yeni hasat edilmiş yeşil çay (*Camellia sinensis*) yaprakları, vakum ambalaj içerisinde Rize'den getirilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktının hazırlanmasında kullanılan çekirdekler Kavaklıdere Şarap A.Ş.'den (Ankara) temin edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktının hazırlanmasında, Kalecik Karası (*Vitis vinifera*) üzümlerin şaraba işlenmesinden sonra elde edilen bir yan ürün olan çekirdekleri kullanılmıştır. Nar kabuğu ekstraktı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde nar meyvelerinin (*Punica granatum*) nar suyuna işlenmesinden sonra ortaya çıkan bir yan ürün olan kabuklar kullanılarak hazırlanmıştır.

Araştırmada sentetik antioksidan kaynağı olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Bitkisel antioksidan ekstraktlarının hazırlanışı

Bitkisel ekstraktların elde edilmesinde Naveena vd. (2008) tarafından önerilen ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır (Şekil 3.1). Taze olarak elde edilen yeşil çay yaprakları ve nar kabukları yaklaşık 1cm² boyutlarındaki parçalara ayrıldıktan sonra, üzüm çekirdekleri ise elde edildiği şekli ile 60°C’deki etüvde kurutulmuştur. Kurutma işlemi yeşil çay yaprakları için 3 saat, üzüm çekirdekleri için 12 saat ve nar kabukları için ise 48 saat sürmüştür. Kurutma süresinin belirlenmesinde kurutulan materyalin kolaylıkla öğütülebileceği nem düzeyine kadar kurutulması esas alınmıştır. Kurutulmuş materyal, yüksek yoğunluklu polietilen ambalaj materyali ile ambalajlandıktan sonra ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilene kadar -40°C’deki derin dondurucuda (MDF-U5411 Model, Sanyo, Kore) depolanmıştır. Ekstraksiyon işleminden önce, kurutulmuş materyal laboratuvar tipi değirmende öğütülmüştür. Ekstraksiyon çözeltisi olarak destile su kullanılmıştır.



Şekil 3.1 Bitkisel ekstrakt elde etme aşamaları

Ekstraksiyon işlemi yaygın olarak organik çözücüler ile yapılmaktadır. Organik çözücüler ekstraksiyon işleminin daha etkili olarak gerçekleştirilmesini sağlar. Kalıntı solventin insan tüketimi için toksik etkilerinin olması nedeniyle araştırmada bitkisel kaynakların sulu ekstraktları kullanılmıştır.

Bitkisel ekstraktlarda yapılan analizler için 20 g kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ile 40 g yeşil çay, 500 mL kaynamış haldeki destile su ile çalkalamalı su banyosunda 5 dakika süre ile çalkalanmıştır. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra hızla soğulmuş ve analizlerde kullanılmıştır.

Soğukta muhafaza edilen ve dondurularak depolanan kıyma balık eti için denemenin kurulmasında 20 g kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ile 40 g yeşil çay, 500 mL kaynamış haldeki destile su ile çalkalamalı su banyosunda 5 dakika süre ile çalkalanmıştır. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra hızla soğutularak denemede kullanılmıştır. Kıyma balık eti için denemenin kurulması sırasında ürüne ilave edilecek bitkisel ekstraktların miktarları ise, hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde miktarları karakterize edildikten sonra son üründe istenen toplam fenolik madde miktarı (100 ppm) dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Soğukta muhafaza edilecek fileto balık eti için denemenin kurulmasında hesaplama ile belirlenen miktarlarda kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuğu, üzüm çekirdeği yeşil çay ayrı ayrı 2.5 L kaynamış haldeki destile su ile çalkalamalı su banyosunda 5 dakika süre ile çalkalanmıştır. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra soğutularak daldırma çözeltisi olarak kullanılmıştır. Soğukta muhafaza edilecek fileto balık eti için denemede kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında 2.5 L suya ilave edilecek kurutulmuş ve öğütülmüş materyal miktarı, bitkisel materyalin toplam fenolik madde miktarları ve kontrol grubuna ait balıkların suya daldırılmaları esnasında absorbe ettikleri su miktarları belirlendikten sonra son üründe istenen toplam fenolik madde miktarı (50 ppm) dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Dondurularak depolanan fileto balık eti için denemenin kurulmasında hesaplama ile belirlenen miktarlarda kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuğu, üzüm çekirdeği ve yeşil çay ayrı ayrı 2.5 L kaynamış haldeki destile su ile çalkalamalı su banyosunda 5 dakika süre ile çalkalanmıştır. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra soğutularak glaze çözeltisi olarak kullanılmıştır. Dondurularak depolanan fileto balık eti için denemede kullanılan glaze çözeltilerin hazırlanmasında 2.5 L suya ilave edilecek kurutulmuş ve öğütülmüş materyal miktarı, bitkisel materyalin toplam fenolik madde miktarları ve kontrol grubuna ait balıkların destile su ile glazelenmeleri esnasında absorbe ettikleri su miktarları belirlendikten sonra son üründe istenen toplam fenolik madde miktarı (50 ppm) dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Sentetik antioksidan olarak kullanılan BHT kıyma örneklerle 100 ppm, fileto örneklerle ise 50 ppm düzeyinde ilave edilmiştir. BHT yağda ve yağ çözücü maddelerde çözündüğünden fileto örneklerdeki uygulamada BHT'nin su ile karışabilen çözeltisini hazırlamak amacıyla tween-20 (Merck, Almanya), kıyma örneklerde ise etil alkol (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Fileto örneklerde 13.33 kısım tween-20 içerisinde 1 kısım BHT tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılarak kullanılmıştır (Soyer 1995). Kıyma örneklerde ise 5 kısım etil alkol içerisinde 1 kısım BHT tamamen çözününceye kadar karıştırıldıktan sonra ürüne ilave edilmiştir.

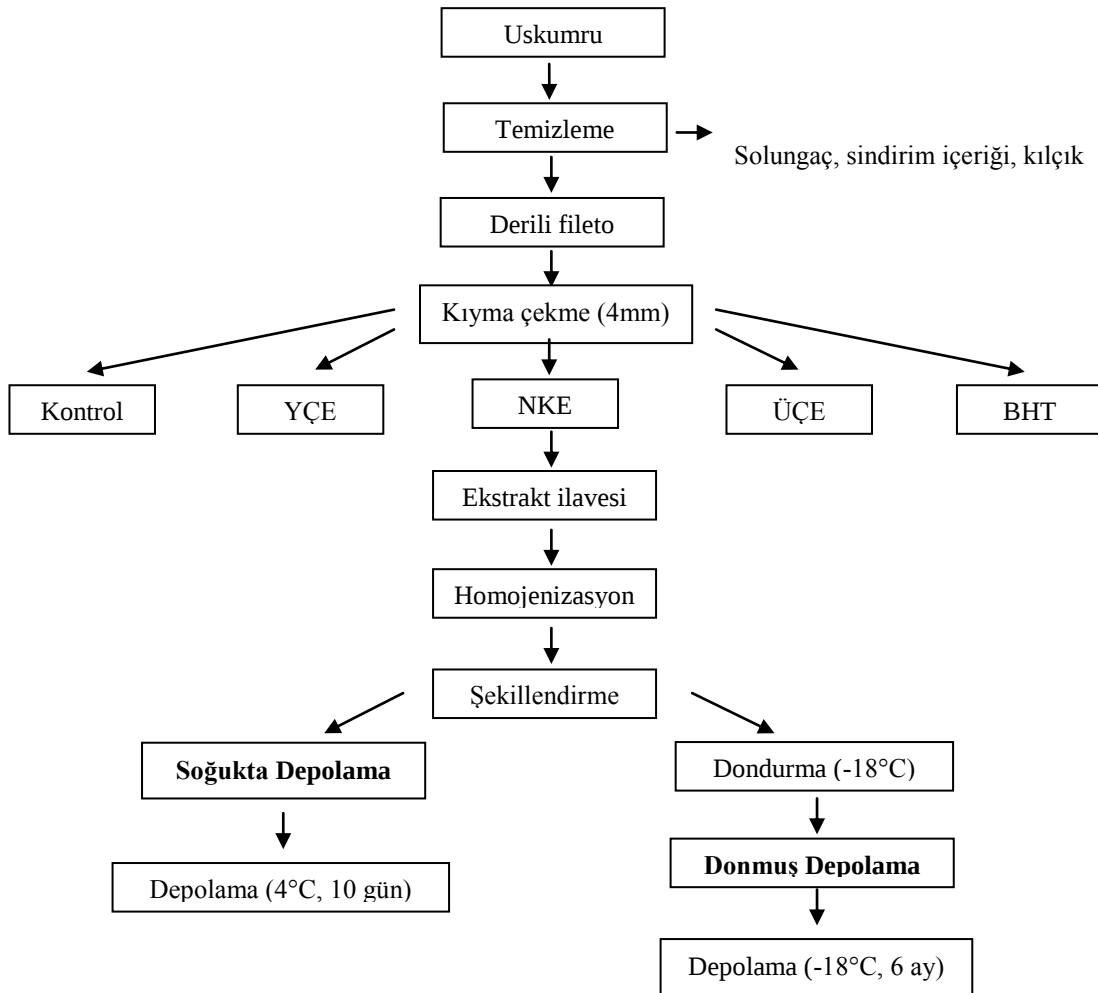
3.2.2 Soğukta ve dondurarak depolama için kıyma balık etlerinin hazırlanışı

Solungaç, sindirim içeriği, kılçık vs.den arındırılıp soğuk su ile yıkanan balıklardan derili filetolar yapılmıştır. Kıyma balık etini hazırlamak üzere elde edilen filetolar 4 mm çaplı aynadan geçirilerek kıyma haline getirilmiş ve 5 gruba ayrılmıştır. Soğukta depolama için; beş gruba ayrılan kıyma etlerin üç grubuna sırasıyla daha önceden belirlenen düzeylerde yeşil çay, nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ekstraktları, dördüncü gruba sentetik antioksidan olarak BHT ilave edilmiştir. Beşinci grubu ise antioksidan kaynağı ilavesiz kontrol grubu oluşturmuştur (Çizelge 3.1). Oluşturulan tüm gruplar homojenizasyon için beş dakika süre ile elle yoğrulmuş ve 9 cm çap ve 1.5 cm kalınlıkta (yaklaşık 90 g ağırlık) şekillendirilmiştir. Antioksidan ilave edilen ve edilmeyen şekillendirilmiş her bir grup, ayrı ayrı yüksek yoğunluklu polietilen torbalara

yerleştirildikten sonra $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün depolanmıştır (Şekil 3.2).

Çizelge 3.1 İşleme şekline göre oluşturulan gruplar

Grup	Kıyma balık eti	Fileto balık eti
1	Kontrol (antioksidansız) (K)	Kontrol (antioksidansız) (K)
2	Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)	Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)
3	Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE)	Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE)
4	Yeşil çay ekstraktı (YÇE)	Yeşil çay ekstraktı (YÇE)
5	Nar kabuğu ekstraktı (NKE)	Nar kabuğu ekstraktı (NKE)



Şekil 3.2 Kıyma balık etinin hazırlanışı

Dondurarak depolama için; soğukta depolamada anlatıldığı gibi antioksidan içeren ve içermeyen beş grup oluşturulmuştur (Çizelge 3.1). Her bir gruba ait şekillendirilmiş

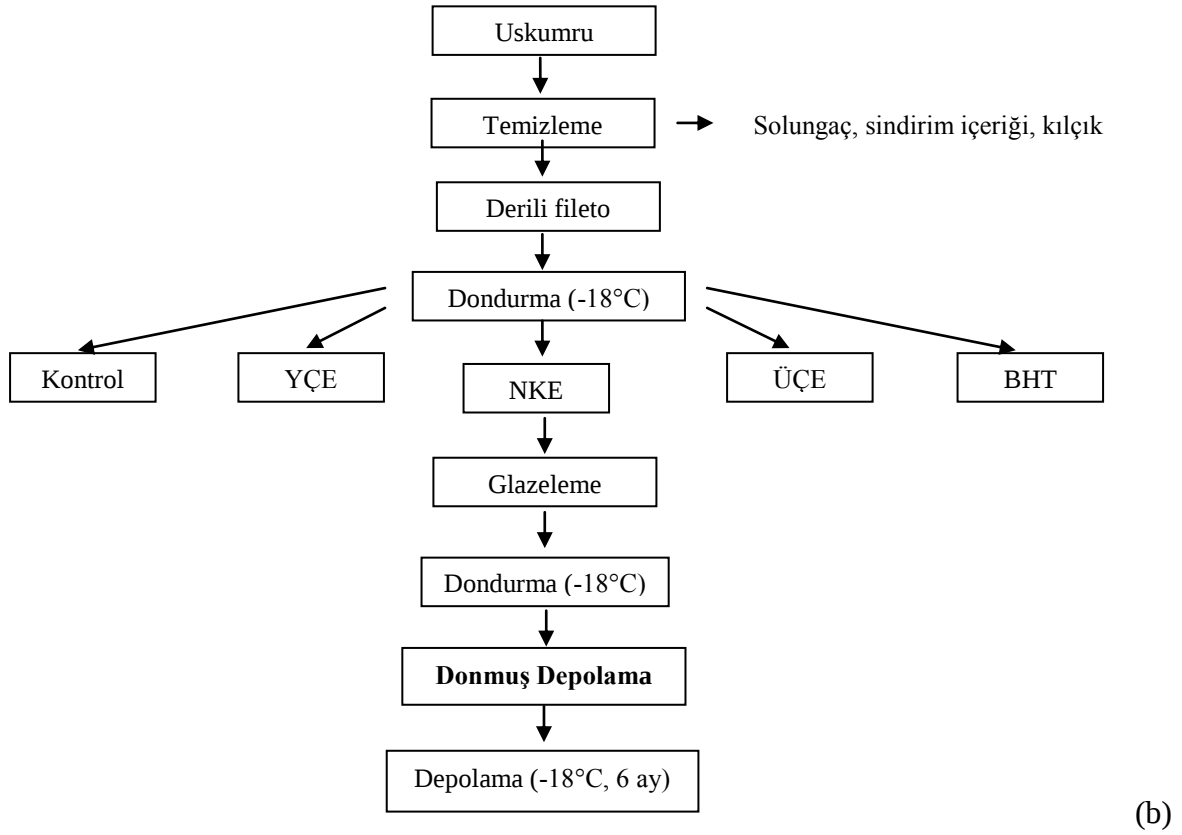
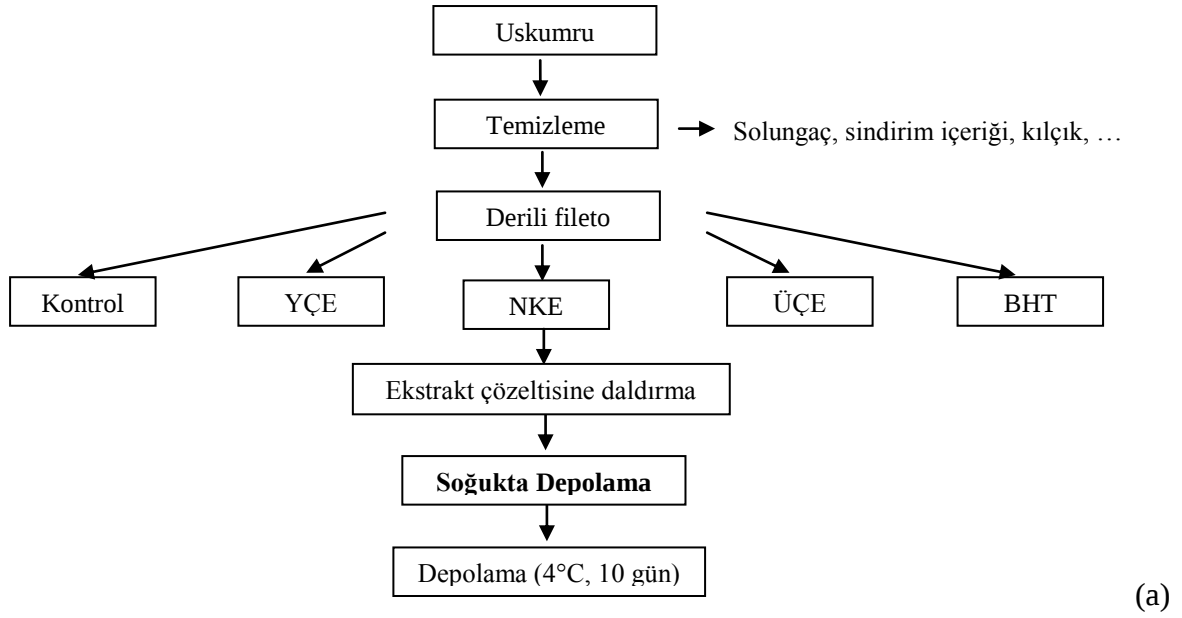
örnekler, paslanmaz çelik, delikli tepsilere dizilerek, -18°C sıcaklığa dondurulmuştur. Dondurma işlemi, hava akımlı dondurucuda (FRIGOSCANDIA LABoFREEZE, İsveç) sabit hava hızında (2.5 m/s) gerçekleştirilmiştir. Dondurma işlemi için dondurucu kabin iç sıcaklığı -35°C'ye ayarlanmış ve hazırlanan örnekler 4°C sıcaklıkta dondurucuya yerleştirilmiştir. Tepsideki örneklerden ortadaki birinin merkezine, üst ve alt yüzeylerine 3 adet thermo-couple yerleştirilerek sıcaklık düşüşü dijital göstergeli kaydedici ile takip edilmiştir. Ulaşılmak istenen son sıcaklık için dengeleme, strafor termos kaplarda yapılmıştır. Dondurulan kıyma balık grupları ayrı ayrı yüksek yoğunluklu polietilen torbalara yerleştirilerek -18°C'de 6 ay depolanmıştır (Şekil 3.2).

3.2.3 Soğukta ve dondurarak depolama için fileto balık etlerinin hazırlanması

Solungaç, sindirim içeriği, kılçık vs.den arındırılıp soğuk su ile yıkanan balıklardan derili filetolar yapılmış ve kıyma örneklerde olduğu gibi 5 gruba ayrılmıştır (Çizelge 3.1). Soğukta depolama için; bitkisel ekstrakt içeren gruplar (YÇE, NKE ve ÜÇE), filetoların absorbe ettikleri su miktarları ve bitkisel materyalin fenolik madde miktarları dikkate alınarak hazırlanan 4°C'ye soğutulmuş çözeltilere 30 saniye süre ile daldırılarak oluşturulmuştur. Dördüncü grubu tween-20 içerisinde çözündürülerek hazırlanan BHT içeren çözeltiye daldırılan fileto balıklar oluşturmıştır. Beşinci grup 4°C'deki destile suya daldırılan kontrol filetolardan oluşmuştur. Her bir gruba ait örnekler yüksek yoğunluklu polietilen torbalara yerleştirildikten sonra 4°C'de 10 gün süre ile depolanmıştır (Şekil 3.3.a).

Donmuş depolama için; antioksidan çözeltileri ve su, glazeleme ile filetolara uygulanmıştır. Bu amaçla, önce kontrol grubu filetolar paslanmaz çelik tepsilere dizilerek dondurucuda (FRIGOSCANDIA LABoFREEZE mobil dondurucu, İsveç) 1 saat süre ile dondurulmuştur. Yüzeyleri kısmen donmuş filetolar, önceden hazırlanan 4°C' deki destile suya 30 saniye daldırılarak glaze oluşturulmuş ve absorbe ettikleri su miktarı belirlenmiştir. Glaze oluşturulan filetolar bekletilmeksizin tekrar dondurucuya yerleştirilmiş ve -18°C'ye ulaşınca kadar dondurma işlemi ve dengeleme yapılmıştır. Kontrol grubu filetoların absorbe ettiği su miktarı dikkate alınarak bitkisel ekstrakt içeren (YÇE, NKE ve ÜÇE) ve BHT ile glazeli gruplar, aynı işlemler tekrarlanarak ayrı

ayrı hazırlanmıştır. Donmuş depolama için hazırlanan glazeli örnekler ayrı ayrı, yüksek yoğunluklu polietilen torbalara yerleştirildikten sonra -18°C 'de 6 ay depolanmıştır (Şekil 3.3.b).



Şekil 3.3 Fileto balık etinin hazırlanışı
a. Soğukta depolama için, b. Donmuş depolama için

3.3 Örnek Alma ve Analiz Yöntemleri

Soğukta ve donmuş depolama süresince gerçekleştirilen mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere kıyma ve fileto için her bir gruptan tesadüfi olarak ikişer parça örnek alınmıştır. Dondurulmuş örnekler buzdolabında yaklaşık 16 saat bekletilerek buz tabakası tamamen çözündürüldükten sonra, soğukta muhafaza edilen gruplardan doğrudan örnek alınarak analizlerde kullanılmıştır. Bir örnekten mikrobiyolojik analiz için steril koşullarda doğrudan örnek alınmış, diğer örnek ise öncelikle duyusal panel ve renk analizlerinde kullanılmıştır. Geriye kalan örnekler ise hızla parçalanıp homojen hale getirilerek; nem, protein, yağ, kül, pH değeri, peroksit değeri (PD), tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM), para-anisidin değeri (*p*-Ad), heme demir, toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N), trimetil amin nitrojeni (TMA-N), karbonil, sülfidril, protein çözünürlüğü ve elektroforez analizleri ile yağ asidi metil esterlerinin hazırlanmasında kullanılmıştır. Nem, protein, yağ ve kül analizleri soğukta ve dondurularak depolanan hem kıyma hem de fileto örneklerde çalışma materyalinin niteliğini belirlemek amacıyla depolamanın başlangıcında ve sonunda yapılırken diğer analizler periyodik olarak depolama süresince gerçekleştirilmiştir. Örneklerin hazırlanmasından başlamak üzere; soğukta depolanan örneklerden tüm grupların tüketilebilirlik özelliklerini yitirdikleri güne kadar (soğukta depolanan örneklerden 0.,3.,7. ve 10. günlerde), dondurularak depolanan gruplardan 6 aylık depolama süresince her ay (0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylar) örnek alınarak analizler yapılmıştır.

Araştırmada kullanılan bitkisel ekstraktlarda; toplam fenolik madde miktarı, fenolik madde kompozisyonu, antioksidan aktivite, metallerle kelat oluşturma aktivitesi ve antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır.

3.3.1 Bitkisel ekstraktlarda yapılan analizler

3.3.1.1 Toplam fenolik madde miktarı

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından

geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. Hazırlanan bitkisel ekstraktlar uygun şekilde seyreltildikten sonra 100 mL'lik bir balon joje içerisine 1 mL örnek aktarılmış, üzerine 5 mL Folin ayıracı, 75 mL destile su ilave edilmiştir. 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen karışımın üzerine 10 mL doymuş sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ilave edilmiştir. Balon joje destile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilen örneğin absorbansı spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahide karşı okunmuştur. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanmış olan standart kurvenin denklemi kullanılarak hesaplanmıştır. Örnekteki toplam fenolik bileşik miktarı "mg gallik asit/100 g ekstrakt" cinsinden ifade edilmiştir.

3.3.1.2 Antioksidanların balık etinde adsorpsiyonu

Antioksidanların balık etinde adsorpsiyonu Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen yönteme göre belirlenmiştir. Hazırlanan bitkisel ekstrakt içeren örnekler ile kontrol grubu örneklerinden 1'er g alınarak toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanmış olan standart kurvenin denklemi kullanılarak hesaplanmış, balık etine adsorbe olan antioksidan miktarı kontrol grubu ile kıyaslanarak % olarak ifade edilmiştir.

3.3.1.3 ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite tayini

Denemede kullanılan doğal antioksidan kaynaklarının antioksidan aktiviteleri Miller ve Rice-Evans (1997) ile Arts vd. (2001) tarafından önerilen yönteme göre belirlenmiştir. Bu yöntem, ABTS^{++} (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)) radikal katyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının, sentetik bir antioksidan olan Trolox'un (suda çözünen E vitamini analogu) standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağlı ölçümünü sağlamaktadır. Ölçümler, mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS^{++} radikalinin kayboluşunun spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Antioksidan aktivite tayini analizlerinde öncelikle 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, 20°C'ye ayarlı bir inkübatörde 12–16

h arasında bekletilerek, ABTS^{•+} radikalinin oluşması sağlanmıştır. Ayrıca, radikal çözeltisinin, örneklerin ve troloks standardının seyreltilmesinde kullanılacak olan PBS (fosfat tamponu; Phosphate Buffer Saline) çözeltisi hazırlanmıştır. Absorbans ölçümleri 734 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometre (Labomed UVD-3200, CA, ABD) kullanılarak yapılmıştır. ABTS^{•+} radikal çözeltisinden 990 µL mikro küvete alınarak, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltisi üzerine örnekten 10 µL ilave edilerek 6 dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri dikkate alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır. Aynı işlem sırasıyla 980 µL ABTS^{•+} radikal çözeltisi, 20 µL örnek ve 970 µL ABTS^{•+} radikal çözeltisi, 30 µL örnek kullanılarak tekrarlanmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine karşı bir grafiğe aktararak örneğe ilişkin eğri elde edilmiştir. Örneklerle uygulanan işlemler troloks standartlarına da uygulanarak troloks standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitlik belirlenmiştir. Örneklerin antioksidan aktivitesi, örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanmasıyla belirlenmiştir. Sonuçlar “TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi) değeri” olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Inhibisyon oran (\%)} = \frac{(\text{Başlangıç absorbans değeri} - 6.\text{dakika sonundaki absorbans değeri})}{\text{Başlangıç absorbans değeri}} \times 100$$

3.3.1.4 Metallerle kelat oluşturma aktivitesi

Denemede kullanılan doğal antioksidan kaynaklarının demir (Fe⁺²) ile kelat oluşturma aktiviteleri Boyer ve McCleary (1987)’nin önerdiği yöntemle göre belirlenmiştir. Hazırlanan bitkisel ekstrakt (4.7 mL, 100-200mg/L konsantrasyonda) 0.1 mL 2 mM FeCl₂ ve 0.2 mL 5 mM ferrozin ile karıştırılmış ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Oluşan rengin yoğunluğu 562 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) okunarak belirlenmiştir. Örneğin kelat oluşturma aktivitesi, şahit örnekle kıyaslanarak aşağıdaki formül kullanılarak % olarak

hesaplanmıştır:

$$\text{Metallerle kelat oluşturma aktivitesi (\%)} = \left[\frac{(A_{\text{şahit}} - A_{\text{örnek}})}{A_{\text{şahit}}} \right] \times 100$$

$A_{\text{örnek}}$: örnek çözeltisinin 562 nm'deki absorbansı,

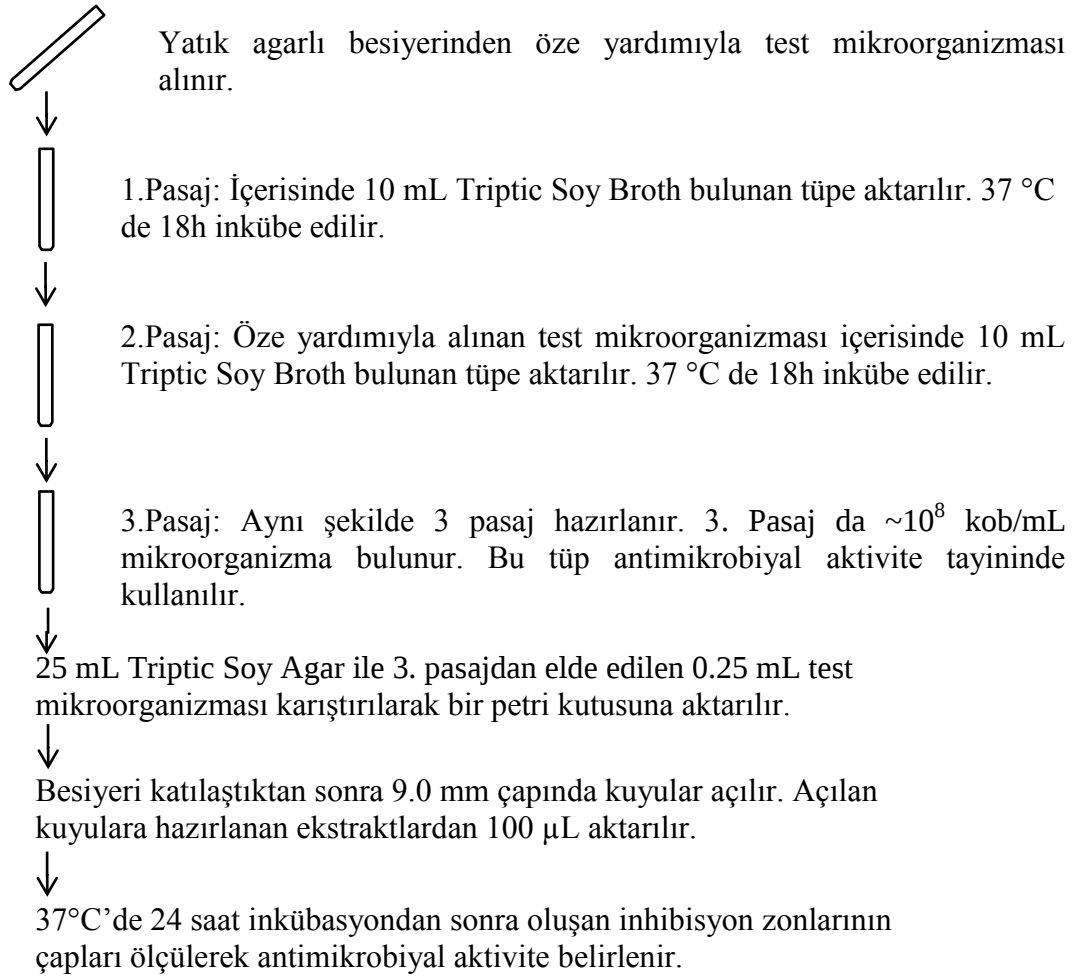
$A_{\text{şahit}}$: şahit çözeltinin 562 nm'deki absorbansı

3.3.1.5 Antimikrobiyal aktivite

Antimikrobiyal aktivite ölçümünde Lenette (1985) tarafından önerilen "kuyu difüzyon yöntemi" uygulanmıştır (Alanis vd. 2005). Üzüm çekirdeği, yeşil çay ve nar kabuğu ekstraktlarında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla patojen mikroorganizmalardan *Salmonella enterica* serotype Enteritidis (S. Enteritidis), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* türleri test mikroorganizması olarak kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan mikroorganizma türleri, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Tüm bakterilerin saflık kontrolleri yapılmış, saf olmayan kültürler saflaştırılmış ve bazı doğrulama testleri ile doğrulanmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri %20 (v/v) gliserol stok kültürü olarak -25°C'de uzun süreli olarak saklanmıştır. Bu bakteriler tryptic soy agar (TSA) (Merck, Darmstad, Almanya) ile hazırlanan yatık agarlı besiyerinde 4-8°C'de stok kültür olarak saklanmış ve antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde standart inokulum hazırlanması amacıyla aktifleştirilerek kullanılmıştır. Analizde kullanılacak mikroorganizmalar öncelikle aktifleştirilmiştir (Şekil 3.6).

Mikroorganizmalardan standart inokulum hazırlamak amacıyla, her bir mikroorganizma türü tryptic soy broth (TSB) besiyerinde (Anonymous 1998) 35°C' de inkübe edilmiş ve kültür yaklaşık 10^8 KOB/mL konsantrasyona ayarlanarak antimikrobiyal aktivite analizinde kullanılmıştır. Hazırlanan standart mikroorganizma inokulumdan 42-45°C sıcaklığa ayarlanan steril tryptic soy agar (TSA) besiyerine % 1 oranında karıştırılarak

12 mm çaplı petrilere aktarılmıştır. Besiyerinin katılaşmasını takiben besiyerinde 9.0 mm çaplı bir mantar delici ile kuyular açıldıktan sonra, kuyucuklara ekstrakt örnekleri 100 µL aktarılmıştır. Kontrol grubunu oluşturmak amacıyla da siprofiloksasin (CIP) (antimikrobiyal madde) tabletleri kullanılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 37°C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir.



Şekil 3.4 Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi ve antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

3.3.1.6 Fenolik madde dağılımı

Bitkisel antioksidan kaynakları kullanılarak hazırlanan sulu ekstraktlar, asitlendirilmiş su (%0.01 HCl içeren) ile yıkanarak 10 mL’lik ölçü balonuna alınmıştır. Balondaki

çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden filtre edilmiş ve böylece bundan sonra yapılacak saflaştırma işleminin etkinliği artırılmıştır. Işığın bileşenler üzerindeki olumsuz etkisini azaltmak için, ekstraktlar amber renkli şişelere aktarılmıştır.

Saflaştırma

Elde edilen ekstraktan; şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki dolgu maddesinin (sorbentin, 200 mg) antosiyaninlerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırılma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş metanol ve son olarak da 2 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su geçirilmiştir. Ekstraksiyona hazır hale getirilen kolona, saflaştırılacak bileşeni içeren 1 mL ekstrakt yüklenmiş ve daha sonra 2 mL asitlendirilmiş suyla elüe edilmiştir. Böylece bu elüsyon ile organik asitler, şekerler ve suda çözünür nitelikteki diğer bileşikler gibi analizi interfere eden bileşikler uzaklaştırılırken, antosiyaninler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters, Milford, MA, A.B.D.) yararlanılmıştır. C-18 Sep-Pak kolonu, 3 dakika süresince N₂ gazı akımında tutularak kalıntının kuruması sağlanmıştır.

Fenoliklerin saflaştırması

Bu amaçla N₂ gazı altında kurutulmuş C-18 Sep-Pak kolonu, 2 mL etil asetat ile yıkanarak fenolikleri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Fenolikleri içeren bu ekstrakt bir evaporasyon tüpüne alınıp, 35°±0.1°C'deki su banyosunda (Memmert WB 14, Schwabach, Almanya), N₂ gazı altında kurutularak asitlendirilmiş metanol uzaklaştırılmıştır. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek yeniden çözündürülmüştür. Fenolikleri içeren bu çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden filtre edilerek, HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Hesaplama

Fenolik tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında “yüksek performanslı sıvı kromatografi” cihazından (HPLC, Agilent 1200 serisi, Waldbronn, Almanya) yararlanılmıştır. Kullanılan HPLC sistemi; ikili (binary) pompa, foto diyoderey dedektörü (PDA, photo dioderay dedector), +4°C’ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyici (auto-sampler), gaz giderici (degasser) ve kolon fırınından (thermostatted column compartment) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramlar "ChemStation rev.B.02.01" yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

Kromatografi koşulları :

Kolon : Ters faz (reverse phase) C₁₈ kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)

Koruyucu kolon : C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)

Akış hızı : 0.7 mL dak.⁻¹

Elüsyon süresi : 85 dak.

Enjeksiyon hacmi : 30 µL

Dalga boyu : 280, 320 ve 360 nm

Hareketli faz (mobile phase) : Asetonitril (%100) (A) ile %1 formik asit (B) karışımı.

Gradyent akış söz konusu olup, Chaovanalikit ve Wrolstad (2004) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızdan modifiye edilerek uygulanmıştır.

HPLC ile toplam fenolik miktarının belirlenmesi, materyaldeki piklerin alanları hesaplandıktan sonra, başat pike ait standart eğri esas alınmak suretiyle yapılması önerilmektedir (Yemiş ve Özkan 2007). Bu çalışmada da, bitkisel antioksidan kaynaklarının HPLC ile toplam fenoliklerin belirlenmesinde, gallik asit cinsinden hesaplama yapılmıştır.

3.3.2 Balık etinde yapılan analizler

3.3.2.1 Kimyasal bileşim

Nem miktarı için, yaklaşık 5 g örnek, daha önce sabit ağırlığa getirilmiş ve darası alınmış kaplara tartıldıktan sonra 105 °C'deki etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Nem miktarı meydana gelen ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

Protein miktarı analizi için, örneklerin % azot miktarları makro Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiş ve 6.25 faktörü ile çarpılarak % protein miktarı hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

Kül miktarı tayini için, yaklaşık 3 g örnek, önceden sabit ağırlığa getirilen ve darası alınan kül krozesine tartılmış ve kül fırınında sıcaklık kademeli olarak artırılarak, 550 °C'de gri-beyaz renk alana kadar yakılmıştır. Kül miktarı, meydana gelen ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

Balık etinden yağ, Bligh ve Dyer (1959) tarafından önerilen ve Lee vd. (1996) tarafından modifiye edilen soğuk ekstraksiyon yöntemine göre ekstrakte edilmiştir. Homojen hale getirilmiş örnekten 5 g Eberbach homojenizatörüne (EF22337B 8581, ABD) tartılıp, üzerine 50 mL kloroform/metanol (2:1) çözeltisi ilave edilerek 2 dakika süre ile karıştırılmıştır. İçerik, ayırma hunisine Whatman No.4 filtre kağıdından filtre edilmiştir. Filtrede kalan kısım bir kez daha 50 mL daha kloroform/metanol (2:1) çözeltisi ile 1 dakika süre ekstrakte edilmiş ve filtre edilmiştir. Filtratı iki faza ayırmak için (metanol-su ve kloroform) 20 mL % 0.5'lik NaCl çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım, düşük sıcaklıkta (4°C) bekletilerek kloroform ve metanol fazının ayrımı sağlanmıştır. Kloroform fazı dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Örneğin toplam yağ miktarını belirlemek için, 10 mL kloroform fazı, daha önceden darası alınmış bir behere pipetlenip, düşük ayardaki ısıtıcı üzerinde kloroform evapore olana kadar bekletilmiştir. Beher bir süre desikatörde bekletilerek soğutulduktan sonra tartılmıştır. Bu şekilde 10

mL kloroform fazı içerisinde bulunan yağ miktarı belirlenmiştir. Ekstrakte edilen yağ miktarı ve teorik kloroform hacmi kullanılarak örneğin içerdiği % yağ miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Lipid miktarı (\%)} = \frac{\text{Ekstrakte edilen lipid (g)}}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times \frac{\text{Teorik kloroform hacmi (ml)}}{10 \text{ ml}} \times 100$$

3.3.2.2 pH değeri

10 g örnek, 100 mL destile su ile homojen hale getirildikten sonra (IKA-Ultra Turrax T25, Almanya) pH değeri, uygun tamponlarla (pH 4 ve pH 7 tampon) kalibre edilmiş pH metre (Hanna HI 221, İtalya) ile potansiyometrik olarak belirlenmiştir.

3.3.2.3 Enstrümental renk

Örneklerin yüzey renkleri, Minolta renk ölçüm cihazı (Minolta CR-300, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Renk ölçümünde kullanılacak dondurulmuş örnekler buzdolabında bir süre bekletilerek buz tabakası tamamen çözündürüldükten sonra yüzeyden renk ölçümü yapılmıştır. Soğukta muhafaza edilen örneklerde ise doğrudan yüzeyden renk ölçümü yapılmıştır. Renk okumaları örneklerin yüzeyinden üç farklı noktada yapılmıştır. Ölçüm sonucunda CIE L* (parlaklık), a* (kırmızılık), b* (sarılık) değerleri belirlenmiştir. a* ve b* değerleri kullanılarak, C* (chroma, renk yoğunluğu) ve h°(hue, renk açısı) değerleri hesaplanmıştır ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$).

3.3.2.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı

Hem kıyma hem de fileto halde hazırlanan örneklerden aseptik koşullarda 10 g alınıp, steril Stomacher poşetlere konulmuş ve üzerine 90 mL steril peptonlu fizyolojik tuzlu su

(% 1 pepton, % 0.5 NaCl) ilave edilerek, stomacherde (Seward 400 Londra, İngiltere) 230 rpm’de 2.5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenattan steril peptonlu fizyolojik su ile ardışık dilüsyonlar hazırlanarak, mikrobiyolojik ekimlerde kullanılmıştır. Steril koşullar laminar akışlı kabinde (Spasciani Air Filter, İtalya), UV-lamba altında sağlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan steril petri kutularına dökme yöntemiyle ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak Plate Count Agar (Merck) kullanılmış, petriler 4°C’de 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 15-300 arasında koloni içeren petriler sayılmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçları log KOB/g et olarak verilmiştir (Anonymous 1998).

3.3.2.5 Heme demir miktarı

Heme demir içeriği Gomez-Basauri ve Regenstein (1992)’nin önerdiği ve Majsood ve Benjakul (2010)’un modifiye ettiği yöntemle göre belirlenmiştir. Bunun için 2 g örnek, 50 mL’lik polipropilen santrifüj tüpüne tartılmış ve üzerine 20 mL soğutulmuş 40 mM fosfat buffer (pH 6,8) ilave edilmiştir. Karışım Ultra Turraks’da (IKA T25, Almanya) 13500 rpm’ de 10 saniye homojenize edildikten sonra elde edilen homojenat, soğutmalı santrifüjde (Hermle Z326K, Almanya) 3000xg’de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Supernatant, Whatman no. 1’den filtre edildikten sonra filtratın 525 nm’ye ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı absorbansı belirlenmiştir. Şahit olarak soğutulmuş 40 mM fosfat buffer (pH 6.8) kullanılmıştır. Toplam heme demir miktarı, miyogloblin içeriği olarak, milimolar ekstinksiyon katsayısı $7.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ve miyogloblinin molekül ağırlığı 16110 dalton dikkate alınarak hesaplanmıştır. Heme demir içeriği, miyogloblin üzerinden ve miyogloblinin % 0.35 demir içerdiği kabul edilerek hesaplanmış ve örneğin heme demir içeriği “mg heme demir/100 g et” olarak ifade edilmiştir.

$$C = \frac{Abs}{\epsilon \times l}$$

C: Miyogloblin konsantrasyon (mg/100g et)

ϵ : Ekstinksiyon katsayısı ($7,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

l : Işık yolu uzunluğu (1 cm)

Abs : 525 nm dalga boyunda belirlenen absorbands değeri

3.3.2.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı

Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı, Goulas ve Kontominas (2005) tarafından önerilen yönteme göre belirlenmiştir. Homojen hale getirilen balık etinden 10 g tartılıp ve 50 mL destile su ile Waring blenderda homojenize edilmiştir. Karışım 200 mL destile su kullanılarak kjeldahl balonuna aktarıldıktan sonra üzerine 2 g magnezyum oksit (MgO) ilave edilmiş ve köpürmeyi önlemek amacıyla 1-2 damla silikon yağı damlatılmıştır. Destilasyon  nitesinin çıkış borusuna, içerisinde 25 mL %3'l k borik asit ve 0.04 mL metil kırmızı/s/metilen mavisi indikatörü ilave edilmiş 250 mL'lik erlenmayer yerleştirilerek destilasyon başlatılmıştır. Destilasyon işlemine erlenmayerde 125 mL destilat toplanıncaya kadar devam edildikten sonra elde edilen destilat, 0.1 N HCl   zeltisi ile titre edilmiştir. Örnekteki TVB-N miktarı "mg/100g et" olarak hesaplanmıştır.

$$TVB - N = \frac{V \times N \times 14 \times 100}{10}$$

V: Titrasyonda harcanan HCl miktarı (mL)

N: Titrasyonda kullanılan HCl'nin normalitesi

3.3.2.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı

Trimetilamin nitrojeni miktarı, Boland ve Paige (1971)'in önerdiği yönteme göre belirlenmiştir. Homojenize hale getirilen 10 g örnek, 90 mL % 7.5'lik triklorasetik asit ile karıştırılmış, 4 mL homojenat bir test t p içerisine aktarılmıştır.  zerine 1 mL formaldehit, 10 mL susuz toluen ve 3 mL potasyum karbonat çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. T p içerisinden 5 mL toluen fazı alınarak bir başka test tüpüne aktarılmış, üzerine 5 mL pikrik asit çalışma çözeltisi (%0.02'lik) ilave edilmiştir. İçerik

vorteks (IKA MS3 Basic, Almanya) yardımıyla karıştırıldıktan sonra 410 nm'ye ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı okunmuştur. TMA-N miktarı, hazırlanan TMA standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

Standart eğrinin hazırlanmasında trimetilamonyum hidroklorür (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Trimetilamonyum hidroklorür kullanılarak 1mg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözeltiden bir dizi seyreltme yapılarak hazırlanan çalışma çözeltilerine örneğe uygulanan işlemler tekrarlanmış, standartların pikrik asit ile reaksiyonu sonucunda verdikleri rengin yoğunluğu, 410 nm'ye ayarlı spektrofotometrede şahite karşı belirlenmiştir. Trimetilamonyum hidroklorür konsantrasyonuna karşı 410 nm'deki absorbans değerleri bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen doğrunun denklemi kullanılarak örneklerin TMA-N miktarları “mg/100g et” olarak hesaplanmıştır.

3.3.2.8 Duyusal değerlendirme

Hazırlanan kıyma ve fileto örnekler soğukta (0., 7. ve 10 günlerde) ve donmuş (0.gün, 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarda) depolama süresince çiğ olarak duyusal analize tabi tutulmuştur. Örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Panelistler değerlendirilecek kriterler konusunda bilgilendirilmiş olup, depolama süresince değerlendirmenin aynı panelistler tarafından yapılması sağlanmıştır. Duyusal değerlendirme için kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Örnekler iyice havalandırılmış duyusal analiz laboratuvarında, sarı ışık altında taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel kokular yönlerinden değerlendirilmiştir. Değerlendirmede 10 puanlı hedonik skala kullanılmış, 10 puan özelliğin hiç algılanmadığını, 0 puan ise hiç yoğun olarak algılandığı kabul edilmiştir (Eymard vd. 2009). Duyusal değerlendirmede kullanılan form EK 1'de verilmiştir.

3.3.2.9 Peroksit değeri (PD)

Peroksit değeri (PD), International Dairy Federation (IDF) tarafından önerilen yöntemle

göre belirlenmiştir (Shantha ve Decker 1994). Peroksidasyon derecesine göre, 3.3.2.1’de anlatıldığı şekilde ekstrakte edilen yağdan 0.01-0.30 g test tüpü içerisine alınarak üzerine 9.8 mL kloroform:diklorometan (2:1 v/v) çözeltisi ilave edilmiştir. Vortekste (IKA MS3 Basic, Almanya) 2-4 saniye karıştırıldıktan sonra üzerine amonyum tiyosiyanat çözeltisinden 50 µL ilave edilerek 2-4 saniye vortekslenmiştir. Üzerine 50 µL demir (II) çözeltisi eklenerek tekrar 2-4 saniye karıştırılmıştır. İçerik oda sıcaklığında ve karanlıkta 5 dakika bekletildikten sonra absorbansı, 500 nm’ye ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı belirlenmiştir. Peroksit değeri, hazırlanan standart eğri kullanılarak “meq aktif O₂ / kg lipid” olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Peroksit değeri (PD)} = \frac{1000 \times Abs}{4,421 \times m}$$

m: Analizde kullanılan örnek miktarı (mg)

Abs: 500 nm dalga boyunda belirlenen absorbans değeri

4.421: standart eğrinin eğimi

1000: mg örnek miktarını kg’ a dönüştürmek için kullanılan sabit

3.3.2.10 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı

Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı, McDonald ve Hultin (1987) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Bunun için 0.5 g örnek 15 mL destile su ile homojen hale getirilmiştir. Homojenattan 1mL alınmış ve içerisine önceden 2mL TCA-TBA-HCl çözeltisi konulan test tüplerine ilave edilerek vortekslenmiştir (IKA MS3 Basic, Almanya). Tüpler, 15 dakika kaynar su banyosunda inkübe edilmiş, hızla oda sıcaklığına soğutulmuş ve 1000xg’de 10 dakika santrifüjlendikten (Hettich, rotofix II, İngiltere) sonra, absorbansı 532 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı belirlenmiştir. Şahit çözelti 1mL destile su ve 2 mL TCA-TBA-HCl çözeltisinden oluşmaktadır. Örneğin malonaldehit konsantrasyonu, molar ekstinksiyon sabitesi 1.56x10⁵ M⁻¹cm⁻¹ kullanılarak hesaplanmış

ve sonuçlar “mg malondialdehit/kg et” olarak verilmiştir.

$$\text{TBARM (mg MDA/kg örnek)} = (\text{Abs} \times \text{M} \times \text{V} \times 1000) / (\epsilon \times \text{l} \times \text{m})$$

Abs: 532 nm dalga boyunda belirlenen absorbans değeri

V: Seyreltilen örnek hacmi (mL)

ϵ : Ekstinksiyon sabiti ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

M: Malondialdehitin molekül ağırlığı (72 g/mol)

m: Analizde kullanılan örnek miktarı (g)

l : Küvetin ışık yolu uzunluğu (1cm)

3.3.2.11 *para*-Anisidin değeri (*p*-Ad)

para-Anisidin değeri (*p*-Ad), Anonymous (1989) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla 0.5 g yağ örneği 25 mL hekzan içerisinde çözündürülmüş ve karışımın absorbansı 350 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede hekzana karşı okunmuştur (A_1). Elde edilen karışımdan 5 mL bir başka test tüpü içerisine alınmış ve üzerine 1 mL *para*-anisidin ayırıcı ilave edilmiştir. Homojen hale getirilmek amacıyla vorteks (IKA MS3 Basic, Almanya) ile karıştırılan tüpler oda sıcaklığında 10 dakika karanlıkta bekletildikten sonra, 350 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı okunarak absorbans değeri belirlenmiştir (A_2). Şahit çözelti 5 mL hekzan ve 1 mL *para*-anisidin ayırıcından oluşmuştur. *p*-Ad, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$p\text{-Ad} = 25(1.2(A_2 - A_1)) / \text{Örnek Ağırlığı}$$

3.3.2.12 Yağ asidi kompozisyonu

Yağ asitleri dağılımının belirlenmesi için öncelikle yağ örneği, Anonymous (1987) tarafından önerilen yöntem kullanılarak esterleştirilmiştir. Bunun için 0.4 g yağ örneği 4 mL izo-oktan içerisinde çözündürülmüştür. Üzerine 0.2 mL metanollü KOH

çözeltilisinden eklenmiş, 30 saniye karıştırılmış ve 6 dakika karanlık ortamda bekletilmiştir. Üzerine 1-2 damla metil-oranj indikatörü ve 0.45 mL 1N HCl eklenerek kuvvetle karıştırılmış ve faz ayrımı için oda koşullarında 30 dakika bekletilmiştir. Üstteki berrak faz, metil ester şişelerine alınmış ve kromatografiye verilinceye kadar -40°C’de depolanmıştır. Şişelerden gaz kromatografi cihazının otomatik enjektörüyle 1 µL alınıp gaz kromatografisi cihazında pikler saptanmıştır. Örneklerden elde edilen pikler, yağ asitleri standart pikleriyle karşılaştırılarak tanımlanmış ve örneğin yağ asidi kompozisyonu % olarak belirlenmiştir.

Gaz kromatografisi ve çalışma koşulları aşağıda belirtilmiştir:

Alet :	Shimadzu GC-2010
Dedektör :	FID, 260°C
Kolon :	Supelco Omegawax™ 320 (30m uzunluk x 0.32mm kalınlık x 0.25µm çap)
Fırın çalışma sıcaklığı :	200°C (60 dakika) İzotermal
Taşıyıcı gaz :	Helyum, 200°C’ de 25cm/saniye
Split :	100:1, 1.0µL, 250°C

3.3.2.13 Toplam karbonil miktarı

Protein oksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilen toplam karbonil miktarı tayini Zakrys vd. (2008) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. Bu amaçla, 2 g et örneği 20 mL 0.15 M KCl buffer ile 1 dakika 13500 devir/dakika hızda çalışan Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile homojene edilmiştir. Bu karışımdan 45 µL alınmış ve içinde 1 mL %10’luk (w/v) TCA bulunan iki eppendorf vialine aktarılmıştır. Vialler 5000xg’de 5 dakika santrifüjlenmiştir (Hermle Z326K, Almanya). İşlem sonunda supernatant uzaklaştırılmıştır. Viallerden birine 1 mL 2 M HCl’de hazırlanmış %0.2 DNPH (2,4- dinitrophenilhydrazin, Merck) çözeltisi, diğerine ise 1mL 2M HCl ilave edilmiştir. Hazırlanan vialler 20 dakikada bir vorteksle (IKA MS3 Basic, Almanya) karıştırılarak 1 saat süre ile oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra viallere 0.60 mL %10’luk TCA çözeltisi ilave edilerek 5000xg’de 5 dakika süre ile

santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonrasında pelletin bozulmamasına dikkat edilerek supernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen pelletler 1 mL etil asetat: etanol (1:1, v:v) çözeltisi ile yıkanarak, 10000xg'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. İşlem sonunda supernatant uzaklaştırılmıştır. Etil asetat: etanol ile yıkama işlemi üç kez tekrarlanmış ve DNPH kalıntısı tamamen uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde elde edilen pelletler N₂ gazı altında kurutulmuştur. Kurutulmuş pellet üzerine 1.5 mL 20 mM sodyum fosfat bufferda hazırlanmış 6 M guanidin hidroklorür buffer (pH 6.5) ilave edilmiş, vorteks (IKA MS3 Basic, Almanya) yardımıyla tekrar karıştırılan örnekler 5000xg'de 5 dakika tekrar santrifüjlendikten sonra 370 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) sodyum fosfat bufferda hazırlanmış guanidin hidroklorür çözeltisine karşı okuma yapılarak absorbans değerleri belirlenmiştir. Toplam karbonil miktarı 21.0 mM⁻¹cm⁻¹ molar ekstinksiyon katsayısı ve örneğin protein içeriği kullanılarak hesaplanmıştır. Örneklerin toplam karbonil miktarları “nmol karbonil/mg protein” olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Karbonil miktarı} \left(\frac{\text{nmol karbonil}}{\text{mg protein}} \right) = \frac{\text{Abs}(370)}{\epsilon \times l} \times \frac{1000}{\text{mg protein/ml}}$$

Absorbans(370) = (DNPH içeren örnek absorbansı) - (HCl içeren örnek absorbansı)

ε: ekstinksiyon sabiti (21.0 mM⁻¹.cm⁻¹)

l : küvetin ışık yolu uzunluğu (1cm)

1000: mmol'ü nmol' e çevirmek için kullanılan katsayı

mg protein/mL : analizde kullanılan 1 ml et/KCl karışımının yapısında bulunan protein miktarı (mg)

3.3.2.14 Toplam sülfidril miktarı

Toplam sülfidril (tiol) içeriği, Ellman (1959) yöntemi olarak bilinen ve 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) kullanılarak, Srinivasan ve Hultin (1995) tarafından modifiye edilen yöntemle göre belirlenmiştir. Analiz için, 1 g balık eti 50 mL soğuk destile su ile yüksek hızda (13500 devir/dakika) Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile 1 dakika homojenize edilmiştir. 10 mL sıvı homojenat 10 mL üre buffer ile

kariştırılmıştır. Bu kariştımdan iki disposable spektrofotometre küvetine birer mL aktarılmıştır. Kvetlerden biri referans için kullanılırken diğeri örnek absorbansını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Referans hazırlanırken küvete 2 mL 0.1 M potasyum fosfat buffer (pH 7.4) tampon çözelti ve 0.5 mL üre buffer (pH 8.0) zelteleri ilave edilmiştir. rnek absorbansı için ise ikinci küvete 2 mL 0.1 M potasyum fosfat bffer (pH 7.4) ve 0.5 mL üre bufferda (pH 8.0) hazırlanmış 10 mM 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) (Ellman reaktifi) zelteleri ilave edilmiştir. Kvet içeriğİ kariştırıldıktan sonra referans ve örnek şahit çözeltilerine karşı 412 nm’ye ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) okunmuştur. Referans şahidi olarak 3 mL 0.1 M potasyum fosfat buffer (pH 7.4) ve 0.5 mL üre buffer (pH 8.0) karişımı kullanılmıştır. rnek şahidi olarak ise 3 mL 0.1 M potasyum fosfat buffer (pH 7.4) ve 0.5 mL üre bufferda (pH 8.0) hazırlanmış 10 mM 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) (Ellman reaktifi) zeltisi karişımı kullanılmıştır. Sülfidril grubu konsantrasyonu molar ekstinksiyon sabiti 11400 M⁻¹cm⁻¹ ve örneğİn protein içeriğİ kullanarak hesaplanmıştır. Sonuçlar “nmol sülfidril/mg protein” olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Sülfidril miktarı} \left(\frac{\text{nmol sülfidril}}{\text{mg protein}} = \frac{\text{Abs}(412) \times 10^6}{\epsilon \times l} \right) \times \frac{1}{\text{mg protein/ml}}$$

Absorbans(412) = (rnek absorbansı) – (Referans absorbansı)

ϵ : ekstinksiyon sabiti (11400 M⁻¹cm⁻¹)

l : küvetin ışık yolu uzunluğİ (1cm)

10⁶: mol’ nmol’e çevirmek için kullanılan katsayı

mg protein/mL : analizde kullanılan 1 mL et/destile su karişımının yapısında bulunan protein miktarı (mg)

3.3.2.15 Protein znrlğ

Toplam protein znrlğ (TP), sarkoplazmik protein znrlğ (SP) ve miyofibrilar protein znrlğ (MP), Farouk ve Swan (1998) tarafından önerilen yönteme göre belirlenmiştir. Toplam protein çözünürlüğü için, 2 g et rneğİ santrifüj

tüpüne tartılmış, üzerine 20 mL buzda soğutulmuş, 0.1 M fosfat bufferda (pH 7.4) hazırlanmış 1.1 M'lık potasyum iyodür çözeltisi eklenmiştir. Et ve buffer 1 dakika süre ile 13500 devir/dakika'da Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Tüpler 6000xg'de ve 4°C'de (Hermle Z326K, Almanya) 15 dakika santrifüjlendikten sonra supernatantın protein konsantrasyonu Biüre yöntemi (Gornall vd. 1949) ile belirlenmiştir. Sarkoplazmik protein çözünürlüğü için 2 g et örneği santrifüj tüpüne tartılmış, üzerine 20 mL buzda soğutulmuş, 0.025 M fosfat buffer (pH 7.4) eklenmiştir. Et ve buffer 1 dakika süre ile 13500 devir/dakika'da Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Tüpler 6000xg'de ve 4°C'de 15 dakika santrifüjlendikten sonra supernatantın protein konsantrasyonu Biüre yöntemi (Gornall vd. 1949) ile belirlenmiştir. Toplam çözünür protein miktarından sarkoplazmik protein çözünürlüğü çıkarılarak miyofibrillar protein çözünürlüğü tespit edilmiştir.

3.3.2.16 Biüre yöntemiyle protein miktarının belirlenmesi

Örneklerin Biüre yöntemi ile protein içeriği, Gornall vd. (1949) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. 1g et örneği üzerine 20 mL 0.1M NaOH çözeltisi ilave edilmiş ve Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Homojenize örnekten 0.5 mL test tüpü içerisine aktarılmış, üzerine 1.0 mL 0.1 M NaOH ve 4 mL biüre çözeltisi ilave edildikten sonra vorteks (IKA MS3 Basic, Almanya) ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika süre ile bekletilen örneğin 540 nm'deki absorbens değeri, şahide karşı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) okunarak tespit edilmiştir. Şahit olarak 1 mL 0.1 N NaOH ve 4 mL biüre çözeltisinden oluşan karışım kullanılmıştır. Protein konsantrasyonunun belirlenmesinde albümin (Bovine, Sigma) (BSA) ile hazırlanmış standart kurve kullanılmıştır. Standart kurvenin denklemi kullanılarak analiz örneğinin BSA cinsinden protein miktarı belirlenmiştir.

3.3.2.17 Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroförez (SDS-PAGE)

3.3.2.17.1 Miyofibrilar proteinlerin ekstraksiyonu

Kıyma ve fileto haldeki uskumru örneğinden 5 g, alınmış, 40 mL 0.03M potasyum fosfat buffer (pH 7.4) ile Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) kullanılarak 13500 devir/dakika hızda 2 dakika homojene edilmiştir. Karışım, 10000xg'de 20 dakika 4°C'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen berrak supernatant sarkoplazmik proteinleri içermektedir. Supernatant ortamdan uzaklaştırılmış ve altta kalan pelletten miyofibrilar proteinler elde edilmiştir. Bu amaçla, pellet 40 mL 8M üre (%1 β -merkaptoetanol içeren) çözeltisi ile 2 dakika Ultra Turraks (IKA T25, Almanya) ile 13500 devir/dakika'da 2 dakika homojene edilmiştir. Karışım 10000xg'de 20 dakika 4°C'de santrifüjlenmiştir. Supernatant miyofibriler proteinleri içermektedir. Supernatantın protein konsantrasyonu Biüre yöntemi (Gornall vd. 1949) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.2.17.2 Jel hazırlama ve geliştirme

Protein ekstraktlarının konsantrasyonları SDS-PAGE örnek tamponu kullanılarak 2 mg/mL'ye ayarlanmıştır. Örnekler elektroförez öncesi kaynar su banyosunda 5 dakika süre ile ısıtılmış, jel kuyucuklarına 20 μ L örnek enjekte edilerek yükleme yapılmış, geliştirme işlemi yükleme jelinden ayırma jeline geçene kadar 15 mA sabit akımda, ayırma jeline geçtikten sonra ise 30 mA sabit akımda gerçekleştirilmiştir. Jel hazırlama ve geliştirme işlemi, 10x10 cm boyutlarında, dikey jel tankı (CLP vertical mini gel, ABD) ve güç kaynağı (CLP Power supplies, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

Miyofibriler proteinlerin geliştirilmesinde %4'lük yükleme ve %12'lik ayırma jeli kullanılmıştır. Jeller, Laemmli (1970)'nin yöntemine göre hazırlanmış ve geliştirilmiştir. Protein bantlarının tanımlanmasında yüksek (SDS6H2) ve düşük (SDS-7) molekül ağırlığına sahip protein standardı karışımları kullanılmıştır (Sigma-Aldrich

Chemie, ABD).

Yüksek moleköl ağırlıklı protein standardı (200 000-30 000 Dalton aralığında)

200 000 : Domuzdan elde edilen miyosin

116 000 : *E.coli*'den elde edilen β -galaktozidaz

97 000 : Tavşan kasından elde edilen fosforilaz b

66 000 : Sığır serumundan elde edilen albumin

45 000 : Tavuk yumurtasının akından elde edilen ovalbumin

29 000 : Sığır eritrositlerinden elde edilen karbonik anhidraz

Düşük moleköl ağırlıklı protein standardı (66 000-14 000 Dalton aralığında)

66 000 : Sığırdan elde edilen albumin

45 000 : Yumurtadan elde edilen albumin

36 000 : Tavşan kasından elde edilen gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz

29 000 : Sığırdan elde edilen karbonik anhidraz

24 000 : Sığır pankreasından elde edilen tripsinojen

20 100 : Soyadan elde edilen tripsin inhibitörü

14 200 : İnek sütünden elde edilen α -laktalbümin

3.3.3 İstatistik analiz

Denemede depolama süresince, kıyma ve fileto şeklinde hazırlanan soğukta ve donmuş olarak depolanan uskumru balıklarında ilave edilen antioksidanların etkileri tesadüf parselleri deneme tertibinde faktöriyel düzende varyans analizi tekniği uygulanarak değerlendirilmiştir. Çalışmada her bir depolama yöntemi için kıyma ve fileto etler ayrı ayrı; muamelelerin beş seviyesine (üzüm çekirdeği, yeşil çay, nar kabuğu, BHT ve kontrol) ve depolama süresinin seviyelerine bağlı olarak değerlendirilmiştir (Soğukta depolanan kıyma ve fileto örnekler için depolama süresinin seviyeleri: 0., 3., 7., ve 10. günler iken, donmuş depolama için depolama süresinin seviyeleri: 0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. Aylardır.). Araştırma sırasında elde edilen veriler, deneme desenine uygun olarak hazırlanan tablolar halinde Minitab® paket programında varyans analizine tabi

tutulmuştur. Varyans analizi sonucuna göre gruplar arası farklılıklar, Duncan çoklu karşılaştırma testi (MSTAT) kullanılarak belirlenmiştir (Steel ve Torrie 1980). Deneme kapsamında çalışılan parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyon katsayısı (*R*) analizi ile MINITAB (Windows Release 13® MINITAB, 2000) programı kullanılarak belirlenmiştir.

İstatistik değerlendirme, her bir tekerrürde aynı analiz için belirlenen 2 paralelin ortalaması üzerinden ve 2 tekerrür ortalaması dikkate alınarak yapılmıştır. Renk tayininde her bir tekerrürde 3 farklı noktada okuma yapılmış, toplam altı okumanın ortalaması alınarak istatistik değerlendirmede kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Bitkisel Ekstraktlara Uygulanan Analiz Sonuçları

4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların toplam fenolik madde miktarları çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Bitkisel antioksidan kaynaklarının toplam fenolik madde miktarları (g gallik asit eşdeğeri/kg ekstrakt)*

Antioksidan kaynağı	Toplam fenolik madde miktarı
Yeşil çay ekstraktı (YÇE)	22.08 ± 0.15 ^C
Nar kabuğu ekstraktı (NKE)	114.27 ± 0.59 ^A
Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE)	33.75 ± 0.15 ^B

* Toplam fenolik madde miktarları 2 tekerrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

(A-C) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi, denemede kullanılan YÇE 22.08 g gallik asit eşdeğeri/kg, NKE 114.27 g gallik asit eşdeğeri/kg, ÜÇE ise 33.75 g gallik asit eşdeğeri/kg düzeyinde fenolik madde içermektedir. Denemede kullanılan nar kabuğu ekstraktının, üzüm çekirdeği ekstraktı ve yeşil çay ekstraktından çok daha yüksek miktarda fenolik maddeye sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek toplam fenolik madde varlığı, bu ekstraktların oksidatif ransiditeyi engellemek amacıyla BHT, BHA gibi sentetik antioksidanların yerine kullanılabileceklerini göstermesi açısından önemlidir.

Gil vd. (2000), yeşil çayda 1029 mg/L, Cabernet Sauvignon (1997, Kaliforniya) cinsi üzümünden elde edilen kırmızı şarapta 2036 mg/L, nar kabuğunda ise 316 mg/L düzeyinde fenolik madde olduğunu belirlemişlerdir. Jayaprakasha vd. (2001), etil asetat:su (17:3) ile ekstrakte edilen üzüm çekirdeği ekstraktında %54 kateşin eşdeğeri düzeyinde fenolik madde olduğunu belirlemişlerdir. Baydar vd. (2004), 60°C’deki

aseton:su:asetik asit kombinasyonu ile ekstrakte ettikleri üzüm çekirdeklerinde 67 g gallik asit eşdeğeri/100g düzeyinde fenolik madde olduğunu belirlemişlerdir. Ahududu çekirdek unundan elde edilen etanol ekstraktının 26.7 mg gallik asit eşdeğeri/g un, %50 aseton ekstraktının ise 45.6 mg gallik asit eşdeğeri/g un toplam fenolik maddeye sahip olduğu Parry ve Yu (2004) tarafından belirlenmiştir. Ivanova vd. (2005), sıcak su içerisinde ekstrakte edilen yeşil çayda 317 µM/kuersetine eşdeğer düzeyde fenolik madde olduğunu göstermişlerdir. Chan vd. (2007), metanol ile ekstrakte edilen yeşil çayda 21 g gallik asit eşdeğeri/100g düzeyinde fenolik madde olduğunu belirlemişlerdir. Luther vd. (2007), Chardonnay cinsi üzümlerden elde edilen çekirdek ununun toplam fenolik madde miktarını 99.3 mg gallik asit eşdeğeri/g, ahududu çekirdek ununun toplam fenolik madde miktarını ise 11.8 mg gallik asit eşdeğeri/g olarak belirlemişlerdir. Gökoğlu ve Yerlikaya (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktında 12.31 g gallik asit eşdeğeri/100 g düzeyinde fenolik madde olduğu belirlenmiştir.

Fenolik madde düzeyinde belirlenen farklılıklar; bitkinin genotipik özelliklerinden, aynı tür içerisinde çevresel farklılıklardan (iklim, bölge, sıcaklık gibi) analiz edilen bitki bölümünden, örnek alma zamanından, fenolik maddelerin ekstraksiyonunda uygulanan sıcaklık-süre ilişkisinden ve kullanılan solvent çeşidinden kaynaklanmaktadır (Wojdyło vd. 2007, Yerlikaya ve Gökoğlu 2010). Polifenollerin ekstraksiyonu, bitki materyal matriksinde hücresel düzeyde bulunan her bir polifenolik bileşiğin çözünmesi ve hücre dışı solvent ortamına difüze olmasına bağlıdır (Kallithraka vd. 1995). Nawaz vd. (2006), ekstraksiyon solventi olarak etanol kullanımının üzüm çekirdeklerinden polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda en etkili yöntem olduğunu, bu yöntemle toplam çekirdek ağırlığının %11.4'ünün polifenolik bileşik olarak ekstrakte edilebildiğini belirlemişlerdir.

4.1.2 Antioksidanların balık etine adsorpsiyonu

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların kıyma ve fileto balık etlerine adsorpsiyon oranları (%) çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Bitkisel antioksidan kaynaklarının kıyma ve fileto balık etine adsorpsiyon oranları (%)*

Antioksidan kaynağı	Kıyma balık eti	Fileto balık eti
Yeşil çay ekstraktı (YÇE)	92.05 ± 0.95	64.56 ± 0.93
Nar kabuğu ekstraktı (NKE)	90.05 ± 1.19	63.29 ± 0.74
Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE)	89.90 ± 0.63	62.52 ± 1.03

* Adsorpsiyon oranları, 2 tekrerrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, kıyma balık etine YÇE %92.05, NKE %90.05 ve ÜÇE %89.90 oranlarında adsorbe olmuştur. Fileto balık etine YÇE %64.56, NKE %63.29 ve ÜÇE %62.52 oranlarında adsorbe olmuştur. Hem kıyma hem de fileto balık etine yeşil çay ekstraktının, nar kabuğu ekstraktı ve üzüm çekirdeği ekstraktından daha yüksek oranda adsorbe olduğu belirlenmiştir.

Pazos vd. (2005a) tarafından yapılan çalışmada, antioksidanları yüksek oranda adsorbe eden balık kaslarından elde edilen sulu fazda antioksidan varlığı tespit edilememiştir. Yapılan bu çalışmada, propil gallatın da balık kasları tarafından yüksek oranda absorbe edildiği, propil gallat sulu fazda çözünmediği için immersiyon tekniğiyle kullanımının uygun olmadığı ve üzüm fenoliklerinin sulu çözeltilerinin kullanımı ile bu bileşiklerin sudan et yüzeyine migrasyonunun sağlandığı belirlenmiştir.

4.1.3 ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların antioksidan aktivite düzeyleri çizelge 4.3’de verilmiştir. Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi, denemede kullanılan YÇE 49.52 mM troloks/g, NKE 816.99 mM troloks/g, ÜÇE ise 226.94 mM troloks/g düzeyinde antioksidan aktiviteye sahiptir. Nar kabuğu ekstraktının, üzüm çekirdeği ekstraktı ve yeşil çay ekstraktından çok daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3 Bitkisel antioksidan kaynaklarının antioksidan aktivite düzeyleri (mM troloks /g ekstrakt)*

Antioksidan kaynağı	Antioksidan aktivite
Yeşil çay ekstraktı (YÇE)	49.52 ± 0.29 ^C
Nar kabuğu ekstraktı (NKE)	816.99 ± 6.74 ^A
Üzüm çekirdeği ekstraktı (ÜÇE)	226.94 ± 6.55 ^B

* Antioksidan aktivite düzeyleri, 2 tekerrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

(A-C) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan standart troloktur. Bu durum troloksun amfoterik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Troloks hem suda (tuz gibi) hem de organik ortamlarda (asit gibi) çözünebilir (Arnao vd. 2001).

Tang vd. (2002), 200-1000 ppm konsantrasyonlarda kullanılan çay kateşinlerinin serbest radikal yakalama aktivitelerinin kontrol örneklerinden %90 daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bu araştırmada, konsantrasyonun 200 ppm'den 600 ppm'e yükselmesinin serbest radikal yakalama aktivitesini arttırdığı, konsantrasyonun 600 ppm'in üzerinde olması durumunda ise serbest radikal yakalama aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca çay kateşinlerinin serbest radikal yakalama aktivitelerinin birbirlerinden farklı olduğu (Epigallokateşin gallat > Epikateşin gallat > Epigallo kateşin > Epikateşin) ortaya konmuştur (Tang vd. 2002). Kim vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile %82.94 olarak belirlenmiştir. Sanchez-Alonso vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, kırmızı üzüm lifinin antioksidan aktivitesi FRAP metodu ile 525±28 µmol troloks eşdeğeri/g (kuru madde), DPPH metodu ile 153 µmol troloks eşdeğeri/g (kuru madde) olarak belirlenmiştir. Luther vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, Chardonnay üzüm çekirdekleri kullanılarak hazırlanan ekstraktın DPPH• radikal yakalama aktivitesinin 30 saniye, ahududu çekirdekleri kullanılarak hazırlanan ekstraktın ise 5 dakika olduğu belirlenmiştir. Bu durum, farklı ekstraktların DPPH• serbest radikalleri ile reaksiyonlarında farklı kinetik ve termodinamik özelliklere sahip olmalarıyla açıklanmıştır. Yerlikaya ve Gökoğlu (2010), yeşil çay ekstraktının antioksidan aktivitesini 1.772 µM troloks ve üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan

aktivitesini 1.605 μ M troloks olarak belirlenmişlerdir.

Bitkilerin yapısında antioksidan aktiviteye sahip en önemli bileşenler karotenoidler, flavanoidler, basit fenolik bileşikler ve A, C, E gibi vitaminlerdir. Askorbik asit gibi bazı bileşenler hidrofilik, karotenoidler ve E vitamini lipofiliktir. Genel olarak polifenoller hidrofilik ya da lipofilik olarak sınıflandırmak zordur. Çünkü polifenoller serbest ya da proteinler ile diyet life bağlı olarak bulunan, molekül ağırlıkları oldukça değişken olan kompleks bir gruptur (Pulido vd. 2003).

Mansour ve Khalil (2000), dondurularak kurutulan ekstraktların antioksidan aktivitelerinin pH değerine bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuşlardır. Buy otu tohumu ve zencefil ekstraktının pH 7.0'ye kadar antioksidan aktivitesinin arttığı, alkali pH değerlerinde ise azaldığı belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan patates kabuğu ekstraktının pH 5.0-6.0 arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, nötral ve alkali pH değerlerinde ise antioksidan aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Alkali pH değerlerinde antioksidan aktivitenin azalmasının lipid oksidasyonunun ilerlemesiyle ilgili olabileceği düşünülmüştür (Mansour ve Khalil 2000). Benzer şekilde, Liu (1970) hemoproteinlerin katalizlediği oksidasyonun alkali pH değerlerinde daha aktif olduğunu tespit etmiş, Lee vd. (1975) oksijen alım oranının pH 7.5'de 2 kat, pH 8.0'de ise 4 kat arttığını göstermişlerdir.

Yapılan araştırmalar arasındaki farklılıkların ekstraktların hazırlanması aşamasındaki yağ uzaklaştırma prosesinden, materyalin su içeriğinden, ekstraksiyon işleminde kullanılan solventten, ekstraksiyon sırasında uygulanan sıcaklık-süre ilişkisinden ve antioksidan aktivite analizinde kullanılan yöntemden kaynaklanmaktadır (Yerlikaya ve Gökoğlu 2010). Bu nedenle elde edilen sonuçlarının karşılaştırılması uygun bir yaklaşım değildir. Özellikle antioksidan aktivite tayininde kullanılan yöntemlerin farklı olması durumunda ortamdaki antioksidanların gireceği reaksiyonların mekanizmalarının farklı olacağı unutulmamalıdır.

4.1.4 Metallerle kelat oluşturma aktivitesi

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların metallerle kelat oluşturma aktiviteleri çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Bitkisel antioksidan kaynaklarının metallerle kelat oluşturma aktiviteleri (%)*

Antioksidan kaynağı	Metallerle kelat oluşturma aktivitesi
Yeşil ay ekstraktı (YE)	62.35 ± 2.34
Nar kabuğı ekstraktı (NKE)	58.82 ± 0.44
Üzüm ekirdeğı ekstraktı (ÜÇE)	58.35 ± 0.23

* Metallerle kelat oluşturma aktivitesi, 2 tekerrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi, yeşil çay ekstraktının metallerle kelat oluşturma aktivitesi %62.35, nar kabuğı ekstraktının metallerle kelat oluşturma aktivitesi %58.82 ve üzüm çekirdeğı ekstraktının metallerle kelat oluşturma aktivitesi ise %58.35’tür. Yeşil ay ekstraktının metallerle kelat oluşturma aktivitesi, nar kabuğı ekstraktı ve üzüm çekirdeğı ekstraktından daha fazla bulunmuştur.

Record vd. (1996) tarafından yapılan araştırmada, %0.0025 konsantrasyonda kullanılan yeşil çay ekstraktının önemli düzeyde metal kelatlama kapasitesi olduğı belirlenmiştir. Tang vd. (2002), çay kateşinlerinin 200-1000 ppm konsantrasyonlarının Fe⁺² iyonları üzerine sitrik asit ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA)’den daha zayıf kelatlama aktivitesi (%6-29) olduğunu göstermişlerdir. 400 ppm konsantrasyondaki epigallokateşingallatin (EGCG) en yüksek metal kelatlama aktivitesine sahip olduğı (%38), bunu sırasıyla epikateşinin (EC) (%30) ve epikateşingallatin (ECG) (%19) izlediğı, epigallokateşinin (EGC) ise belirtilen konsantrasyonda kelatlama aktivitesine sahip olmadığı aynı çalışma ile ortaya konmuştur (Tang vd. 2002). Hassan ve Hassan (2010) tarafından yapılan araştırmada, su ve etanol (%80) ekstraktı olarak hazırlanan üzüm çekirdeğı ekstraktlarının konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak metallerle

kelat oluşturma aktivitelerinin de arttığı; 174.2 ppm konsantrasyonda sulu ekstraktının %10.02, 435.5 ppm konsantrasyonda ise %77.27 oranında metal kelatlama kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. 174.2 ppm konsantrasyonda etanol kullanılarak ekstrakte edilen  z m n %6.40 metal kelatlama kapasitesine sahip olduğu, 435.5 ppm konsantrasyonda ise bu oranın %78.90'a yükseldiği belirlenmiştir (Hassan ve Hassan 2010).

Gıda sistemlerinde bulunan serbest metal iyonları gıda bileşenlerinin degradasyonuna, acılaşmaya ve besin değerinde azalmaya neden olmaktadırlar. Kelatlama özelliğine sahip maddeler gıda sistemi içerisinde yer alan bu serbest metal iyonları ile stabil yapıda ve genellikle suda çözünebilir bileşikler meydana getirerek istenmeyen bu reaksiyonları engellerler. İki veya daha fazla fonksiyonel grup içeren bileşikler (–OH, –SH, –COOH, –PO₃H₂, C=O, –NH₂, –S ve –O gibi) uygun geometrik yapıda ve ortamda metallerle kelat oluşturabilirler. Kelat oluşturan maddelerin kelatlama kuvvetlerinin ortamın pH değerinden etkilendiği de bilinmektedir (Altuğ 2006). Ayrıca, fenolik bileşiklerin antiradikal aktiviteleri, redoks potansiyelleri ve metallerle kelat oluşturma kapasiteleri gallatlanma oranlarından etkilenmektedir. Fenolik bileşiklerin gallatlanma oranları arttıkça antiradikal aktiviteleri, redoks potansiyelleri ve metallerle kelat oluşturma kapasiteleri de artmaktadır (Torres vd. 2002).

4.1.5 Antibakteriyal aktivite

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları  izelge 4.5'de verilmiştir. şekil 4.1'de *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*) ve *Staphylococcus aureus*' un oluşturduğu inhibisyon zonları görülmektedir

Çizelge 4.5 Bitkisel antioksidan kaynaklarının antimikrobiyal aktivite sonuçları*

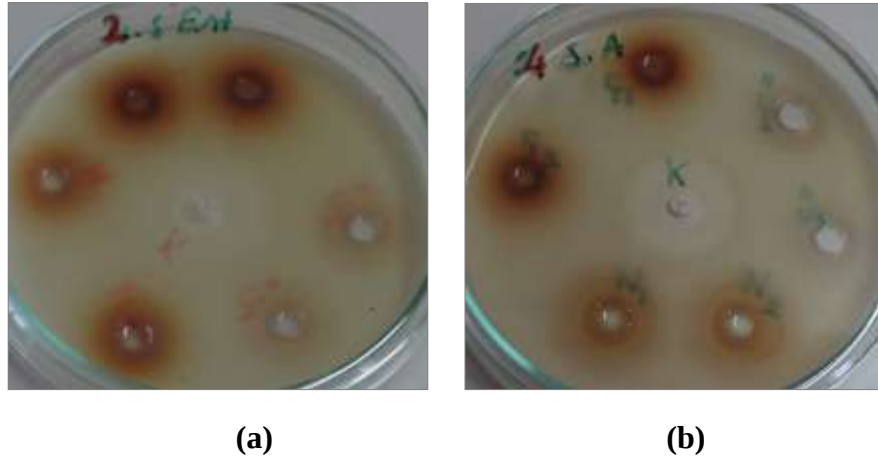
Mikroorganizma Türü	İnhibisyon Çapı (mm)			
	YÇE	NKE	ÜÇE	CIP
Gram pozitif				
<i>S. aureus</i>	-	22.0±0.90 ^B	14.8±0.30 ^C	27.0±0.65 ^A
<i>L. monocytogenes</i>	-	20.3±0.60 ^A	12.3±0.95 ^B	19.8±0.55 ^A
Gram negative				
<i>E. coli O157:H7</i>	-	-	12.0±0.40 ^B	40.0±0.30 ^A
<i>S. enteritidis</i>	-	21.8±0.70 ^B	11.0±0.75 ^C	30.0±0.50 ^A

* Antimikrobiyal aktivite, 2 tekrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Zon çapı kuyucuk çapı ile verilmiştir.

Kontrol olarak siprofiloksasin (CIP) kullanılmıştır.

(A-C) : aynı satırda farklı hafleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.1 Kuyu difüzyon yönteminde gözlenen inhibisyon zonları
a. Test mikroorganizması: *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*)
b. Test mikroorganizması: *Staphylococcus aureus*

Kullanılan test mikroorganizmalarına karşı bitkisel ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri de farklılık göstermektedir. Yapılan analiz sonuçlarına göre yeşil çay ekstraktının kullanılan dört test mikroorganizmasına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktı *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili iken *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Denemede kullanılan üzüm çekirdeği ekstraktının ise kullanılan dört test mikroorganizmaya karşı değişik düzeylerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Oluşan inhibisyon zonlarının çapları karşılaştırıldığında, nar kabuğu ekstraktının üzüm çekirdeği ekstraktına kıyasla *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis*

(*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı daha etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kontrol olarak kullanılan siprofiloksasin (CIP)'e kıyasla nar kabuğu ekstraktının *L. monocytogenes*'e karşı daha etkili olduğu da tespit edilmiştir.

Luther vd. (2007), Chardonnay cinsi üzüm ve ahududu çekirdeklerinden elde edilen unlar kullanılmış ve bu unlardan hazırlanan ekstraktların *E. coli* ATCC 25922 ve *L. monocytogenes* ATCC 19114'e karşı antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada, 10^6 kob/ml düzeyinde çalışma çözeltileri kullanılmış ve besiyerinde gelişen kolonilerin sayılması ile bakterilerin canlılıkları belirlenmiştir. Çalışılan ekstraktların *E. coli* ATCC 25922 ve *L. monocytogenes* ATCC 19114 patojen mikroorganizmalarının gelişimini engelleme potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir (Luther vd. 2007). Yapılan farklı çalışmalarda da bitkisel orjinli ekstraktların farklı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Singh vd. 2002, Chorianopoulos vd. 2004).

4.1.6 Fenolik madde dağılımı

Denemede kullanılmak üzere hazırlanan bitkisel ekstraktların fenolik madde dağılımları çizelge 4.6'da görülmektedir. Yeşil çay, üzüm çekirdeği ve nar kabuğu ekstraktlarının HPLC yöntemi ile elde edilen fenolik madde kompozisyonları, EK 3'de verilen kromatogramda gösterilmiştir. EK 3'de de görüldüğü gibi yeşil çay ekstraktında 1 adet fenolik piki, üzüm çekirdeği ve nar kabuğu ekstraktında 4 adet fenolik piki saptanmıştır. Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi, yeşil çay ekstraktında 2642.3 mg/kg düzeyinde kateşin bulunmaktadır. Nar kabuğu ekstraktı 69.2 mg/kg düzeyinde punikalin, 3008.0 mg/kg düzeyinde α -punikalin, 5763.6 mg/kg düzeyinde β -punikalin ve 91.7 mg/kg düzeyinde elajik asit içerdiği belirlenmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktında ise 1173.3 mg/kg düzeyinde kateşin, 801.3 mg/kg düzeyinde epikateşin, 71.4 mg/kg düzeyinde gallik asit ve 292.4 mg/kg düzeyinde prosiyanidin B1 bulunmaktadır.

Çizelge 4.6 Bitkisel antioksidan kaynaklarının fenolik madde dağılımları

Fenolik madde (mg/kg)	Antioksidan kaynağı		
	YÇE	NKE	ÜÇE
Kateşin	2642.3	-	1173.3
Epikateşin	-	-	801.3
Punikalin	-	69.2	-
α -punikalajin	-	3008.0	-
β -punikalajin	-	5763.6	-
Elajik asit	-	91.7	-
Gallik asit	-	-	71.4
Prosiyanidin B1	-	-	292.4

Luther vd. (2007), toz üzüm çekirdeğinde 1.76 mg/g düzeyinde gallik asit, 7.70 mg/g düzeyine kateşin ve 1.30 mg/g düzeyinde epikateşin olduğunu; ahududunun ise 0.31 mg/g düzeyinde elajik asit içerdiğini belirlemişlerdir. Flavonollerin özellikle de kateşinlerin peroksil radikal yakalama kapasitelerinin fenolik asitlerden daha yüksek olduğu Yılmaz ve Toledo (2004) tarafından gösterilmiştir. Luther vd. (2007) balık yağındaki oksidasyona karşı Chardonnay çekirdek tozunun ahududuya kıyasla daha etkili olduğunu göstermiş ve bu durumu, Chardonnay çekirdek tozunun yapısında bulunan yüksek orandaki kateşinle açıklamışlardır.

4.2 Uskumru Balığının Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Araştırmada uskumru balığından (*Scomber scombrus*) elde edilen filetolar ve bu filetolardan hazırlanan kıyma balık eti kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan balıkların fiziksel özellikleri (ağırlıkları ve uzunlukları) ile hammaddenin niteliklerini belirlemek amacıyla nem miktarları (%), pH değerleri, toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayıları ($\log_{10}$ KOB/g) ve trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarları (mg/100 g et) belirlenmiştir. Soğukta ve donmuş depolanan balıkların ağırlık ve uzunlukları çizelge 4.7’de, nem miktarları, pH değerleri, TAPB sayıları ve TMA-N miktarları ise çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Denemede kullanılan uskumru balığının fiziksel özellikleri*

Depolama Şekli	Ağırlık (g)	Uzunluk (cm)
<i>Soğukta depolama</i>	273.20 ± 56.20	28.10 ± 1.37
<i>Donmuş depolama</i>	253.20 ± 42.50	26.50 ± 1.28

* Balıkların ağırlık ve uzunlukları, her bir depolama şekli için 10 farklı balıkta yapılan ölçüm sonuçlarının aritmetik ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Soğukta depolama için temin edilen balıkların ortalama ağırlıkları 273.20 g ve uzunlukları 28.10 cm iken, donmuş depolama için denemenin kurulmasında kullanılan balıkların ortalama 253.20g ağırlığa ve 26.50 cm uzunluğa sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8 Denemede kullanılan uskumru balığının nem miktarları (%), pH değerleri, TAPB sayıları (log₁₀KOB/g) ve TMA-N miktarları (mg/100 g et)*

Depolama Şekli	Nem	pH	TAPB	TMA-N
<i>Soğukta depolama</i>	73.84±0.24	6.12±0.16	3.45±0.04	0.35±0.03
<i>Donmuş depolama</i>	76.40±1.02	6.30±0.20	3.61±0.08	0.46±0.04

* Balıkların nem miktarları, pH değerleri, TPAB yükleri ve TMA-N miktarları 2 tekerrür, 2 paralel olmak üzere yapılan 4 ölçümün ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Denemede kullanılan soğukta depolanan uskumrular ortalama %73.84 nem içeriğine, 6.12 pH değerine, 3.45 log₁₀KOB/g düzeyinde mikroorganizma yüküne ve 0.35 mg/100 g et düzeyinde TMA-N sahiptir. Donmuş depolama için denemenin kurulmasında kullanılan uskumrular ise ortalama %76.40 nem içeriğine, 6.30 pH değerine, 3.61 log₁₀KOB/g düzeyinde mikroorganizma yüküne ve 0.46 mg/100 g et düzeyinde TMA-N içeriğine sahiptir (Çizelge 4.8).

4.3 Soğukta Depolanan Uskumru Kıymasına Ait Sonuçlar

4.3.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarları

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları çizelge 4.9’da gösterilmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında ve 10 gün depolama sonunda nem miktarı %80.23’den

%79.37'ye azalmış, protein miktarı %12.08'den %12.20'ye, kül miktarı %1.25'ten %1.35'e ve yağ miktarı %7.43'ten %7.74'e artmıştır. Kıyma örneklerin nem, protein, kül ve yağ miktarlarına antioksidan kaynağı ilavesinin etkisi önemli olmazken ($P>0.01$), başlangıç ve depolama sonunda belirlenen nem, kül ve yağ miktarlar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1).

Çizelge 4.9 Soğukta depolanan uskumru kıymasının nem, protein, kül ve yağ miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
Nem						
0	80.61±0.48	80.07±0.31	80.20±0.31	79.91±0.36	80.35±0.45	80.23±0.38 ^A
10	79.60±0.39	79.24±0.05	79.62±0.21	79.20±0.01	79.17±0.18	79.37±0.15 ^B
Ort.	80.10±0.68	79.66±0.51	79.91±0.40	79.56±0.46	79.76±0.74	
Protein						
0	12.17±0.18	12.01±0.14	12.15±0.05	11.96±0.09	12.13±0.11	12.08±0.13
10	12.05±0.02	12.18±0.71	12.15±0.13	12.19±0.17	12.45±0.51	12.20±0.33
Ort.	12.11±0.12	12.10±0.43	12.15±0.08	12.07±0.17	12.29±0.35	
Kül						
0	1.21±0.10	1.19±0.09	1.32±0.03	1.20±0.06	1.31±0.09	1.25±0.08 ^B
10	1.33±0.11	1.35±0.02	1.36±0.06	1.36±0.03	1.36±0.05	1.35±0.05 ^A
Ort.	1.27±0.11	1.27±0.11	1.34±0.04	1.28±0.10	1.33±0.07	
Yağ						
0	7.56±0.48	7.51±0.17	7.43±0.52	7.41±0.25	7.27±0.11	7.43±0.28 ^B
10	7.51±0.17	7.75±0.14	7.81±0.10	7.52±0.01	7.59±0.07	7.74±0.21 ^A
Ort.	7.54±0.40	7.63±0.19	7.62±0.38	7.47±0.16	7.43±0.120	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

A-B : İlgili sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

4.3.2 pH değeri

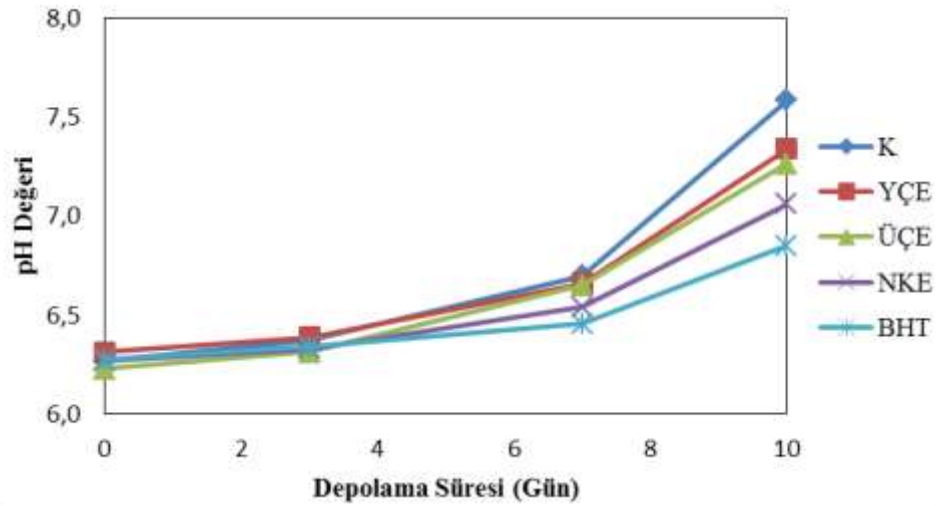
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen pH değerleri çizelge 4.10'da ve şekil 4.2'de verilmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında pH değeri ortalama 6.27, 10 gün sonra ise ortalama 7.22 bulunmuştur. Kontrol örneklerinde ortalama pH değeri 6.73, YÇE örneklerde 6.68, ÜÇE örneklerde 6.62, NKE örneklerde 6.55 ve BHT ile muamele edilen kıyma örneklerde ise 6.48'dir.

Çizelge 4.10 Soğukta depolanan uskumru kıymasının pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort.
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.27±0.01 ^{ABd}	6.32±0.01 ^{Ad}	6.23±0.00 ^{Bd}	6.27±0.01 ^{ABc}	6.28±0.01 ^{ABc}	6.27±0.03
3	6.38±0.02 ^{Ac}	6.39±0.01 ^{Ac}	6.32±0.01 ^{Ac}	6.33±0.01 ^{Ac}	6.34±0.01 ^{Ac}	6.35±0.03
7	6.70±0.03 ^{Ab}	6.66±0.04 ^{Ab}	6.65±0.03 ^{Ab}	6.54±0.03 ^{Bb}	6.46±0.04 ^{Cb}	6.60±0.10
10	7.59±0.02 ^{Aa}	7.34±0.03 ^{Ba}	7.27±0.02 ^{Ca}	7.06±0.04 ^{Da}	6.85±0.01 ^{Ea}	7.22±0.26
Ort.	6.73±0.55	6.68±0.43	6.62±0.44	6.55±0.33	6.48±0.24	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.2 Soğukta depolanan uskumru kıymasının pH değerindeki değişim

Soğukta depolanan kıyma örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun pH değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen pH değerlerinin düşük olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak pH değerinin arttığı ve 10. günde tespit edilen pH değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01). pH değeri üzerine ekstrakt ve sentetik antioksidan kaynağı ilavesinin depolama süresinin başlangıcında bile etkili olduğu anlaşılmaktadır. Depolama başlangıcında YÇE örneklerin pH değerleri diğer gruplara kıyasla yüksek (6.32), ÜÇE uygulanan grubun pH değeri düşüktür (6.23) (P<0.01). K (6.27), NKE (6.27) ve sentetik antioksidan kaynağı içeren örnekler (6.28) arasında ise pH değeri açısından depolamanın başlangıcında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir (P>0.01). Depolamanın 3.

gününde pH değeriindeki farklılıklar ortadan kalkmış, 7. günde ise BHT uygulanan örneklerin daha düşük pH değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin sonunda K örneklerinin pH değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek (7.59) olduğu belirlenmiş, K grubuna ait balıkları sırasıyla YÇE (7.34), ÜÇE (7.27), NKE (7.06) ve BHT (6.85) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ($P<0.01$).

pH değerinde depolama süresince gözlenen bu artışın, endojen veya mikrobiyal enzimler tarafından oluşturulan amonyak ve trimetil amin gibi volatil bazların miktarındaki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir (Manat vd. 2005, Ruiz-Capillas ve Moral 2001).

4.3.3 Renk değerleri

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama süresince CIE L^* (parlaklık), a^* (kırmızılık), b^* (sarılık) değerleri belirlenmiştir. a^* ve b^* değerleri kullanılarak, C (chroma, renk yoğunluğu) ve h° (hue, renk açısı) değerleri hesaplanmıştır ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$). Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen L^* , a^* , b^* , C ve h° değerleri çizelge 4.11’de ve şekil 4.3’de görülmektedir.

Soğukta depolanan kıyma uskumru örneklerinin L^* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak parlaklık değerlerinin azaldığı görülmektedir. Kıyma ette depolama başlangıcında L^* değeri ortalama 54.23, 10 gün sonra ise ortalama 48.54 bulunmuştur. L^* değerinde depolama süresince meydana gelen bu düşüşün oksidatif ve mikrobiyal değişimler sonucunda balık etinin yapısında meydana gelen renk değişimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kontrol örneklerinin depolanmaları süresince belirlenen ortalama L^* değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek (54.78) olduğu, kontrol grubuna ait balıkları sırasıyla ÜÇE (51.08), YÇE (50.72), NKE (50.18) ve BHT (49.76) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

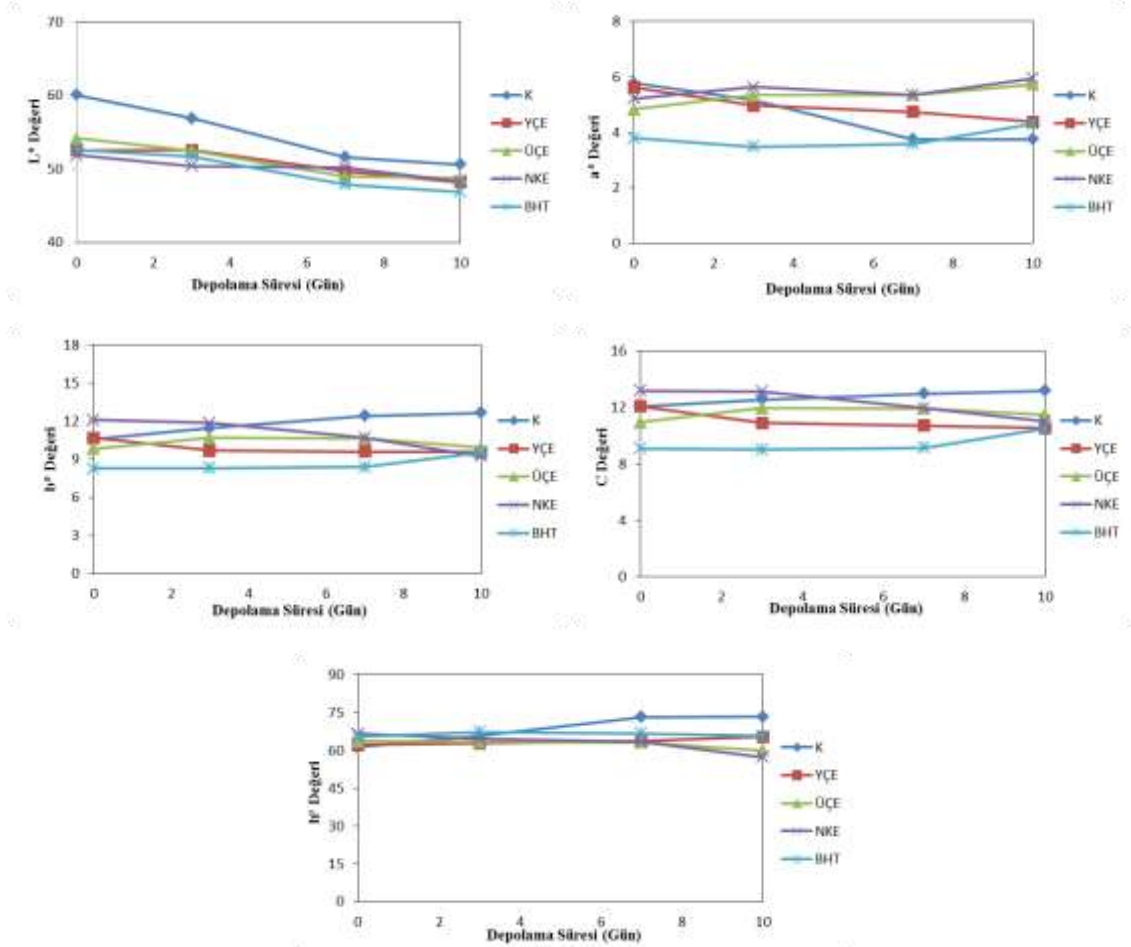
Çizelge 4.11 Soğukta depolanan uskumru kıymasının L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
L*						
0	60.04±0.76	52.51±4.20	54.15±1.15	51.87±0.12	52.60±0.54	54.23±3.49 ^a
3	56.86±1.22	52.53±3.09	52.45±0.21	50.38±0.29	51.69±0.60	52.79±2.56 ^a
7	51.60±0.69	49.62±0.55	48.94±1.07	50.22±0.41	47.89±0.21	49.65±1.40 ^b
10	50.61±0.42	48.21±0.03	48.76±0.48	48.27±0.23	46.87±0.97	48.54±1.34 ^b
Ort.	54.78±4.17 ^A	50.72±2.82 ^B	51.08±2.54 ^B	50.18±1.39 ^B	49.76±2.65 ^B	
a*						
0	5.77±0.25 ^{Aa}	5.62±0.08 ^{Aa}	4.83±0.03 ^{Bb}	5.22±0.16 ^{ABb}	3.79±0.24 ^{Cab}	5.05±0.76
3	5.16±0.26 ^{Aa}	4.97±0.01 ^{Ab}	5.34±0.33 ^{Aab}	5.63±0.12 ^{Aab}	3.48±0.22 ^{Bb}	4.92±0.81
7	3.75±0.15 ^{Bb}	4.74±0.08 ^{Ab}	5.36±0.02 ^{Aab}	5.34±0.46 ^{Aab}	3.60±0.24 ^{Bb}	4.56±0.82
10	3.76±0.15 ^{Bb}	4.38±0.22 ^{Bb}	5.73±0.36 ^{Aa}	5.95±0.27 ^{Aa}	4.32±0.10 ^{Ba}	4.83±0.92
Ort.	4.61±0.96	4.93±0.49	5.32±0.39	5.53±0.37	3.79±0.38	
b*						
0	10.60±.76 ^{Bb}	10.68±0.41 ^{Ba}	9.82±1.41 ^{Ba}	12.09±0.35 ^{Aa}	8.27±0.04 ^{Ca}	10.29±1.43
3	11.44±0.13 ^{Aab}	9.69±0.37 ^{BCa}	10.69±0.04 ^{ABa}	11.85±0.82 ^{Aa}	8.31±0.00 ^{Ca}	10.39±1.38
7	12.43±0.45 ^{Aa}	9.59±0.41 ^{BCa}	10.64±0.40 ^{Ba}	10.68±0.35 ^{Ba}	8.39±0.34 ^{Ca}	10.35±1.44
10	12.65±0.03 ^{Aa}	9.57±0.23 ^{Ba}	9.93±0.22 ^{Ba}	9.26±0.25 ^{Bb}	9.55±0.35 ^{Ba}	10.19±1.33
Ort.	11.78±0.94	9.88±0.56	10.27±0.70	10.97±1.26	8.63±0.60	
C						
0	12.08±0.55 ^{ABa}	12.07±0.32 ^{ABa}	10.96±1.25 ^{Ba}	13.17±0.26 ^{Aa}	9.10±0.14 ^{Cb}	11.48±1.53
3	12.55±0.22 ^{Aa}	10.89±0.33 ^{Bab}	11.95±0.11 ^{ABa}	13.12±0.59 ^{Aa}	9.01±0.09 ^{Cb}	11.50±1.55
7	12.98±0.39 ^{Aa}	10.70±0.33 ^{Bb}	11.91±0.35 ^{ABa}	11.95±0.11 ^{ABab}	9.13±0.22 ^{Cb}	11.33±1.41
10	13.19±0.02 ^{Aa}	10.53±0.30 ^{Bb}	11.46±0.37 ^{Ba}	11.00±0.36 ^{Bb}	10.48±0.36 ^{Ba}	11.33±1.08
Ort.	12.70±0.53	11.05±0.69	11.57±0.70	12.31±1.01	9.43±0.67	
h°						
0	61.36±2.74 ^{Bb}	62.23±1.21 ^{ABa}	63.62±3.40 ^{ABa}	66.65±1.26 ^{Aa}	65.40±1.25 ^{ABa}	63.85±2.62
3	65.72±0.82 ^{Aa}	62.81±0.92 ^{Aa}	63.44±1.47 ^{Aa}	64.52±2.01 ^{Aa}	67.30±1.26 ^{Aa}	64.76±1.98
7	73.21±1.23 ^{Aa}	63.69±1.35 ^{Ba}	63.25±0.94 ^{Ba}	63.43±2.70 ^{Ba}	66.78±2.24 ^{Ba}	66.07±4.23
10	73.46±0.67 ^{Aa}	65.43±0.57 ^{Ba}	60.01±0.98 ^{Ca}	57.30±0.49 ^{Cb}	65.67±0.30 ^{Ba}	64.37±5.88
Ort.	68.44±5.62	63.54±1.52	62.58±2.18	62.97±3.36	66.29±1.37	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Soğukta depolanan kıyma örneklerde depolama süresi ve uygulamanın L* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen L* değerlerinin yüksek olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak azaldığı ve 10. günde tespit edilen L* değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında en yüksek parlaklık değerine kontrol grubu örneklerin sahip olduğu (60.04) belirlenmiştir. Bu durum, ilave edilen antioksidan kaynaklarının depolama süresinin başlangıcında etki göstererek uskumru kıymasının parlaklık değerinin azalttığını göstermektedir.



Şekil 4.3 Soğukta depolanan uskumru kıymasının L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim

Quilo vd. (2009) ve Hoyle Parks vd. (2012) tarafından yapılan araştırmalar, antioksidan içeren etlerin soğukta depolanmaları sırasında L* değerinde azalma olduğu, fakat bu azalmanın önemli olmadığı belirtilmiştir. Fernández-López vd. (2005), depolama süresi ve bitkisel ekstrakt uygulamasının L* değerini etkilediğini bildirmişlerdir. Köfte tipi ürünlerde depolama sırasında L* değerinde gözlenen değişimin metmiyogloblin (MMb) oluşumu ile ilgili olduğu ifade edilmiştir. Antioksidan maddelerin varlığında MMb oluşumunun geciktirilebildiği ve L* değerinin azaldığı ifade edilmektedir. Benzer şekilde, uzayan depolama süresine bağlı olarak L* değerlerinin azaldığı Fernández-López vd. (2005) tarafından gösterilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma örneklerin a* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak kırmızılık değerlerinin düzenli bir değişim göstermediği belirlenmiştir.

Uzayan depolama süresine bağlı olarak a^* değeri önce azalmış daha sonra ise tekrar artış göstermiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında a^* değeri ortalama 5.05, 7 gün sonra 4.56, 10 gün sonra ise ortalama 4.83 bulunmuştur. NKE içeren örneklerinin depolanmaları süresince belirlenen ortalama a^* değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek (5.53) olduğu, NKE uygulanan grubuna ait balıkları sırasıyla ÜÇE (5.32), YÇE (4.93), K (4.61) ve BHT (3.79) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun a^* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). Soğukta depolanan kıyma uskumru balıklarında depolama süresince K ve YÇE içeren gruplarda a^* değerleri azalmış, ÜÇE, NKE ve BHT içeren gruplarda ise artmıştır ($P<0.01$). Depolama süresinin başlangıcında en yüksek kırmızılık değerine K (5.77) ve YÇE (5.62) içeren grupların sahip olduğu, en düşük a^* değerine ise BHT (3.79) içeren uskumruların sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Yapılan 10 günlük depolama sonunda NKE (5.95) içeren balıkların a^* değerinin yüksek, K (3.76) örneklerinin a^* değerinin düşük olduğu görülmektedir. Depolama sırasında K örneklerin a^* değerinde gözlenen azalma, yüksek pigment oksidasyonu, antioksidan içeren örneklerin a^* değerinde gözlenen artış ise oksidasyonun geciktirici etkisiyle açıklanabilir.

Kırmızılık (a^*) değeri, et ve et ürünlerinin görsel kabul edirliliği açısından önemli parametrelerden birisidir (McCarthy vd. 2001, Rhee vd. 2003). Yapılan çalışmaların bir çoğunda et ve et ürünlerinde meydana gelen oksidasyonun a^* değerinin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (Higgins vd. 1998, Lee vd. 1998). NKE içeren balıklarda belirlenen a^* değerinin yüksek olması, NKE ilavesinin et rengi üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Fernández-López vd. (2005), doğal ekstraktların (biberiye, limon ve portakal lifi) pişmiş ve 8°C’de depolanmış sığır köftelerinin a^* değerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tüm örneklerin a^* değerinin depolama süresince azaldığını, bu azalmanın en fazla kontrol örneğinde olduğunu bildirmişlerdir.

Kıyma ette depolama başlangıcında b^* değeri ortalama 10.29, 10 gün sonra ise ortalama

10.19 bulunmuştur. Genel olarak kontrol grubuna ait balıkların sarılık değerlerinin (11.78) diğer gruplardan yüksek, BHT ile muamele edilen balıkların (8.63) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma balıklarda uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun b* değeri üzerine istatistiki olarak etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). K grubu balıklarda depolama süresince sarılık değerleri artmış; NKE gruplarda azalmış ve YÇE, ÜÇE ve BHT içeren grupta ise değişmemiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin başında NKE (12.09) içeren kıyma balıkların sarılık değerleri diğer gruplardan yüksek iken, BHT (8.27) içeren balıkların sarılık değerleri düşüktür ($P<0.01$). K (10.60), YÇE (10.68) ve ÜÇE (9.82) içeren kıyma örnekler arasında soğukta depolamanın başında istatistiki olarak farklılık yoktur ($P>0.01$). Ancak, depolama süresi sonunda K grubuna (12.65) ait balıkların b* değerlerinin diğer gruplardan yüksek olduğu; YÇE (9.57), ÜÇE (9.93), NKE (9.26) ve BHT (9.55) içeren örnekler arasında ise fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Bitkisel ekstrakt ilavesinin kıyma uskumrulara sarılık değeri üzerine etkili olduğu, uygulanan ekstraktlar arasındaki farklılıkların değişen pH değerlerine bağlı olarak antioksidan etkinliğinin farklılaşması ve okside olan miyogloblin düzeyinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Soğukta depolanan kıyma uskumru balıklarının C değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak C değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı, ancak yapılan uygulamalar arasında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Kıyma ette depolama başlangıcında C değeri ortalama 11.48, 10 gün sonra ise ortalama 11.33 bulunmuştur. Genel olarak kontrol grubuna ait balıkların renk yoğunluğu değerlerinin (12.70) diğer gruplardan yüksek, BHT ile muamele edilen balıkların (9.43) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma örneklerde uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun C değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). Soğukta depolanan kıyma örneklerde depolama süresince C değeri ile BHT'li

örneklerde artmış; YÇE’li ile NKE’li örneklerde azalmış ($P<0.01$) ve K örnekler ile ÜÇE örneklerde değişmemiştir. Soğukta depolamanın başında NKE (13.17) içeren balıklar en yüksek renk yoğunluğu değerine sahip iken, BHT (3.62) içeren grubun en düşük renk yoğunluğu değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). 10 günlük soğukta depolama süresi sonunda diğer gruplarla karşılaştırıldığında K örneklerin (13.19) en yüksek renk yoğunluğu değerine sahip oldukları görülmektedir. Diğer gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı da tespit edilmiştir ($P>0.01$).

Soğukta depolanan kıyma uskumru balıklarının h° değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresi ve uygulamaya bağlı olarak h° değerlerinde farklılıklar olduğu görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında h° değeri ortalama 63.85, 10 gün sonra ise ortalama 64.37 bulunmuştur. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların renk açısı değerlerinin (68.44) diğer gruplardan yüksek, ÜÇE içeren örneklerin (62.58) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma uskumru balıklarında depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun renk açısı değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, $P<0.05$, EK 4 Çizelge 1). Kıyma halde soğukta depolanan balıklarda renk açısı değeri K ve YÇE balıklarda depolama süresince artmış, NKE balıklarda azalmış, ÜÇE ve BHT uygulanan örneklerde ise değişmemiştir. Soğukta depolamanın başlangıcı karşılaştırılacak olursa NKE (66.65) içeren balıkların renk açısı değerinin diğer gruplardan yüksek olduğu, K (61.36) ve YÇE (62,23) içeren grupların ise en düşük renk açısı değerine sahip oldukları görülmektedir. Yapılan 10 günlük soğukta depolama sonunda K grubu (73.46) balıkların en yüksek, NKE (57.30) içeren balıkların ise en düşük h° değerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Gıda maddeleri için renk oldukça önemli bir duyuşal özelliktir. Birçok bitkisel ekstrakt koyu renge sahiptir. Bu nedenle ilave edildiklerinde son ürünün görsel niteliklerini önemli ölçüde değiştirirler. Bu renk değişiminin düzeyi kullanılan ekstraktın rengine, kullanım düzeyine ve gıda matriksinin doğal yapısına bağlıdır. Bu nedenle bitkisel ekstrakt kullanımında son ürünün rengi belirleyicidir (Luther vd. 2007). Elde edilen

sonuçlar, uskumru kıymalarının renk değerleri üzerine bitkisel ekstrakt kullanımının etkili olduğunu göstermektedir.

4.3.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı

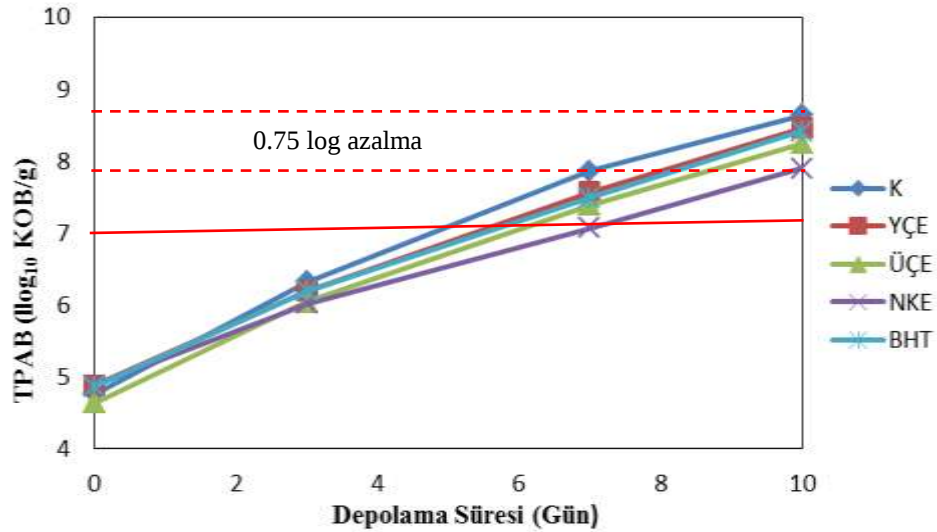
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı ($\log_{10}$ KOB/g et) çizelge 4.12’de ve şekil 4.4’de görülmektedir.

Çizelge 4.12 Soğukta depolanan uskumru kıymasının TAPB sayısına ($\log_{10}$ KOB/g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	4.76±0.06 ^{ABd}	4.88±0.17 ^{Ad}	4.64±0.10 ^{Bd}	4.88±0.05 ^{Ad}	4.86±0.23 ^{ABd}	4.81±0.14
3	6.32±0.00 ^{Ac}	6.19±0.03 ^{ABc}	6.05±0.05 ^{ABc}	6.02±0.01 ^{Bc}	6.19±0.06 ^{ABc}	6.15±0.12
7	7.86±0.01 ^{Ab}	7.56±0.10 ^{Bb}	7.39±0.03 ^{Bb}	7.07±0.01 ^{Cb}	7.49±0.01 ^{Bb}	7.47±0.27
10	8.64±0.04 ^{Aa}	8.46±0.01 ^{ABa}	8.25±0.01 ^{Ba}	7.89±0.01 ^{Ca}	8.41±0.04 ^{ABa}	8.33±0.27
Ort.	6.90±1.59	6.77±1.46	6.58±1.46	6.46±1.21	6.74±1.44	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.4 Soğukta depolanan uskumru kıymasının TAPB sayısındaki değişim

Soğukta depolanan kıyma uskumru balıklarının TAPB sayıları incelendiğinde, uzayan depolama süresince düzenli bir artış olduğu görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında TAPB yükü ortalama 4.81, 10 gün sonra ise ortalama 8.33 bulunmuştur. Başlangıçta kıyma örneklerde 4.64-4.88 arasında değişen TAPB yükü 10 günlük soğukta depolama sonrasında 7.89-8.64'e ulaşmıştır. Antioksidan uygulamasının kıyma uskumruların TAPB sayısı üzerine etkili olduğu da görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların TAPB sayılarının (6.90) diğer gruplardan yüksek, NKE ile muamele edilen balıkların (6.46) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan kıyma uskumrularda TAPB sayısı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonuna bağlı olarak önemli düzeyde değişim göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm örneklerin TAPB sayısı artmıştır. Antioksidan uygulamasının TAPB sayısı üzerine depolamanın başlangıcında bile etkili olduğu tespit edilmiştir. NKE uygulamasının depolamanın 3. gününden itibaren etkili olduğu, depolamanın 3., 7. ve 10. günlerinde NKE uygulanan örneklerin diğer uygulamalara kıyasla daha düşük TAPB sayısına sahip olduğu gözlenmiştir ($P<0.01$). Soğukta depolamanın 10. gününde ulaşılan TAPB sayıları karşılaştırıldığında, kontrol örneklerinin (8.64) diğer gruplara kıyasla daha yüksek, NKE'li örneklerin (7.89) ise en düşük TAPB yüküne sahip olduğu belirlenmiştir. K ile kıyaslandığında depolamanın 10. gününde NKE'nin TAPB sayısında 0.75 log azalma sağladığı belirlenmiştir. Soğukta depolama sırasında NKE'li kıyma örneklerin diğer gruplara kıyasla daha düşük mikrobiyal yüke sahip olması NKE'nin yüksek antimikrobiyal aktivitesi ile açıklanabilir.

4.3.5 Heme demir miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen heme demir miktarları çizelge 4.13'de ve şekil 4.5'de görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında demir miktarı, mg/100 g et olarak ortalama 6.38, 10 gün sonra ise ortalama 1.50 bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının da örneklerin heme demir miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan

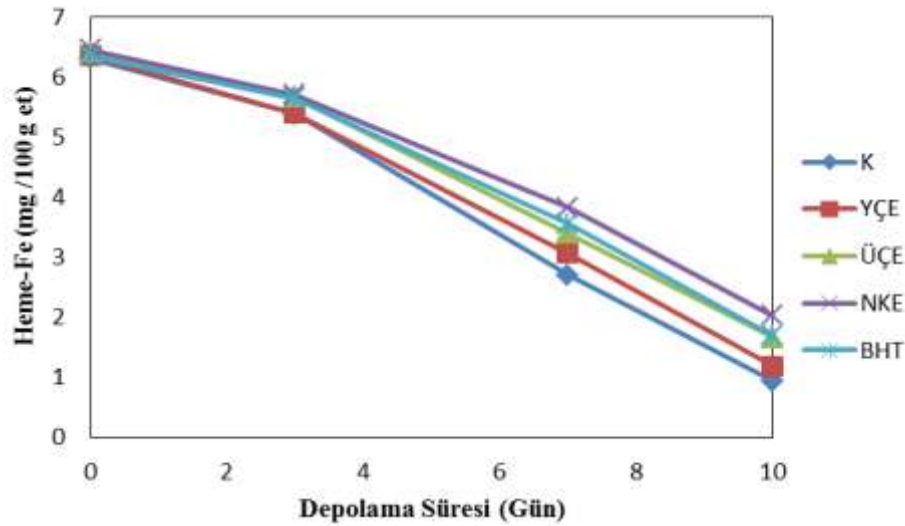
içermeyen K örneklerin heme demir miktarının (3.83) diğer gruplardan düşük, NKE ile muamele edilen örneklerin (4.50) ise yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13 Soğukta depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.31±0.01 ^{Aa}	6.35±0.12 ^{Aa}	6.42±0.02 ^{Aa}	6.45±0.09 ^{Aa}	6.35±0.06 ^{Aa}	6.38±0.08
3	5.38±0.23 ^{Bb}	5.40±0.07 ^{Bb}	5.66±0.02 ^{Ab}	5.71±0.05 ^{Ab}	5.65±0.13 ^{Ab}	5.56±0.18
7	2.71±0.07 ^{Dc}	3.07±0.08 ^{Cc}	3.40±0.08 ^{Bc}	3.82±0.09 ^{Ac}	3.56±0.13 ^{Bc}	3.31±0.42
10	0.94±0.01 ^{Cd}	1.19±0.01 ^{Cd}	1.66±0.02 ^{Bd}	2.03±0.00 ^{Ad}	1.70±0.02 ^{Bd}	1.50±0.41
Ort.	3.83±2.28	4.00±2.16	4.29±2.01	4.50±1.84	4.31±1.95	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-e) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.5 Soğukta depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarındaki değişim

Soğukta depolanan kıyma uskumrularında heme demir miktarı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Kıyma halde soğukta depolanan uskumru balıklarında başlangıçta 6.31-6.45 mg arasında değişen heme demir miktarları 10. gün sonunda 0.94-2.03 mg aralığına düşmüştür. Depolama süresinin başında oluşturulan gruplara arasında istatistiki olarak bir farklılık olmadığı (P>0.01), depolamanın 3. gününde ÜÇE, NKE ve BHT uygulamalarının etkili olduğu çizelge 4.13’ de görülmektedir. Depolamanın 7. gününde NKE’li örneklerin heme demir içeriklerinin

diğer uygulamalardan yüksek, antioksidan içermeyen K örneklerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Soğukta depolamanın 10. gününde antioksidan içermeyen ve YÇE'lı örneklerin en düşük heme demir içeriğine sahip oldukları (0.94 mg ve 1.19 mg, sırasıyla), bu grupları sırasıyla ÜÇE (1.66 mg), BHT (1.70 mg) ve NKE (2.03 mg) içeren örneklerin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).

Özellikle kara etli su ürünlerinin önemli miktarda demir içerdikleri (1-2 mg/100 g et) bilinmektedir (Kinsella 1988). Gıda maddelerinin yapısında absorpsiyon mekanizmaları farklı olan iki çeşit demir vardır. Bunlar; heme demir ve heme olmayan demirdir. Heme demir yalnızca et, balık ve kanatlı etlerinin yapısında bulunurken, heme olmayan demir bitkisel kaynaklarda ve hayvansal ürünlerde bulunur. Etin yapısında bulunan demirin önemli kısmı heme demirdir. Heme demirin %15-35'i metabolizmada diğer gıda bileşenlerinin varlığından etkilenmeksizin kullanılırken, heme olmayan demirin emilim düzeyi yapıda bulunan diğer besin öğelerine bağlı olarak %2-20 arasında değişmektedir. Heme demirin degradasyon mekanizması kesin olarak açıklanamamakla birlikte, porfirin halkasının oksidatif olarak parçalanmasıyla heme demir kompleksinden demirin ayrılmasına bağlı olarak heme olmayan demir miktarının artması sonucunda heme demir miktarının azaldığı düşünülmektedir (Turhan vd. 2004). Sıcaklık ve ısıtma oranına bağlı olarak pişirme gibi işlemlerin heme demir miktarının azalmasına, heme olmayan demir miktarının ise artmasına neden olduğu bilinmektedir (Chen vd. 1984). Buchowski vd. (1988), kaynayan su içerisinde etin ısıtma işlemine tabi tutulmasının toplam ve heme demir miktarında azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Isıl işlem uygulanmayan etlerde toplam demir ve heme demir miktarı sırasıyla 83.9 µg/g ve 56.9 µg/g iken, 97°C'de uygulanan ısıtma işlem sonrasında 79.6 µg/g ve 41.4 µg/g olduğu tespit edilmiştir. Han vd. (1993), sığır *longissimus* kasları ve tavuk butlarının toplam demir miktarının ısıtma işleminden etkilenmediğini, ancak 100°C'de uygulanan ısıtma işleminin çiğ örneklerle kıyasla sığır etinin heme demir içeriğinde %18.8 ve tavuk etinde %23.4 düzeyinde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Turhan vd. (2004), çiğ hamsinin toplam demir miktarının 38.9 µg/g, heme demir miktarının ise 16.5 µg/g olduğunu ve farklı şekillerde yapılan pişirme işlemlerinin hamsinin toplam demir ve heme demir miktarlarını azalttığını belirlemişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar, depolama süresine bağlı olarak heme demir miktarının azaldığını, bu azalmanın antioksidan uygulaması ile

sınırlandırabileceğini göstermiştir. Bu durum, ilave edilen antioksidanların oksidatif reaksiyonları engelleme yeteneklerine bağlı olarak heme demir miktarlarını etkilediğini göstermektedir.

4.3.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarları mg TVB-N/100 g et olarak çizelge 4.14’de ve şekil 4.6’da görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak uskumru kıymalarının TVB-N miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 20.04 mg olan TVB-N miktarı özellikle depolamanın 3. gününden sonra hızla artmıştır. Depolama süresinin sonunda uskumru kıymalarının TVB-N miktarının 52.21 mg’a yükseldiği tespit edilmiştir. Antioksidan uygulamasının da balıkların TVB-N miktarları üzerine etili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan içermeyen örneklerin TVB-N miktarının (35.99) diğer gruplardan yüksek, NKE ile muamele edilen balıkların (29.52) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

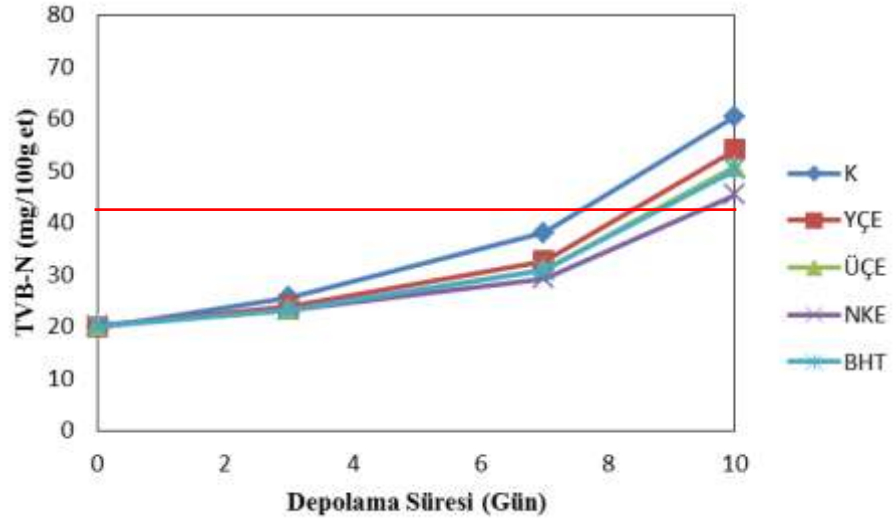
Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	19.79±0.76 ^{Ad}	19.99±0.22 ^{Ad}	20.15±0.73 ^{Ad}	20.22±0.09 ^{Ad}	20.08±0.24 ^{Ad}	20.04±0.40
3	25.68±0.28 ^{Ac}	23.90±0.18 ^{Bc}	23.18±0.09 ^{Bc}	23.27±0.21 ^{Bc}	23.19±0.04 ^{Bc}	23.84±1.02
7	37.98±0.61 ^{Ab}	32.65±0.19 ^{Bb}	30.89±0.19 ^{Cb}	29.20±0.36 ^{Db}	30.85±0.00 ^{Cb}	32.31±3.21
10	60.50±0.02 ^{Aa}	54.10±0.72 ^{Ba}	50.82±0.03 ^{Ca}	45.41±0.49 ^{Da}	50.23±0.17 ^{Ca}	52.21±5.27
Ort.	35.99±16.68	32.66±14.11	31.26±12.78	29.52±10.40	31.09±12.53	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Soğukta depolanan kıyma uskumru balığında TVB-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Uzayan depolama süresine bağlı olarak örneklerin TVB-N miktarında artış olduğu, kıyma örneklerde başlangıçta 19.79-20.22 mg arasında değişen TVB-N miktarının depolamanın 10. gününde 45.41-60.50 mg düzeyine ulaştığı

belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında uygulamalar arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$), depolamanın 3. gününde antioksidan uygulamasının etkili olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 7. gününde NKE'li örneklerin en düşük, K örneklerin en yüksek TVB-N değerine sahip oldukları çizelge 4.14'de görülmektedir. Depolama sonunda kontrol grubu (60.50) örneklerin en yüksek TVB-N miktarına sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (54.10), ÜÇE (50.82), BHT (50.23) ve NKE (45.41) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ($P<0.01$). Uygulamalar arasındaki farklılıklar dikkate alındığında nar kabuğu ekstraktının diğer bitkisel antioksidan kaynaklarına göre daha etkili olduğu söylenebilir. Bu durum nar kabuğu ekstraktının mikrobiyal gelişimi yavaşlatmasına bağlı olarak TVB-N oluşumunu azaltmasıyla açıklanabilir.



Şekil 4.6 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim

TVB-N, esas olarak amonyaktan ve birincil, ikincil ve üçüncül aminlerden oluşmaktadır ve balıklarda tazelik kriteri olarak kullanılmaktadır. Balıklarda depolama sırasında TVB-N miktarındaki artış, serbest amino asitlerin deaminasyonundan, nükleotitlerin parçalanmasından ve aminlerin oksidasyonuna neden olan enzimatik proseslerden kaynaklanmaktadır (Gill 1990). Balıkta meydana gelen mikrobiyal ve enzimatik faaliyetler sonucu TVB-N miktarı artmaktadır. Artış miktarı, bakteriyel faaliyet ve endojen enzim aktivitesine bağlıdır (Vareltzis vd. 1997). Genellikle TVB-N miktarı 100 g ette 35-40 mg düzeylerine ulaştığında balığın bozulduğu kabul edilmektedir. Diğer

yandan bazı araştırmacılar bu limiti 35 mg/100 g et olarak bildirmektedirler (Fagan vd. 2003). Çalışmamızda, kontrol grubu örneklerde bu sınırın depolamanın 7. gününde aşıldığı, antioksidan ilavesi yapılan gruplarda ise 7. günden sonra TVB-N miktarının sınırı aşmış olduğu tespit edilmiştir.

4.3.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.15’de ve şekil 4.7’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak balıkların TMA-N miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında ortalama 0.55 mg düzeyinde olan TMA-N miktarı, 3. günden sonra hızla artmıştır. Yapılan 10 günlük depolama sonunda uskumru kıymalarının TMA-N miktarının 6.26 mg olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan uygulamasının balıkların TMA-N miktarı üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince kontrol örneklerin TMA-N miktarı diğer gruplardan yüksek, NKE’li örneklerin ise düşük olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.15 Soğukta depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

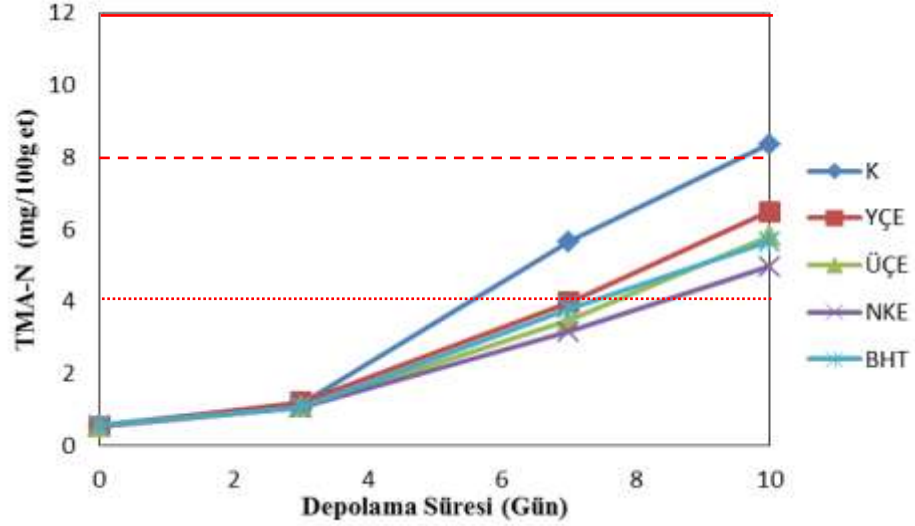
Süre (Gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	0.57±0.00 ^{Ad}	0.54±0.00 ^{Ad}	0.54±0.04 ^{Ad}	0.56±0.01 ^{Ad}	0.57±0.00 ^{Ad}	0.55±0.02
3	1.18±0.08 ^{Ac}	1.21±0.01 ^{Ac}	1.07±0.05 ^{Ac}	1.06±0.08 ^{Ac}	1.08±0.07 ^{Ac}	1.12±0.08
7	5.66±0.26 ^{Ab}	3.99±0.06 ^{Bb}	3.48±0.08 ^{Cb}	3.17±0.07 ^{Db}	3.80±0.06 ^{Bb}	4.02±0.92
10	8.36±0.15 ^{Aa}	6.49±0.01 ^{Ba}	5.81±0.09 ^{Ca}	4.96±0.03 ^{Da}	5.66±0.07 ^{Ca}	6.26±1.22
Ort.	5.24±4.09	4.14±3.19	3.48±2.54	3.18±2.27	3.50±2.48	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Farklı antioksidan kaynakları ilave edilerek soğukta depolanan uskumru kıymalarda TMA-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Depolama süresinin başlangıcında gruplar arasında istatistiki olarak farklılık olmadığı (P>0.01), 3. günden itibaren ise antioksidanların etkinliklerini gösterdikleri belirlenmiştir. Antioksidan

uygulamasının 7. güne kadar TMA-N oluşumunu baskıladığı, özellikle NKE'nin etkili olduğu çizelge 4.15' de görülmektedir. 10. günün sonunda ulaşılan TMA-N miktarları incelendiğinde ise, kontrol grubu (8.36 mg) balıkların en yüksek TMA-N miktarına sahip oldukları, bunu sırasıyla YÇE (6.49 mg), ÜÇE (5.81 mg), BHT (5.66 mg) ve NKE (4.96 mg) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ($P<0.01$).



Şekil 4.7 Soğukta depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim

Trimetilamin oksit su ürünlerinin depolanmasında mikroorganizmaların ve trimetilaminmetilaz enziminin etkisi ile trimetilamine (TMA) indirgenir. Uygun olmayan depolama koşullarında, dimetilamin (DMA), monometilamin (MMA), formaldehit ve amonyağa kadar indirgenir. TMA genellikle balıksı kokuya sahiptir ve TMA miktarının artışı su ürünlerinde bozulma kriteri olarak kullanılır (Varlık vd. 2000). Kaya vd. (2006), sıcak dumanlamanın $4\pm1^{\circ}\text{C}$ de depolanan palamutun raf ömrü üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, taze balıkta 1.19 mgN/100g TMA olarak bulunan değerlerin, dumanlama işleminden sonra depolama süresi boyunca yavaşça artmış olduğunu ve 15. günde 18.71 mgN/100g'a ulaştığını belirlemişlerdir. TMA-N değerine göre kalite sınıflandırılması; “4 mg/100g TMA-N’a kadar iyi, 10mg/100g TMA-N’a kadar pazarlanabilir, 12 mg/100g TMA-N bozulmuş” olarak gösterilmektedir (Varlık vd. 2000). Bu açıdan oluşturulan tüm grupların 10 günlük depolama sonrasında hala “pazarlanabilir” nitelikte oldukları söylenebilir.

4.3.8 Duyusal değerlendirme

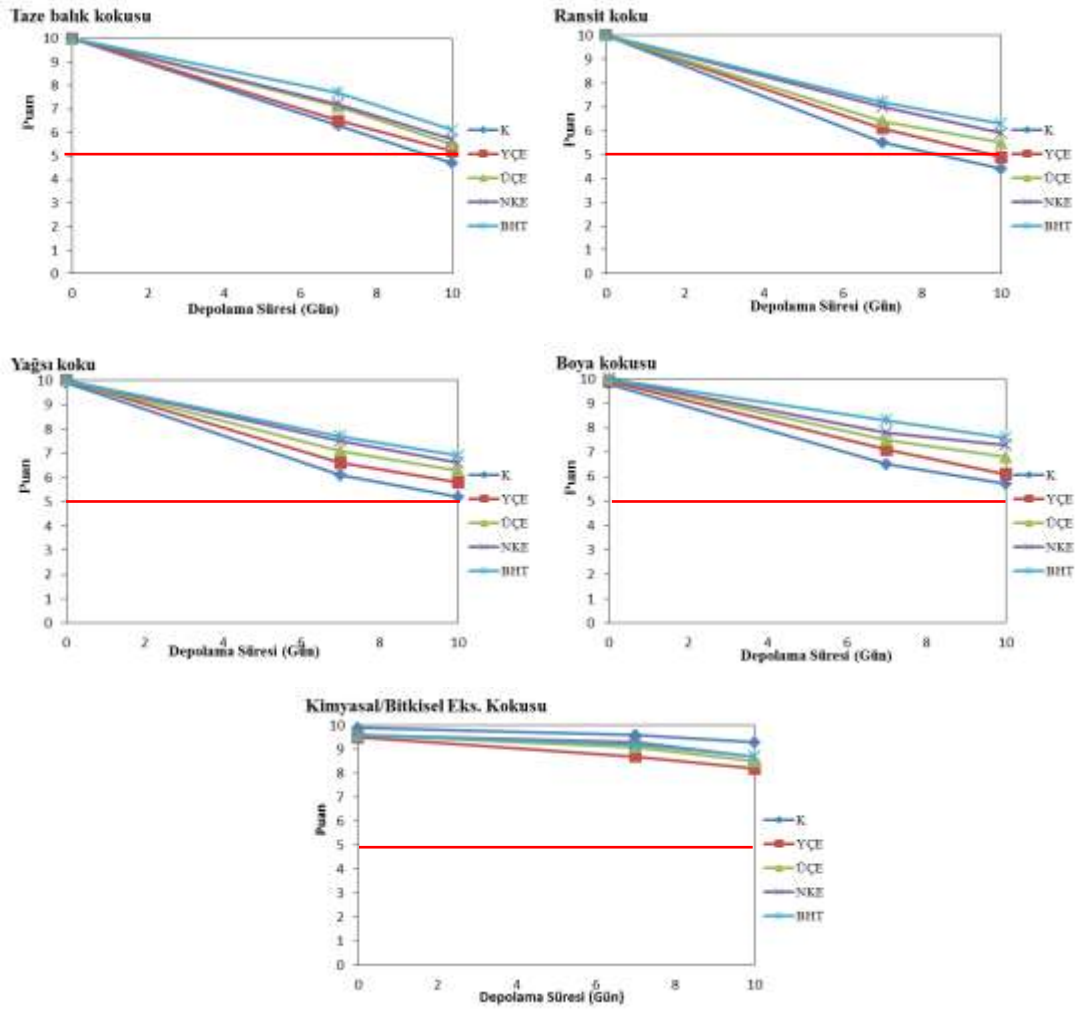
Hazırlanan kıyma uskumru örnekler soğukta depolama süresince çiğ olarak duyusal analize tabi tutulmuş, duyusal analizde örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Koku özelliği; taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden değerlendirilmiştir. Soğukta depolanan kıyma uskumruların duyusal analiz sonuçları çizelge 4.16’da verilmiştir. Depolama süresince belirlenen duyusal puanlarda meydana gelen değişimler ise şekil 4.8’de görülmektedir.

Çizelge 4.16 Soğukta depolanan uskumru kıymasının duyusal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

	Uygulama	Süre (gün)			
		0	7	10	Ort
Taze balık kokusu	K	10.0 ^{Aa}	6.3 ^{Cb}	4.7 ^{Dc}	7.0 ^C
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.5 ^{Cb}	5.2 ^{Cc}	7.2 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	7.1 ^{Bb}	5.5 ^{BCc}	7.5 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	7.2 ^{Bb}	5.7 ^{ABc}	7.6 ^B
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.7 ^{Ab}	6.1 ^{Ac}	7.9 ^A
	Ort	10.0 ^a	7.0 ^b	5.4 ^c	
Ransit koku	K	10.0 ^{Aa}	5.5 ^{Cb}	4.4 ^{Dc}	6.6 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.1 ^{Bb}	4.9 ^{Cc}	7.0 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	6.4 ^{Bb}	5.5 ^{Bc}	7.3 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	7.0 ^{Ab}	5.9 ^{ABc}	7.6 ^A
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.2 ^{Ab}	6.3 ^{Ac}	7.8 ^A
	Ort	10.0 ^a	6.4 ^b	5.4 ^c	
Yağsı koku	K	9.9 ^{Aa}	6.1 ^{Db}	5.2 ^{Dc}	7.1 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.6 ^{CDb}	5.8 ^{Cc}	7.5 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	7.1 ^{BCb}	6.3 ^{BCc}	7.8 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	7.5 ^{ABb}	6.6 ^{ABc}	8.0 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.7 ^{Ab}	6.9 ^{Ac}	8.2 ^A
	Ort	10.0 ^a	7.0 ^b	6.2 ^b	
Boya kokusu	K	9.8 ^{Aa}	6.5 ^{Db}	5.7 ^{Cc}	7.3 ^D
	YÇE	9.9 ^{Aa}	7.1 ^{Cb}	6.1 ^{Cc}	7.7 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	7.5 ^{BCb}	6.8 ^{Bc}	8.1 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	7.8 ^{ABb}	7.3 ^{ABb}	8.4 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	8.3 ^{Ab}	7.6 ^{Ac}	8.6 ^A
	Ort	9.9 ^a	7.4 ^b	6.7 ^c	
Kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu	K	9.9	9.6	9.3	9.6 ^A
	YÇE	9.5	8.7	8.2	8.8 ^C
	ÜÇE	9.6	9.1	8.5	9.1 ^B
	NKE	9.6	9.3	8.7	9.2 ^B
	BHT	9.6	9.2	8.7	9.2 ^B
	Ort	9.6 ^a	9.2 ^b	8.7 ^c	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (a-c) ve her bir sütunda (A-D) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.8 Soğukta depolanan uskumru kıymasının duyuusal puanlarındaki değişim

Soğukta depolanan kıyma uskumru balığında taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel eksrakt kokusunda meydana gelen değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 1). Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel eksrakt kokuları yönlerinden aldıkları puanlar azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait balıkların taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu açısından diğer gruplardan daha düşük; kimyasal/bitkisel eksrakt kokusu yönünden ise daha yüksek duyuusal puanlar aldıkları görülmektedir. Taze balık, ransit, yağsı ve boya koku özellikleri açısından BHT uygulanan balıkların diğer uygulamalardan daha yüksek puanlar aldıkları görülmektedir.

Taze balık kokusuna verilen puanlar incelendiğinde ÜÇE ve NKE uygulanan uskumrular arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$) da görülmektedir. Yağsı koku özelliği açısından NKE ve BHT uygulanan balıklar arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.01$). Boya kokusu özelliği incelendiğinde ise ÜÇE ve NKE uygulanan balıklar arasında ve NKE ile BHT uygulanan balıklar arasında herhangi bir farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P>0.01$). Kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu açısından ise ÜÇE, NKE ve BHT uygulanan gruplar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$).

Depolama süresince taze balık kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda taze balık kokusunun algılandığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan taze balık kokusu azalmış; kontrol grubuna ait balıklarda depolamanın 10. gününde sınır değer olan 5'in altına düşmüştür ($P<0.01$). Soğukta depolamanın 10. gününde kontrol grubuna ait balıkların taze balık kokusu açısından en düşük, BHT uygulanan balıkların ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$).

Depolama süresince ransit koku yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, depolamanın başlangıcında oluşturulan gruplarda ransit kokunun algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak algılanan ransit koku artmış ve buna bağlı olarak verilen puanlar azalmıştır. Kontrol grubuna ait ve YÇE uygulanan balıklarda ransit koku puanları depolamanın 10. gününde 5' in altına düşmüştür. Soğukta depolamanın 10. gününde kontrol grubuna ait balıkların ransit koku açısından en düşük, BHT uygulanan balıkların ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$).

Depolama başlangıcında yağsı koku hiç algılanmadığından tüm gruplara verilen puan ortalamaları 9.90-10.00 arasında değişmiştir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan yağsı koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolama süresince yağsı kokusu yönünden

verilen puanlar incelendiğinde, farklı antioksidan kaynakları kullanılarak hazırlanan balıklarda ve antioksidan ilavesiz kontrol örneklerinde depolamanın 10. gününde yağsı koku özelliği açısından verilen puanların sınır değeri olan 5'in altına düşmediği belirlenmiştir. Depolamanın 10. gününde kontrol örneklerin yağsı koku açısından en düşük, BHT'li örneklerin ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$).

Boya kokusu oksidasyonla birlikte algılanan bir kokudur. Bu nedenle oksidasyonun düzeyini belirlemek üzere boya kokusu yönünden değerlendirme de yapılmıştır. Depolama başlangıcında boya kokusu hiç algılanmadığından tüm gruplara verilen puan ortalamaları 9.80-10.00 arasında değişmiştir. Depolama süresince boya kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, balıkların depolamanın 10. gününde sınır değeri olan 5'in üzerinde puanlar aldıkları belirlenmiştir. Depolama sonunda YÇE, ÜÇE, NKE ve BHT uygulanan kıyma örnekler arasında boya kokusu açısından farklılık olmadığı ve kontrol grubundan yüksek puanlar aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolamanın 10. gününde kontrol grubuna ait balıkların boya kokusu açısından en düşük, BHT uygulanan balıkların ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama başlangıcında antioksidan uygulanmayan uskumrulara kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu algılanmamış, ancak antioksidan ilave edilen gruplarda kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu hissedilmiştir. Depolama süresine bağlı olarak kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusunda çok az değişim meydana gelmiş olup, depolamanın 10. gününde kontrol grubunun en yüksek, YÇE içeren balıkların ise en düşük puanı almış olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).

Soğukta depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, kontrol grubuna panelistler tarafından diğer örnek gruplarına nazaran daha düşük puanlar verilmiştir. Bu durum antioksidan ilavesinin balıkların koku özellikleri üzerine etkili olması ve istenmeyen kokunun azalmasına yardımcı olmasıyla açıklanabilir.

Yapılan araştırmalar lipoksigenaz enziminin balık aroması gelişimi üzerine anahtar bir

rol oynadığını göstermiştir (Josephson vd. 1984). Ortamda baskın şekilde bulunan lipoksigenaz enziminin balığın kendine özgü kokusunda etkili olduğu belirlenmiştir (German ve Richard 1990). Barbut vd. (1985) ve Spanier vd. (1992), et ürünlerinin duyuşal değerkendirme ile belirlenen ransit kokusunun hekzanal ve toplam uçucu bileşikler ile alakalı olduğunu ortaya koymuşlardır. Wu ve Brewer (1994), soya protein izolatu içeren kıyma örneklerin kontrolden daha az ransit kokuya sahip olduğunu belirlemişlerdir. Mansour ve Khalil (2000), patates kabuğu, buy otu tohumu ve zencefil ekstraktlarının sığır köftelerine ilave edilmesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ransit koku puanlarını azalttığını belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada uzayan depolama süresine bağılı olarak ransit kokunun arttığı da gösterilmiştir. Patates kabuğu içeren köfteler ile kontrol örneklerinde 12 günlük soğukta depolama sonunda belirlenen ransit kokunun çok güçlü; buy otu tohumu ve zencefil içeren köftelerin ransit kokularının ise daha hafif olduğu tespit edilmiştir. Fu vd. (2009), balıksı kokunun etin kıyma haline getirilmesi veya işlenmesi esnasında uygulanan homojenizasyon işlemlerine bağılı olarak hızla azaldığını göstermişlerdir.

4.3.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi

Lipid oksidasyonunun izlenmesi amacıyla geliştirilmiş pek çok yöntem vardır. Ancak bu yöntemlerin hiçbirisi tüm oksidatif olayların aynı anda izlenmesine olanak vermez. Bu yöntemlerde ya prosesin tüm aşamalarının ya da belirli yağ asitlerinin izlenmesi söz konusudur. Gıda gibi karmaşık sistemlerde basit bir test ile az miktardaki değışim izlenebilir. Bu nedenle farklı amaçlar için en iyi yöntem farklı testlerin bir arada yapılmasıdır. Araştırmada bu amaçla peroksit değeri, tiyobarbiturik asit reaktif maddesi miktarı, para-anisidin değeri belirlenmiş ve depolama süresince yağ asitlerinde meydana gelen değışimler izlenmiştir.

4.3.9.1 Peroksit değeri (PD)

Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen peroksit değeri (PD) meq O₂/kg lipid olarak çizelge 4.17’de ve şekil 4.9’da

görülmektedir.

Çizelge 4.17 Soğukta depolanan uskumru kıymasının peroksit değerine (meq O₂/kg lipid) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	2.24±0.12 ^{Ad}	2.00±0.01 ^{Ad}	1.94±0.01 ^{Ad}	1.98±0.04 ^{Ad}	1.95±0.01 ^{Ad}	2.02±0.12
3	9.89±0.19 ^{Ac}	9.37±0.21 ^{Ac}	8.60±0.07 ^{Bc}	7.97±0.04 ^{Cc}	7.84±0.06 ^{Cc}	8.73±0.84
7	21.21±0.46 ^{Aa}	18.81±0.23 ^{Ba}	16.75±0.01 ^{Ca}	14.12±0.15 ^{Eb}	15.07±0.07 ^{Db}	17.19±2.71
10	12.70±0.25 ^{Eb}	13.68±0.41 ^{Db}	14.50±0.09 ^{Cb}	18.60±0.21 ^{Ba}	19.20±0.32 ^{Aa}	15.74±2.80
Ort.	11.51±7.25	10.97±6.59	10.45±6.14	10.67±6.71	11.02±7.09	

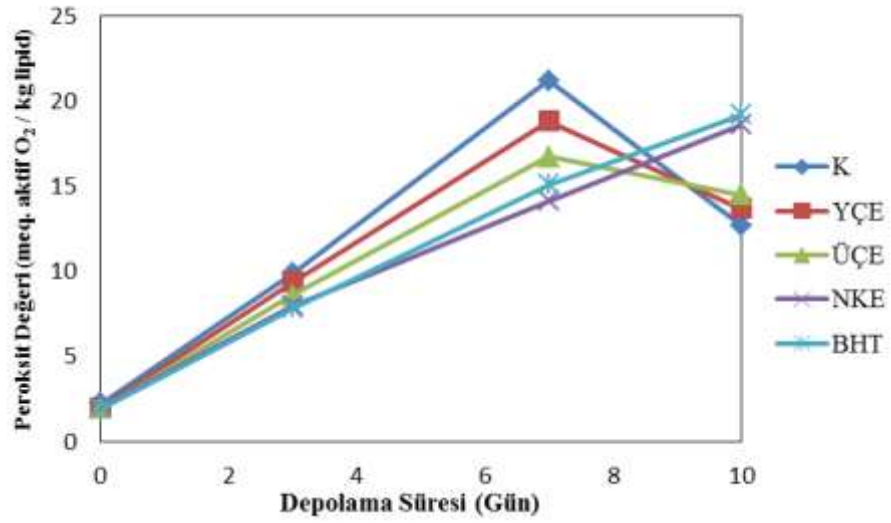
Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak kıyma örneklerin PD'lerinin depolamanın 7. gününe kadar arttığı, daha sonra tekrar azaldığı tespit edilmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 2.02 meq olarak belirlenen PD, 7. günde 17.19 meq-düzeyine ulaşmış, 10. günde ise 15.74 meq düzeyine azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulanmayan uskumru kıymalarının PD'lerinin yüksek (11.51 meq), ÜÇE balıkların PD'lerinin düşük (10.45 meq) olduğu görülmektedir.

Soğukta depolanan uskumru kıymasının peroksit değerlerindeki değişimlere depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun etkili olduğu belirlenmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Çizelge 4.17'de de görüldüğü gibi, K, YÇE ve NKE uygulanan balıklarda depolamanın 7. gününe kadar PD artmış, 7. günden sonra ise azalmıştır. 0. günde 2.24 meq olan kontrol grubunun PD, 7. günde 21.21'e ulaşmış, bu günden itibaren azalarak depolamanın 10. gününde 12.70 düzeyine düşmüştür. Benzer şekilde depolama süresinin başında 2.00 olarak belirlenen YÇE içeren balıkların PD, 7. günde 18.81 olmuş, 10. günde ise 13.68 olarak belirlenmiştir. ÜÇE ile muamele edilen balıklarda depolama süresinin başında 1.94 olan PD, 7. günde 16.75 düzeyine ulaşmış, 10. gün ise azalarak 14.50'e düşmüştür. NKE ve BHT içeren kıyma örneklerde ise depolama süresince PD sürekli artmıştır. Depolamanın başında 1.98 meq olan NKE içeren grubun PD, 10. günün sonunda 18.60'a ulaşmıştır. BHT ile muamele edilen grubun depolamanın başında belirlenen PD, 1.95 iken, 10. günün sonunda 19.20 düzeyine yükseldiği belirlenmiştir. Çizelge 4.17'de depolama süresinin başında oluşturulan gruplar

arasında herhangi bir farklılık olmadığı ($P>0.01$); depolamanın 7. gününde ise kontrol grubuna ait balıkların en yüksek PD sahip oldukları, bunu sırasıyla YÇE, ÜÇE, BHT ve NKE ile muamele edilen grupların izlediği görülmektedir ($P<0.01$). 10. günde tespit edilen PD karşılaştırıldığında BHT ve NKE içeren balıkların diğer gruplara göre daha yüksek PD sahip oldukları, bu grupları sırasıyla ÜÇE, YÇE ve antioksidan uygulanmayan kontrol grubuna ait balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).



Şekil 4.9 Soğukta depolanan uskumru kıymasının peroksit değerindeki değişim

Lipid oksidasyonunda doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla meydana gelen birincil oksidasyon ürünleri peroksitlerdir. Bu bakımdan acılaşmanın başlangıç aşamasında oluşan peroksitlerin saptanması çoğu zaman kalite göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yağlarda oksidasyonun bir göstergesi olan peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalan olarak miktarıdır. Elde edilen sonuçlar, K, YÇE ve ÜÇE uygulanan balıklarda oksidasyonun oldukça ilerlediğini, birincil oksidasyon ürünlerinin depolamanın 7. gününden sonra parçalanarak ikincil oksidasyon ürünlerine dönüştüğünü göstermektedir. NKE ve BHT içeren uskumrulara ise depolamanın 10. gününde bile peroksitlerin arttığı tespit edilmiştir. Bu durum, peroksit değeri açısından NKE ve BHT uygulamalarının diğer uygulamalardan daha etkili olduğunu göstermektedir.

4.3.9.2 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) değeri

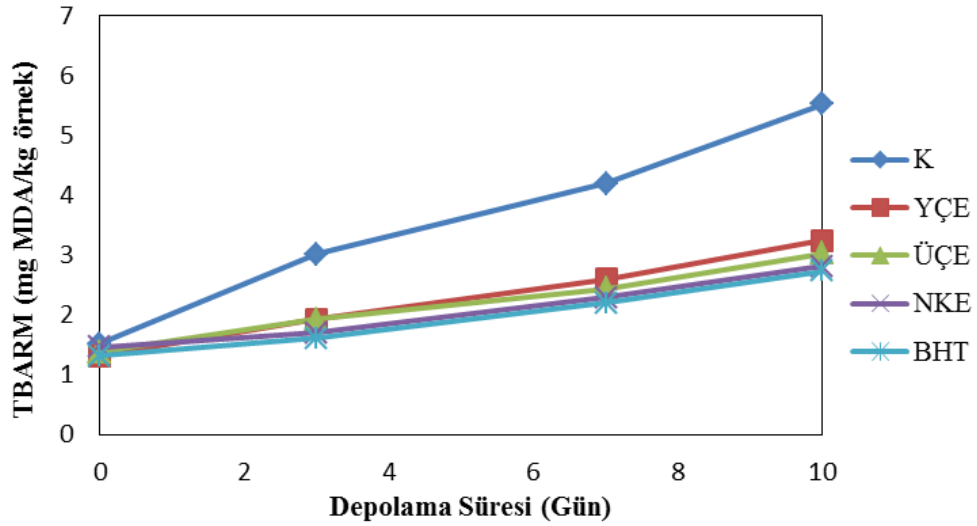
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen TBARM, mg malonaldehit/kg et olarak çizelge 4.18’de ve şekil 4.10’da görülmektedir.

Çizelge 4.18 Soğukta depolanan uskumru kıymasının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarına (mg MDA/kg et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	1.52±0.05 ^{Ad}	1.32±0.03 ^{Ad}	1.38±0.03 ^{Ad}	1.47±0.05 ^{Ad}	1.32±0.01 ^{Ad}	1.40±0.09
3	3.02±0.14 ^{Ac}	1.92±0.10 ^{Bc}	1.93±0.03 ^{Bc}	1.70±0.02 ^{Bc}	1.61±0.09 ^{Cc}	2.04±0.54
7	4.20±0.04 ^{Ab}	2.59±0.06 ^{Bb}	2.44±0.09 ^{BCb}	2.29±0.01 ^{CDb}	2.20±0.08 ^{Db}	2.75±0.78
10	5.53±0.09 ^{Aa}	3.25±0.08 ^{Ba}	3.03±0.02 ^{Ca}	2.81±0.10 ^{Da}	2.73±0.04 ^{Da}	3.47±1.10
Ort.	3.57±1.58	2.27±0.77	2.20±0.65	2.07±0.56	1.97±0.58	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.10 Soğukta depolanan uskumru kıymasının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak TBARM değerinin arttığı, başlangıçta 1.40 mg düzeyinde olan TBARM değerinin soğukta depolamanın 10. gününde 3.47 mg düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Başlangıçta 1.32-1.52 mg arasında değişen TBARM, depolama

süresi sonunda 2.73-5.53 mg düzeyine yükselmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TBARM değeri üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama TBARM değerinin oluşturulan diğer gruplardan çok daha yüksek olduğu çizelge 4.18’de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT’nin daha etkili olduğu, bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucunda, soğukta depolanan uskumru kıymasının TBARM değerindeki değişimlere depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). Kıyma halde soğukta depolanan örneklerde depolama süresine bağlı olarak TBARM değeri artmıştır ($P<0.01$). Depolama süresinin başında oluşturulan gruplar arasında istatistiki olarak bir farklılık olmadığı ($P>0.01$), antioksidan kaynaklarının depolamanın 3. gününde etki göstererek oksidasyonu sınırlandırdığı tespit edilmiştir. Depolamanın 10. gününde BHT (2.73 mg) ve NKE’li örneklerin (2.81 mg) TBARM değerlerinin diğerlerine kıyasla daha düşük olduğu, bu grupları sırasıyla ÜÇE (3.03 mg), YÇE (3.25 mg) içeren grupların izlediği ve en yüksek TBARM değerine kontrol grubu (5.53 mg) örneklerin sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$).

TBARM, lipid oksidasyonunun ikinci aşamasında oluşan malonaldehitin miktarını veren, oksidasyonun önemli bir göstergesidir. Mansour ve Khalil (2000), patates kabuğu, buy otu tohumu ve zencefil ekstraktı uyguladıkları sığır köftelerinin TBA değerlerinin depolama süresi ve antioksidan kaynağından etkilendiğini göstermişlerdir. Ekstrakt ilave edilen köftelerin kontrol örneklerine göre daha düşük TBA değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, depolama süresinin uzamasıyla tüm grupların TBA değerlerinin yükseldiği de gösterilmiştir (Mansour ve Khalil 2000). Tang vd. (2001) 4°C’de kıyma halde depolanan uskumru etinde çay kateşinlerinin etkilerini araştırmışlardır. Depolamanın başında K örneklerinde 10.50 mg MDA/kg olan TBARM değeri, 10 günlük depolama süresi sonunda 25.55 mg MDA/kg düzeyine ulaşmıştır. Yeşil çay içeren örneklerde ise depolama süresinin başında 4.04 mg MDA/kg olan TBARM değeri 10 günlük depolama süresi sonunda 8.66 mg MDA/kg düzeyinde

kalmıştır. Yapılan bu çalışmada toplam lipid miktarının, demir miktarının ve yağ asidi dağılımlarının TBARM değeri üzerine etkili olduğu da gösterilmiştir. Fernandez-Lopez vd. (2005), sığır köftelerine ilave edilen biberiye, limon ve portakal liflerinin, pişmiş köftelerin 8°C’de 12 gün depolanması sırasında lipid oksidasyonunu önemli düzeyde geciktirdiğini belirlemişlerdir. Yapılan çalışma sonrasında elde edilen verilere benzer şekilde, soğukta depolanan et ürünlerinde lipid oksidasyonunu geciktirmede NKE’nin etkili olduğu Kanatt vd. (2010) tarafından ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar, BHT ve NKE uygulamalarının oksidasyonu geciktirmede diğer uygulamalara kıyasla etkili olduğunu göstermektedir.

4.3.9.3 *para*-Anisidin (*p*-Ad) değeri

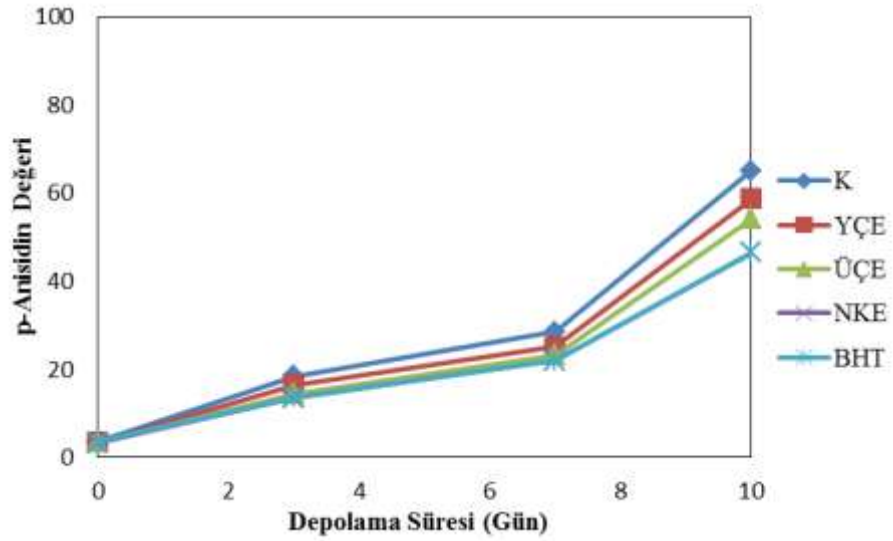
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen *p*-Ad sonuçları çizelge 19’da ve şekil 4.11’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak *p*-Ad’nin arttığı, başlangıçta 3.48 olan *p*-Ad’nin soğukta depolamanın 10. gününde 54.23 düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının *p*-Ad değeri üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait kıymaların ortalama *p*-Ad sonuçlarının oluşturulan diğer gruplardan yüksek olduğu çizelge 4.19’da görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise NKE ve BHT’nin daha etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11).

Çizelge 4.19 Soğukta depolanan uskumru kıymasının *p*-Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	3.62±0.17 ^{Ad}	3.46±0.30 ^{Ad}	3.39±0.29 ^{Ad}	3.36±0.15 ^{Ad}	3.54±0.02 ^{Ad}	3.48±0.19
3	18.44±0.02 ^{Ac}	16.49±0.36 ^{Bc}	14.49±0.36 ^{Cc}	13.57±0.17 ^{Cc}	13.60±0.26 ^{Cc}	15.32±2.00
7	28.58±0.62 ^{Ab}	25.14±0.38 ^{Bb}	23.32±0.13 ^{Cb}	22.00±0.58 ^{Db}	21.97±0.13 ^{Db}	24.20±2.63
10	65.09±0.27 ^{Aa}	58.68±0.12 ^{Ba}	54.19±0.12 ^{Ca}	46.57±1.05 ^{Da}	46.60±0.68 ^{Da}	54.23±7.53
Ort.	28.93±24.5	25.94±21.83	23.85±20.19	21.38±17.08	21.43±17.03	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.11 Soğukta depolanan uskumru kıymasının p-Anisidin değerindeki değişim

Yapılan varyans analizi sonuçları, soğukta depolanan uskumru kıymalarının *p*-Ad'ne depolama süresinin, uygulamanın ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun etkili olduğunu göstermiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 1). Soğukta depolanan uskumru kıyma örneklerinin *p*-Ad düzeyleri depolama süresince artmıştır ($P < 0.01$). Depolama süresinin başında, oluşturulan gruplar arasında bir farklılık olmadığı ($P > 0.01$) ve *p*-Ad sonuçlarının 3.36-3.62 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların *p*-Ad düzeyleri önemli düzeyde artmıştır ($P < 0.01$). Depolamanın 3. gününde antioksidan kaynaklarının etkilerini gösterdiği belirlenmiştir. 3. gün elde edilen veriler karşılaştırıldığında ÜÇE, NKE ve BHT'nin *p*-Ad üzerine etkili olduğu görülmektedir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak NKE ve BHT'nin oksidasyonu engellemede ÜÇE'na kıyasla daha etkili olduğu ortaya konmuştur. 10. gün *p*-Ad sonuçları karşılaştırıldığında kontrol grubu balıkların en yüksek (65.09) *p*-Ad sahip olduğu, bu grubu sırasıyla YÇE (58.68), ÜÇE (54.19), NKE (46.57) ve BHT (46.60) uygulanan balıkların izlediği görülmektedir. NKE ve BHT içeren kıyma örnekler arasında 10. günde belirlenen *p*-Ad açısından istatistiki olarak farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P > 0.01$). *p*-Ad açısından NKE'nin BHT kadar etkili olduğu tespit edilmiştir.

p-Anisidin değeri, lipid oksidasyonunun birincil ürünlerinin (hidroperoksitler) ikincil oksidasyon ürünlerine (karboniller) dönüşmesiyle artış gösterir. Soğukta depolama

sonunda, NKE içeren örnekler ile BHT uygulanan balıklar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bu durum, oksidasyonu önlemek amacıyla kullanılan nar kabuğu ekstraktının, BHT kadar etkili olduğunu göstermektedir. Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin elektron vererek redüktan işlevi gördükleri, serbest radikallerle reaksiyona girerek bu bileşikleri daha stabil bileşiklere dönüştürdükleri ve serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırdıkları bilinmektedir (Negi ve Jayaprakasha 2003).

4.3.9.4 Yağ asitleri dağılımı

Soğukta depolanan uskumru kıymalarının depolama süresince belirlenen yağ asidi dağılımları sırasıyla çizelge 4.20’de verilmiştir. Yağ asitlerinde miktar tayini, tespit edilen tüm yağ asidi piklerinin altında kalan alan ve her bir yağ asidine ait pikin altında kalan alan kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar “g yağ asidi/100g toplam yağ asidi” olarak verilmiştir.

Çalışmada, uskumru kıymalarının palmitik asit, oleik asit ve dokosahekzaenoik asit yağ asitlerini yüksek oranda içerdiği belirlenmiştir. Soğukta depolanan uskumru kıymalarının depolanması süresince miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, eikosaenoik asit miktarı artmış; linoleik asit, eikosatrienoik asit, eikosapentaenoik asit, dokosapentaenoik asit ve dokosahekzaenoik asit miktarı azalmıştır. Çoklu doymamışlık gösteren linoleik asit, eikosatrienoik asit, eikosapentaenoik asit, dokosapentaenoik asit ve dokosahekzaenoik asit miktarlarındaki azalma diğerlerinden daha fazla olmuştur. Genel olarak soğukta depolanan uskumru kıymalarının çoklu doymamış yağ asidi miktarlarının azaldığı, tekli doymamış yağ asidi ve doymuş yağ asidi miktarlarının ise arttığı tespit edilmiştir.

Beamonte ve Castrillon (1989), taze sardalya balık yağının C16:0, C18:1 (n-9), C22:5 (n-3) C22:6 (n-3) yağ asitlerini yüksek oranda içerdiğini ve doymuş yağ asidi miktarının düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Çizelge 4.20 Soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%)

Yağ asidi	Çıkış zamanı (dakika)	Uygulama	Süre (Gün)			
			0	3	7	10
Miristik asit (C14:0)	4.40	K	2.12	2.19	2.63	2.99
		YÇE	1.98	2.06	2.52	2.58
		ÜÇE	2.07	2.18	2.58	2.88
		NKE	2.21	2.29	2.55	2.68
		BHT	2.11	2.24	2.43	2.83
Palmitik asit (C16:0)	6.37	K	23.89	23.94	25.51	26.12
		YÇE	21.65	22.82	23.66	24.23
		ÜÇE	22.68	22.84	24.80	25.06
		NKE	22.72	22.78	23.82	24.90
		BHT	23.19	23.93	24.81	26.01
Palmitoleik asit (C16:1)	6.75	K	3.69	3.79	4.59	4.92
		YÇE	3.49	3.54	4.13	4.52
		ÜÇE	3.49	3.76	4.25	4.57
		NKE	3.71	3.69	4.05	4.19
		BHT	3.59	3.69	3.91	4.98
Stearik asit (C18:0)	10.03	K	7.09	7.20	7.45	7.68
		YÇE	6.45	7.00	7.18	7.25
		ÜÇE	6.72	7.05	7.47	7.63
		NKE	6.76	6.81	6.95	7.11
		BHT	7.06	7.28	7.56	7.83
Oleik asit (C18:1 n-9)	10.77	K	25.32	26.56	31.22	32.15
		YÇE	24.62	25.92	27.62	29.51
		ÜÇE	23.90	25.88	29.34	30.34
		NKE	24.89	25.64	28.49	28.83
		BHT	23.24	23.75	24.33	27.13
Linoleik asit (C18:2 n-9)	12.16	K	2.02	2.09	2.08	2.07
		YÇE	2.13	2.15	2.19	2.28
		ÜÇE	2.11	2.19	2.21	2.26
		NKE	2.09	2.06	2.17	2.05
		BHT	1.86	1.85	1.90	2.05
Eikosaenoik asit (C20:1)	18.04	K	1.72	1.85	2.19	2.43
		YÇE	1.65	1.77	2.11	2.23
		ÜÇE	1.60	1.81	2.15	2.16
		NKE	1.75	1.88	2.19	2.21
		BHT	1.60	1.68	1.84	2.05
Eikosatrienoik asit (C20:3)	23.82	K	2.73	2.52	1.82	1.59
		YÇE	2.76	2.55	2.05	1.98
		ÜÇE	2.72	2.46	2.14	1.85
		NKE	2.55	2.54	2.29	2.36
		BHT	2.43	2.25	2.12	1.68
Eikosapentaenoik asit (C20:5)	28.75	K	4.67	4.53	3.43	3.33
		YÇE	4.89	4.34	4.03	3.84
		ÜÇE	4.99	4.87	4.42	4.06
		NKE	4.72	4.56	3.85	4.02
		BHT	4.96	4.92	4.47	3.85
Dokosapentaenoik asit (DPA) (C22:5 n-3)	51.84	K	1.93	1.75	1.55	1.43
		YÇE	1.88	1.75	1.55	1.42
		ÜÇE	1.77	1.61	1.59	1.35
		NKE	1.52	1.53	1.44	1.41
		BHT	1.46	1.48	1.35	1.33

Çizelge 4.20 Soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%) (devam)

Dokosaheksaenoik asit (DHA) (C22:6 n-3)	56.52	K	24.81	23.56	17.54	15.30
		YÇE	28.50	26.11	22.94	20.16
		ÜÇE	27.95	25.35	19.04	17.83
		NKE	27.10	26.22	22.18	20.23
		BHT	28.49	26.93	25.27	20.25
DYA	-	K	33.10	33.34	35.59	36.78
		YÇE	30.08	31.87	33.37	34.07
		ÜÇE	31.47	32.07	34.85	35.57
		NKE	31.68	31.88	33.33	34.69
		BHT	32.37	33.45	34.81	36.67
TDYA	-	K	30.74	32.20	38.00	39.45
		YÇE	29.76	31.23	33.87	36.26
		ÜÇE	28.99	31.45	35.74	37.08
		NKE	30.34	31.21	34.73	35.23
		BHT	28.43	29.12	30.08	34.16
ÇDYA	-	K	36.16	34.45	26.41	23.72
		YÇE	40.16	36.90	32.77	29.67
		ÜÇE	39.54	36.48	29.40	27.35
		NKE	37.98	36.90	31.94	30.07
		BHT	39.20	37.43	35.11	29.16

DYA: Doymuş yağ asitleri toplamı, TDYA: Tekli doymamış yağ asitleri toplamı, ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri toplamı.

Balık eti, yapısında bulunan yüksek orandaki doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle oksidatif değişmelere hassasiyet göstermekte ve kalite kayıplarına uğramaktadır. Yağlı balıkların yüksek oranda içerdikleri çoklu doymamış yağ asitleri, yapılarında bulunan heme pigmentleri ve iz miktardaki metal iyonlarının etkisiyle oksidasyona duyarlılıklarının yüksek olduğu bilinmektedir (Hsieh ve Kinsella 1989). Lipid oksidasyonunu izlemek amacıyla seçilen yağ asidine her bir antioksidanın göstereceği etkinin farklı olduğu Luther vd. (2007) tarafından ortaya konmuştur. Ekstraktların etki mekanizmaları kesin olarak açıklanamamakla birlikte, farklı polaritedeki antioksidanların yağ içerisinde gösterdikleri dağılım farklılığının bu duruma neden olabileceği düşünülmektedir. Bu açıklama, farklı gıda sistemlerinin besleyicilik değerlerinin azalmasına ve ransit tat gelişimine engel olmak amacıyla en uygun antioksidan kaynağının seçilmesi açısından önemlidir.

4.3.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi

Et ve et ürünlerinde protein oksidasyonunun izlenmesi amacıyla geliştirilmiş pek çok

yöntem vardır. Ancak bu yöntemlerin hiçbiri tüm oksidatif olayların aynı anda izlenmesine olanak vermez. Bu nedenle farklı amaçlar için en iyi yöntem farklı testlerin bir arada yapılmasıdır. Araştırmada bu amaçla depolama süresince; toplam karbonil miktarı, toplam sülfidril miktarı, protein çözünürlüğü ve sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) tekniği ile miyofibrilar proteinlerinde meydana gelen değişimler belirlenmiştir.

4.3.10.1 Toplam karbonil miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen toplam karbonil miktarları, nmol karbonil/mg protein olarak çizelge 4.21’de ve şekil 4.12’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak karbonil miktarının arttığı, başlangıçta 0.74 nmol olan karbonil miktarının soğukta depolamanın 10. gününde 1.43 nmol düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının karbonil miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol örneklerin ortalama karbonil miktarının diğer gruplardan daha yüksek olduğu çizelge 4.21’de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise NKE ve BHT’nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.21 Soğukta depolanan uskumru kıymasının karbonil miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

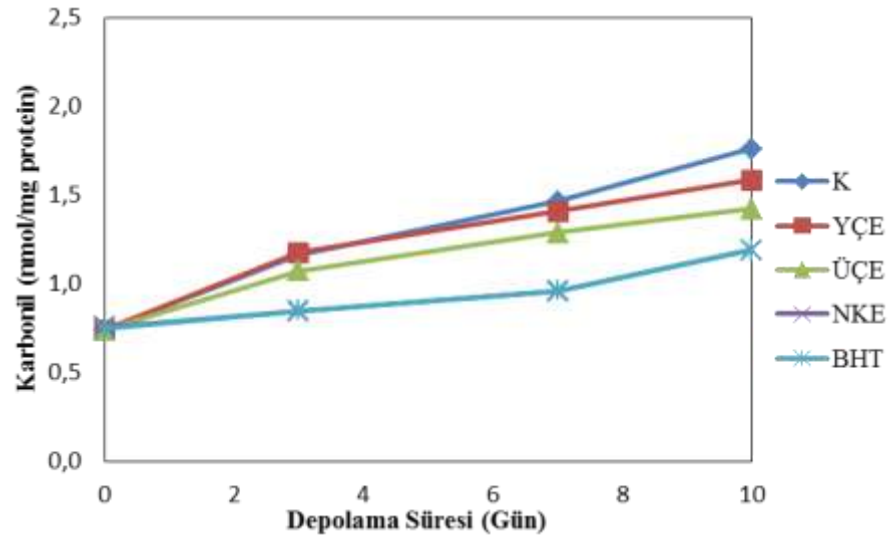
Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	0.74±0.01 ^{Ad}	0.74±0.00 ^{Ad}	0.74±0.02 ^{Ad}	0.76±0.00 ^{Ac}	0.75±0.00 ^{Ac}	0.74±0.01
3	1.17±0.07 ^{Ac}	1.17±0.09 ^{Ac}	1.07±0.06 ^{Ac}	0.84±0.00 ^{Bc}	0.85±0.00 ^{Bc}	1.02±0.16
7	1.46±0.05 ^{Ab}	1.41±0.02 ^{Ab}	1.29±0.02 ^{Bb}	0.96±0.01 ^{Cb}	0.96±0.01 ^{Cb}	1.21±0.23
10	1.76±0.06 ^{Aa}	1.58±0.01 ^{Ba}	1.42±0.01 ^{Ca}	1.19±0.02 ^{Da}	1.19±0.06 ^{Da}	1.43±0.24
Ort.	1.28±0.41	1.23±0.34	1.13±0.28	0.94±0.17	0.94±0.18	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Soğukta depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkili olduğu belirlenmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Kıyma halde depolanan uskumruların

depolama süresinin başında 0.74-0.76 nmol olarak belirlenen toplam karbonil miktarları 10 günlük depolama süresi sonunda 1.19-1.76 nmol aralığına yükselmiştir. Depolama süresinin başında, gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). NKE ve BHT depolamanın 3. gününde etkisini göstererek karbonil düzeyindeki artışı sınırlandırdığı belirlenmiştir. Depolamanın 7. gününde ÜÇE ve 10. gününde YÇE'nin karbonil miktarı üzerine etki gösterdiği de tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda ise, BHT (1.19 nmol) ve NKE (1.19 nmol) ile muamele edilen grupların toplam karbonil miktarlarının diğer gruplara göre düşük olduğu ve bu grupları sırasıyla ÜÇE (1.42), YÇE (1.58) ve K grubu (1.76) örneklerin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının özellikle de BHT ve NKE'nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12 Soğukta depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarındaki değişim

Reaktif oksijen türlerinin kas proteinlerindeki amino asitleri parçalaması sonucunda karbonil bileşiklerinin miktarı artmaktadır. Protein oksidasyonunun en belirgin özelliği, oksidasyonla birlikte karbonil bileşiklerinin oluşmasıdır. Bu nedenle karbonil gruplarının miktarı, protein oksidasyonunu gösteren bir parametre olarak kabul edilmektedir (Levine vd. 1990, Eymard vd. 2009, Soyer vd. 2010). Uskumru kıymasının değişik şekillerde yıkanarak ve 5°C'de 96 saat depolanması süresince lipid ve protein

oksidasyonunun izlendiği bir çalışmada, depolama süresince en düşük karbonil içeriği yıkanmayan kıyma örneklerinde bulunurken, en yüksek karbonil miktarı 12 saatlik depolama sonunda belirlenmiştir (Eymard vd. 2009).

4.3.10.2 Toplam sülfidril miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen toplam sülfidril miktarları, nmol sülfidril/mg protein olarak çizelge 4.22’de ve şekil 4.13’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak sülfidril miktarının azaldığı, başlangıçta 40.76 nmol olan sülfidril miktarının soğukta depolamanın 10. gününde 19.15 nmol düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının sülfidril miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol örneklerinin ortalama sülfidril miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise NKE’nin daha etili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.22 Soğukta depolanan uskumru kıymasının sülfidril miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

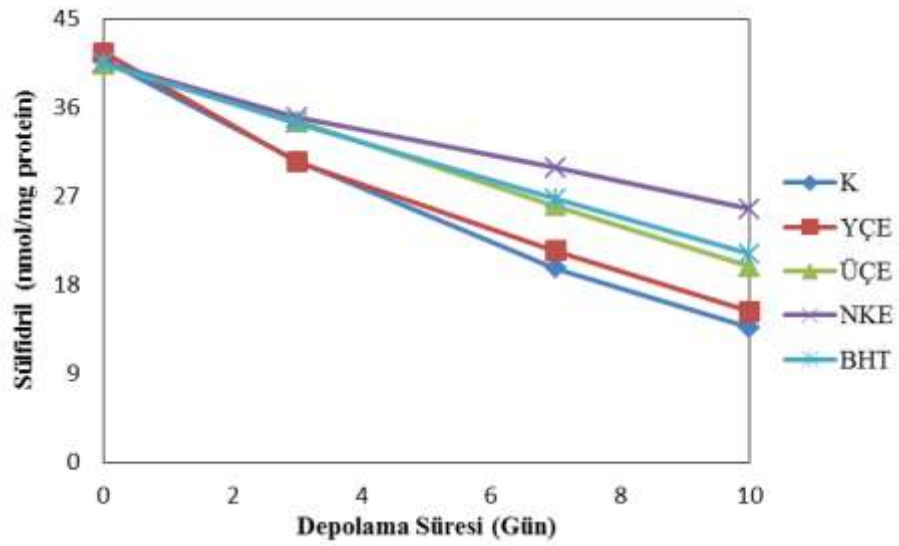
Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	40.89±0.27 ^{ABa}	41.58±0.19 ^{Aa}	40.35±0.09 ^{Ba}	40.53±0.04 ^{Ba}	40.47±0.05 ^{Ba}	40.76±0.48
3	30.56±0.16 ^{Bb}	30.50±0.36 ^{Bb}	34.60±0.21 ^{Ab}	34.99±0.19 ^{Ab}	34.39±0.34 ^{Ab}	33.01±2.15
7	19.69±0.08 ^{Dc}	21.46±0.42 ^{Cc}	26.03±0.40 ^{Bc}	29.90±0.23 ^{Ac}	26.74±0.88 ^{Bc}	24.76±3.92
10	13.69±0.07 ^{Ed}	15.31±0.09 ^{Dd}	19.91±0.05 ^{Cd}	25.71±0.26 ^{Ad}	21.15±0.00 ^{Bd}	19.15±4.53
Ort.	26.21±11.13	27.21±10.58	30.22±8.38	32.78±5.94	30.69±7.86	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Soğukta depolanan uskumru kıymalarının toplam sülfidril miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 1). Kıyma halde soğukta depolanan uskumrulara depolama süresinin başında 40.35-41.58 nmol düzeyinde olan toplam sülfidril içeriklerinin depolama sonunda 13.69-25.71 nmol aralığına düştüğü çizelge 4.22’de görülmektedir. Depolama süresinin başında YÇE uygulanan örneklerin

diğerlerine göre daha yüksek sülfidril içeriğine sahip olduğu, bunu sırasıyla K, NKE, BHT ve ÜÇE içeren örneklerin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). ÜÇE, NKE ve BHT'li örneklerin 0. günde belirlenen sülfidril miktarları arasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). 3 günlük depolama süresi sonunda K ve YÇE'li örneklerde sülfidril miktarının diğer uygulamalara göre daha hızlı azaldığı, ÜÇE, NKE ve BHT'nin etkilerini göstererek sülfidril miktarındaki azalmayı sınırlandırdıkları tespit edilmiştir. 7 günlük depolama süresi sonunda NKE'li örneklerin diğerlerinden daha yüksek sülfidril miktarına sahip olduğu çizelge 4.22'de görülmektedir. 10 günlük depolama süresi sonunda ise, NKE (25.71 nmol) içeren balıkların en yüksek sülfidril içeriğine sahip olduğunu, bunu sırasıyla BHT (21.15 nmol), ÜÇE (19.91 nmo), YÇE (15.31 nmol) ve K (13.69 nmol) örneklerinin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının özellikle de BHT ve NKE'nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.13 Soğukta depolanan uskumru kıymasında sülfidril miktarındaki değişim

Proteinlerin okside olması sonucunda sülfidril grupları molekül içerisinde veya moleküller arasında disülfid bağları oluşturmakta, oksidasyonun ilerlemesine bağlı olarak da sülfidril gruplarının miktarı azalmaktadır. Bu nedenle gıdalarda toplam sülfidril miktarının belirlenmesi, proteinlerde meydana gelen oksidasyonun düzeyini

anlamada yaygın olarak kullanılmaktadır (Soyer vd. 2010).

4.3.10.3 Protein çözünürlüğü

Farklı antioksidan kaynakları ile muamele edilen uskumru kıymasında soğukta depolama sırasında belirlenen toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) sonuçları çizelge 4.23’de verilmiştir. TPÇ, MPÇ ve SPÇ miktarlarında soğukta depolama süresince belirlenen değişimler ise şekil 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.23 Soğukta depolanan uskumru kıymasının toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

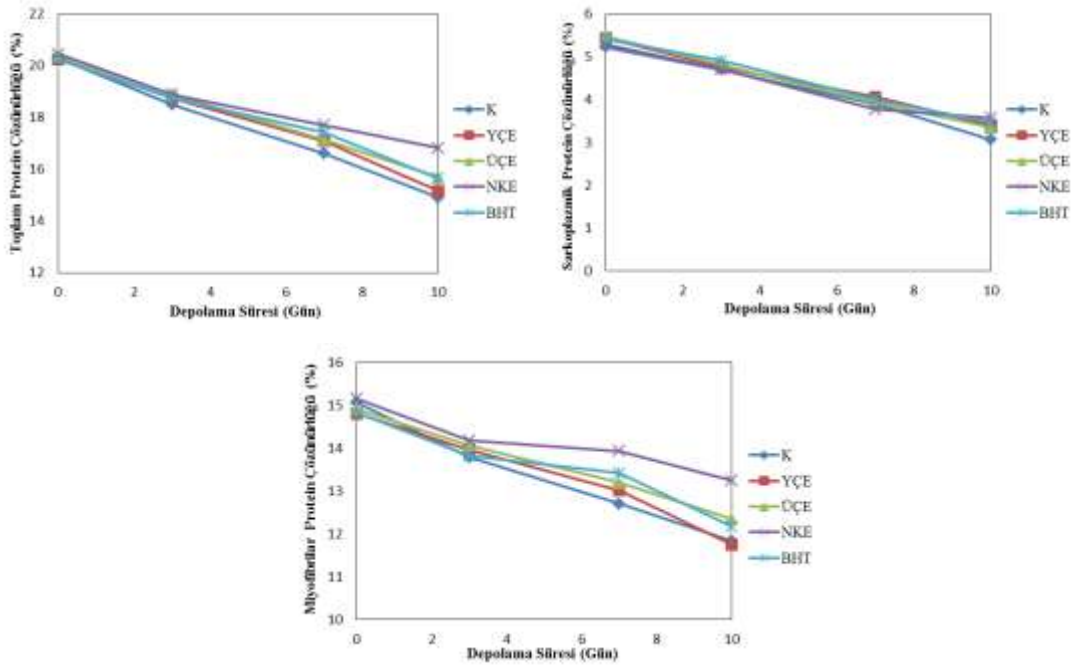
Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
TPÇ						
0	20.29±0.32 ^{Aa}	20.25±0.28 ^{Aa}	20.39±0.20 ^{Aa}	20.45±0.17 ^{Aa}	20.24±0.04 ^{Aa}	20.32±0.19
3	18.49±0.10 ^{Ab}	18.73±0.02 ^{Ab}	18.88±0.12 ^{Ab}	18.88±0.13 ^{Ab}	18.73±0.04 ^{Ab}	18.74±0.17
7	16.60±0.21 ^{Cc}	17.07±0.07 ^{Bc}	17.12±0.14 ^{Bc}	17.70±0.21 ^{Ac}	17.41±0.08 ^{ABc}	17.18±0.40
10	14.90±0.04 ^{Cd}	15.15±0.10 ^{Cd}	15.69±0.01 ^{Bd}	16.82±0.14 ^{Ad}	15.64±0.07 ^{Bd}	15.64±0.70
Ort.	17.57±2.16	17.80±2.03	18.02±1.90	18.46±1.46	18.00±1.81	
SPÇ						
0	5.22±0.02	5.44±0.27	5.48±0.04	5.30±0.03	5.41±0.13	5.37±0.14 ^a
3	4.70±0.07	4.77±0.04	4.82±0.09	4.70±0.07	4.91±0.05	4.78±0.10 ^b
7	3.90±0.07	4.06±0.07	3.93±0.07	3.77±0.03	4.00±0.04	3.93±0.11 ^c
10	3.07±0.06	3.65±0.03	3.34±0.20	3.58±0.32	3.46±0.37	3.42±0.28 ^d
Ort.*	4.22±0.88 ^B	4.48±0.74 ^A	4.39±0.88 ^A	4.34±0.76 ^{AB}	4.45±0.83 ^A	
MPÇ						
0	15.07±0.30 ^{Aa}	14.81±0.02 ^{Aa}	14.91±0.24 ^{Aa}	15.15±0.20 ^{Aa}	14.82±0.17 ^{Aa}	14.95±0.21
3	13.79±0.18 ^{Ab}	13.96±0.07 ^{Ab}	14.07±0.21 ^{Ab}	14.18±0.06 ^{Ab}	13.82±0.09 ^{Ab}	13.96±0.19
7	12.70±0.14 ^{Cc}	13.01±0.00 ^{BCc}	13.19±0.20 ^{BCc}	13.93±0.24 ^{Ab}	13.41±0.04 ^{ABb}	13.25±0.45
10	11.84±0.02 ^{BCd}	11.50±0.13 ^{Cd}	12.35±0.19 ^{Bd}	13.24±0.17 ^{Ac}	12.18±0.44 ^{Bc}	12.22±0.65
Ort.	13.35±1.30	13.32±1.31	13.63±1.04	14.13±0.75	13.56±1.03	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01; *P<0.05).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak TPÇ’nün, SPÇ’nün ve MPÇ’nün azaldığı gözlenmiştir. Depolama başlangıcında ve 10. gününde TPÇ; %20.32’den %15.64’e

(%23 azalma), SPÇ; %5.37'den %3.42'ye (%36 azalma), MPÇ; %14.95'den %12.22'ye (%18 azalma) azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TPÇ, SPÇ ve MPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama TPÇ'nün diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise NKE'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.14 Soğukta depolanan uskumru kıymasında toplam, sarkoplazmik ve miyofibrillar protein çözünürlüğündeki değişim

Soğukta depolanan uskumru kıymasında TPÇ'ne depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$ EK 4 Çizelge 1). Depolama süresinin başında kıyma örneklerin %20.24-20.45 aralığında değişen TPÇ değerleri azalmış ve depolama süresi sonunda %14.90-16.82 aralığına düşmüştür. Depolamanın başında ve 3. günde gruplar arasında önemli bir farklılık belirlenmemişken, 7 günlük depolama sonunda antioksidan kaynaklarının TPÇ'nün azalmasını engelledikleri tespit edilmiştir. 10 gün soğukta depolama sonunda NKE (%16.82) içeren balıkların TPÇ değerinin en yüksek, kontrol (%14.90) ve YÇE (%15.15) örneklerinin ise en düşük olduğu gözlenmiştir ($P < 0.01$). Elde edilen sonuçlar, depolama süresinin uzamasına bağlı olarak toplam protein çözünürlüğünün azaldığını,

antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin TPC'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Antioksidan ilavesiz kontrol örneklerin ortalama SPÇ'nün diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamasının da SPÇ üzerine etili olduğu çizelge 4.23'de görülmektedir. Soğukta depolanan kıyma uskumru örneklerinin SPÇ üzerine, depolama süresi ve uygulamanın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, $P<0.05$, EK 4 Çizelge 1). Oluşturulan grupların ortalama SPÇ değerleri, $YÇE > BHT > ÜÇE > NKE > K$ şeklinde sıralanmıştır ($P<0.01$).

Antioksidan ilavesiz kontrol örnekler ile YÇE'li örneklerin ortalama MPC'nün diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise NKE'nin daha etili olduğu belirlenmiştir. Soğukta depolanan kıyma uskumru örneklerinin MPC'ne depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 1). Depolama süresinin başında %14.81-15.15 arasında değişen MPC miktarları depolama süresi sonunda %11.50-13.24 aralığına düşmüştür. Depolamanın başında ve 3. günde gruplar arasında önemli bir farklılık belirlenmemişken ($P>0.01$), 7 günlük depolama sonunda antioksidan kaynaklarının TPC'nün azalmasını sınırlandırdıkları tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda NKE (%13.24) içeren örneklerin en yüksek MPC değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). 10 günlük depolama sonunda NKE içeren örnekleri sırasıyla ÜÇE (%12.35), BHT (%12.18), kontrol (%11.84) ve YÇE (%11.50) örnekleri izlemiştir. Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı MPC'nün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin MPC'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

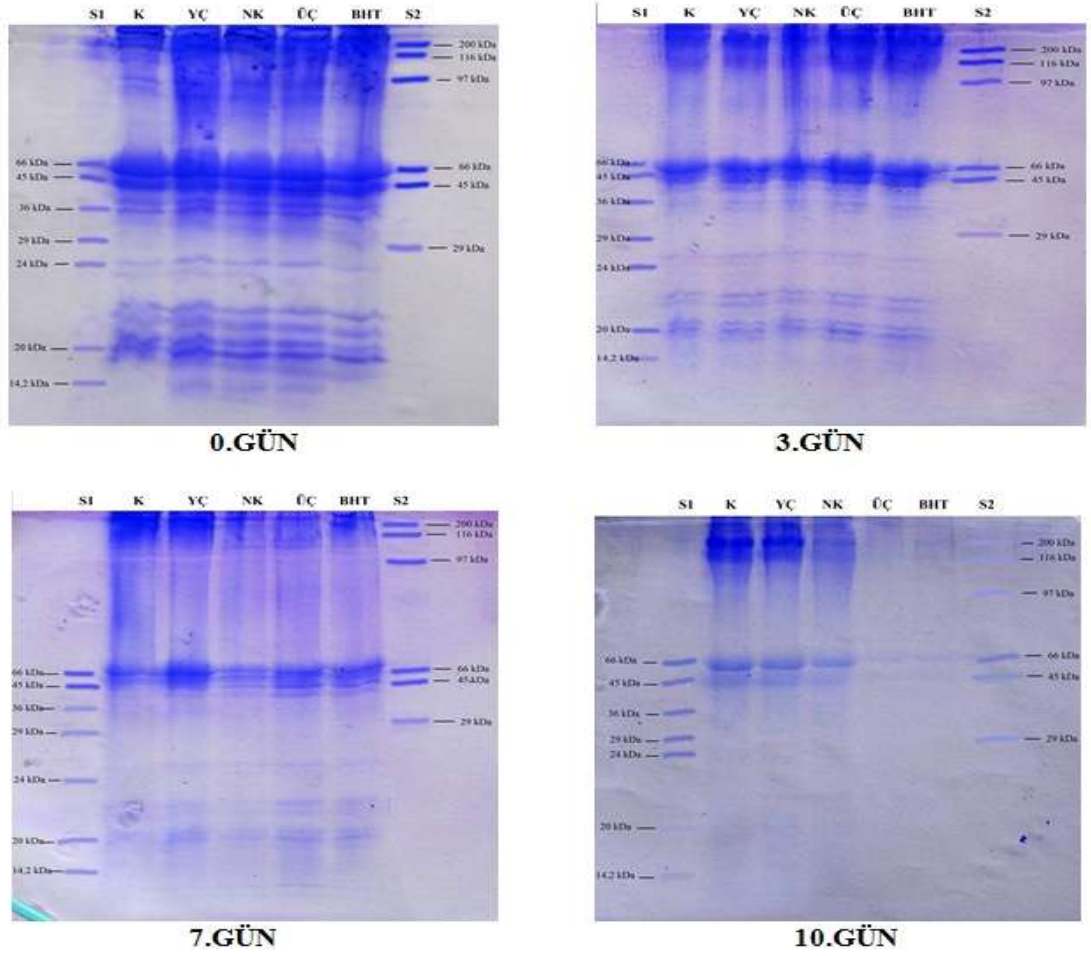
Elde edilen sonuçlar, uskumru kıymasında belirlenen toplam protein çözünürlüğünün büyük oranda miyofibrillar proteinlerden kaynaklandığını, uzayan depolama süresine bağlı olarak miyofibrillar proteinlerin etkilendiğini göstermektedir. Depolama süresince SPÇ'nde ve MPC'nde önemli miktarda azalma tespit edilmiştir.

4.3.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil

Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) tekniği ile soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresince miyofibrilar proteinlerinde meydana gelen değişmeler belirlenmiştir. Soğukta depolanan kıyma örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS-PAGE elektroforetogramları şekil 4.15’de verilmiştir.

Soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresinin başlangıcında (0. gün) oluşturulan tüm gruplarda 200, 116, 97, 66, 45, 36 ve 24 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirgin bir şekilde görölmektedir. Ayrıca 97-66, 36-29 ve 24-20 kDa aralığında protein bantları belirlenmiştir. YÇE, NKE ve ÜÇE içeren balıklarda diğerlerinden farklı olarak 14.2 kDa molekül ağırlığındaki protein bandı belirlenmiştir. Soğukta depolamanın 3. gününde elde edilen elektroforetogramlarda 200, 116, 66, 45, 36, 24 ve 20 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirlenmiştir. Bu bantlardan 66 ve 45 kDa molekül ağırlığındaki bantlar yoğunken, 24 kDa molekül ağırlığındakilerin yoğunlukları daha azdır. 3 günlük depolama süresi sonunda elde edilen elektroforetogramda 24-20 kDa aralığında protein bantları da görölmüştür. 7 gün süre ile soğukta depolanan kıymalarda ise 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının yoğunluklarının azaldığı, 97 ve 29 kDa molekül ağırlığındaki bantların oluştuğu tespit edilmiştir. Özellikle 66 ve 45 kDa aralığında protein bantlarının yoğunluklarının arttığı, 24-14.2 kDa aralığında protein bantlarının oluştuğu belirlenmiştir. Depolamanın 10. gününde ise 200, 116, 66, 45 ve 20 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, uzayan depolama süresince meydana gelen protein oksidasyonu ve denaturasyonuna bağlı olarak miyofibrilar protein fraksiyonlarının değiştığını göstermektedir.



Şekil 4.15 Soğukta depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen miyofibrillar proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları 0., 3., 7. ve 10.günler. Jele 2mg protein/mL örnek tamponundan 20µL yüklenmiştir. S1 66-14.2 kDa, S2 205-36 kDa arası molekül ağırlığına sahip protein standartlarını göstermektedir. K, YÇ, NK, ÜÇ ve BHT oluşturulan grupları göstermektedir.

4.4 Soğukta Depolanan Uskumru Filetosuna Ait Sonuçlar

4.4.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarları miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları çizelge 4.24’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.24 Soğukta depolanan uskumru filetosunun nem, protein, kül ve yağ miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
Nem						
0	76.72±0.30	77.54±1.42	77.51±0.22	76.39±0.27	76.18±0.18	76.87±0.78 ^A
10	75.88±0.14	76.21±0.55	75.89±0.12	75.59±0.10	75.80±0.13	75.87±0.29 ^B
Ort.	76.30±0.52	76.88±1.17	76.70±0.95	75.99±0.49	75.99±0.25	
Protein						
0	13.55±0.11	13.39±0.56	13.44±0.04	13.68±0.16	13.46±0.43	13.50±0.27 ^A
10	11.92±0.09	12.58±0.18	12.22±0.12	12.25±0.16	12.03±0.17	12.20±0.26 ^B
Ort.	12.74±0.95	12.99±0.58	12.83±0.71	12.97±0.84	12.74±0.87	
Kül						
0	1.72±0.09	1.70±0.07	1.69±0.04	1.70±0.07	1.77±0.04	1.72±0.06 ^B
10	1.91±0.02	1.92±0.07	1.90±0.06	1.85±0.17	1.87±0.01	1.89±0.07 ^A
Ort.	1.82±0.12	1.81±0.14	1.80±0.13	1.77±0.14	1.82±0.06	
Yağ						
0	7.56±0.48	7.51±0.17	7.43±0.52	7.41±0.25	7.27±0.11	7.43±0.28 ^B
10	8.82±0.17	8.20±0.11	8.24±0.08	8.55±0.39	8.06±0.02	8.37±0.33 ^A
Ort.	8.19±0.79	7.86±0.42	7.84±0.56	7.98±0.71	7.66±0.46	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

A-B : İlgili sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Fileto ette depolama başlangıcında ve 10 gün depolama sonunda nem miktarı %76.87'den, %75.87'ye, protein miktarı %13.20'den %12.20'ye azalmış, kül miktarı %1.72'den %1.89'a, yağ miktarı %7.43'den %8.37'ye artmıştır. Fileto örneklerin nem, protein, kül ve yağ miktarlarına antioksidan kaynağı ilavesinin etkisi önemli olmazken (P>0.01), başlangıç ve depolama sonunda belirlenen nem miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.01, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto örneklerde protein miktarında gözlenen azalmanın, depolama süresince sızıntı şeklinde ayrılan su ile birlikte proteinlerde meydana gelen kayıplardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kolyoz balığında donmuş depolama sırasında meydana gelen oksidasyonu engellemek amacıyla antioksidan uygulamasının yapıldığı bir çalışmada kolyoz balığının yağ miktarının %5.06 ile %6.62 arasında değiştiği belirlenmiştir (Soyer ve Şahin 1999). Aubourg vd. (2004) istavrit beyaz kaslarının nem içeriğinin %76-80, yağ içeriğinin ise

%0.70-1.85 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Bu değişimin balıktan kaynaklandığı, ilave edilen antioksidan kaynağının ve depolama süresinin de bileşimi etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Jittrepotch vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada Japon sardalya balıklarının nem içeriklerinin %74-75.2 ve yağ içeriklerinin %2.2-3.0 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Sanchez-Alonso ve Borderias (2008) istavrit kaslarının %77.96'sının su, %17.60'ının protein, %3.03'ünün yağ ve %1.14'ünün ise külden oluştuğunu belirlemişlerdir.

4.4.2 pH değeri

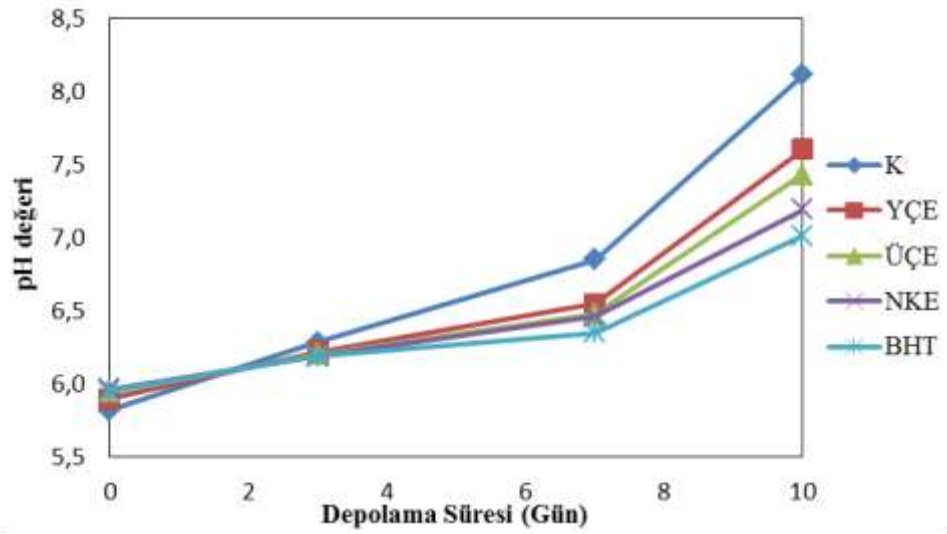
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen pH değerleri çizelge 4.25 ve şekil 4.16'da verilmiştir. Fileto ette depolama başlangıcında pH değeri ortalama 5.92, 10 gün sonra ise ortalama 7.47 bulunmuştur. Kontrol örneklerinde ortalama pH değeri 6.77, YÇE içeren filetolarda 6.57, ÜÇE uygulanan filetolarda 6.52, NKE içeren filetolarda 6.45 ve BHT ile muamele edilen filetolarda ise 6.38'dir.

Çizelge 4.25 Soğukta depolanan uskumru filetosunun pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	5.82±0.04 ^{Ad}	5.90±0.01 ^{Ad}	5.95±0.01 ^{Ad}	5.97±0.11 ^{Ad}	5.96±0.09 ^{Ad}	5.92±0.08
3	6.29±0.01 ^{Ac}	6.22±0.01 ^{Ac}	6.21±0.05 ^{Ac}	6.19±0.03 ^{Ac}	6.19±0.01 ^{Ac}	6.22±0.04
7	6.85±0.06 ^{Ab}	6.55±0.11 ^{Bb}	6.48±0.03 ^{BCb}	6.46±0.03 ^{BCb}	6.35±0.01 ^{Cb}	6.54±0.18
10	8.12±0.04 ^{Aa}	7.61±0.11 ^{Ba}	7.44±0.02 ^{Ca}	7.20±0.04 ^{Da}	7.02±0.02 ^{Ea}	7.47±0.40
Ort.	6.77±0.92	6.57±0.69	6.52±0.60	6.45±0.50	6.38±0.42	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.16 Soğukta depolanan uskumru filetosunun pH değerindeki değişim

Soğukta depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun pH değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Depolama süresinin başlangıcında ve 3. gününde uygulamalar arasında herhangi bir farklılık olmadığı, ancak 7 günlük depolama sonrasında örneklerin pH değerlerinde farklılıklar meydana geldiği saptanmıştır. Depolamanın 7. gününde kontrol örneklerinin en yüksek, BHT uygulanan örneklerin ise en düşük pH değerine sahip oldukları belirlenmiştir. Benzer şekilde, 10 günlük depolama sonrasında kontrol grubuna ait balıkların diğer gruplardan daha yüksek, BHT uygulanan balıkların ise en düşük pH değerine sahip oldukları belirlenmiştir. Bu durum, yapılan uygulamaların depolama süresinin başlangıcında etkili olmadığını, ancak uzayan depolama süresine bağlı olarak kas içerisine difüze olan ekstraktların etkilerini göstererek pH değerindeki artışı sınırlandırmaları ile açıklanabilir. Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen pH değerlerinin düşük olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak pH değerinin arttığı, bu artışın özellikle 7. günden sonra çok daha hızlı olduğu ve 10. günde tespit edilen pH değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin başlangıcında ve 3. gününde oluşturulan tüm grupların pH değerleri arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$); 7. ve 10. günlerde ise sentetik antioksidan kaynağı ile muamele edilen uskumruların pH değerlerinin diğer uygulamalara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$). pH değerinde

depolama süresince gözlenen bu artışın endojen veya mikrobiyal enzimler tarafından oluşturulan amonyak ve trimetil amin gibi volatil bazların miktarının artışla bağlanmıştır (Manat vd. 2005, Ruiz-Capillas ve Moral 2001). Bennaur vd. (1991), 12 gün süre ile buzda depolanan sardalya balığının pH değerinin 5.95'den 6.24'e yükseldiğini, Ababouch vd. (1996) ise 11 gün süre ile buzda depolanan sardalya balığının pH değerinin 6.24' den 6.55' e yükseldiğini belirlemişlerdir. pH değerindeki bu değişim, balığın türüne, avlandığı bölgenin özelliklerine, balığın beslenme durumuna, avlanma sonrasındaki depolama sıcaklığına ve etin tamponlama kapasitesine bağlı olarak değişir. Sikorski vd. (1990) pH değerindeki değişimin ATP'nin enzimatik olarak parçalanması sırasında açığa çıkan inorganik fosfat ve amonyakla alakalı olduğunu ortaya koymuşlardır.

4.4.3 Renk

Farklı antioksidan kaynakları ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen L^* , a^* , b^* , C ve h^0 değerleri çizelge 4.26'da ve şekil 4.16'da görülmektedir.

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının L^* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak parlaklık değerlerinin azaldığı görülmektedir. Fileto ette depolama başlangıcında L^* değeri ortalama 56.67, 10 gün sonra ise ortalama 46.88 bulunmuştur. BHT uygulanan örneklerinin depolanmaları süresince belirlenen ortalama L^* değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek olduğu (55.09), sentetik antioksidan kaynağı ilave edilen balıkları sırasıyla NKE (51.89), YÇE (49.95), K (51.88) ve YÇE (47.90) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun L^* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$, EK 4 Çizelge 2). Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen L^* değerlerinin yüksek olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak L^* değerinin azaldığı ve 10. günde tespit edilen L^* değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir

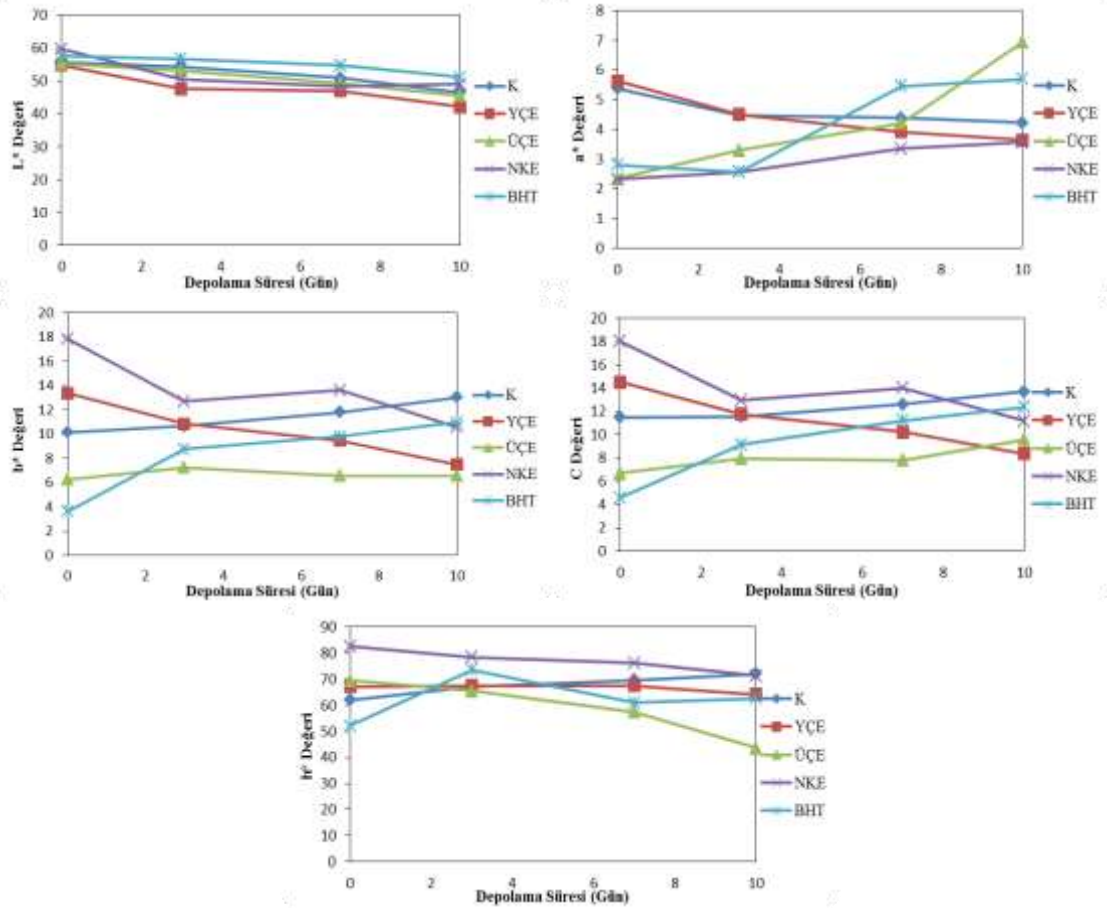
($P<0.05$). Depolama süresinin başlangıcında en yüksek parlaklık değerine NKE içeren örneklerin sahip olduğu (60.04) ($P<0.05$), diğer gruplar arasındaki farklılıkların ise istatistiki olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Yapılan 10 günlük depolama sonunda BHT (51.21) içeren örneklerin en yüksek parlaklık değerine sahip olduğu, bu grubu sırasıyla NKE (49.01), K (46.49), ÜÇE (45.55) ve YÇE (42.16) uygulanan balıkların izlediği belirlenmiştir ($P>0.05$). Yapılan çoklu karşılaştırma testi sonrasında ilave edilen doğal antioksidan kaynaklarının L^* değeri üzerine etkili olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.26 Soğukta depolanan uskumru filetosunun L^* , a^* , b^* , C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
L^*						
0	55.69±0.29 ^{Ba}	54.89±1.42 ^{Ba}	55.36±0.07 ^{Ba}	59.72±0.54 ^{Aa}	57.67±0.10 ^{ABa}	56.67±1.97
3	54.42±0.42 ^{ABb}	47.55±0.57 ^{Db}	53.14±0.30 ^{BCb}	50.43±0.61 ^{CDb}	56.80±0.85 ^{Aa}	52.47±3.40
7	50.95±0.50 ^{Bc}	47.00±0.94 ^{Cc}	49.36±2.30 ^{BCc}	48.39±1.69 ^{BCb}	54.68±0.09 ^{Aa}	50.07±2.96
10	46.49±0.87 ^{BCd}	42.16±0.99 ^{Dd}	45.55±0.52 ^{Cd}	49.01±0.19 ^{ABb}	51.21±2.57 ^{Ab}	46.88±3.39
Ort.	51.88±3.84	47.90±4.92	50.85±4.10	51.89±4.95	55.09±2.85	
a^*						
0	5.38±0.51 ^{Aa}	5.63±0.16 ^{Aa}	2.34±0.07 ^{Bc}	2.31±0.02 ^{Bc}	2.81±0.10 ^{Bb}	3.69±1.58
3	4.48±0.04 ^{Aab}	4.50±0.49 ^{Ab}	3.29±0.03 ^{Bb}	2.58±0.02 ^{Bbc}	2.57±0.04 ^{Bb}	3.48±0.93
7	4.39±0.38 ^{Bb}	3.92±0.29 ^{BCb}	4.21±0.06 ^{BCb}	3.35±0.02 ^{Cab}	5.46±0.09 ^{Aa}	4.26±0.75
10	4.22±0.23 ^{Cb}	3.65±0.38 ^{Cb}	6.94±0.84 ^{Aa}	3.57±0.08 ^{Ca}	5.69±0.72 ^{Ba}	4.81±1.44
Ort.	4.62±0.55	4.42±0.86	4.20±1.86	2.95±0.56	4.13±1.57	
b^*						
0	10.14±0.13 ^{Cc}	13.37±0.19 ^{Ba}	6.28±0.09 ^{Da}	17.87±0.50 ^{Aa}	3.62±0.34 ^{Ec}	10.26±5.33
3	10.67±0.59 ^{Bbc}	10.86±0.16 ^{Bb}	7.24±0.41 ^{Da}	12.71±0.71 ^{Ab}	8.76±0.39 ^{Cb}	10.05±2.01
7	11.82±0.86 ^{Bab}	9.47±0.17 ^{Cc}	6.59±0.02 ^{Da}	13.62±0.21 ^{Ab}	9.81±0.06 ^{Cab}	10.26±2.51
10	13.04±1.18 ^{Aa}	7.51±0.03 ^{Cd}	6.60±0.25 ^{Ca}	10.59±0.15 ^{Bc}	10.98±0.40 ^{Ba}	9.74±2.53
Ort.	11.42±1.33	10.30±2.29	6.68±0.42	13.70±2.85	8.29±3.01	
C						
0	11.49±0.35 ^{Cb}	14.51±0.12 ^{Ba}	6.70±0.11 ^{Db}	18.02±0.50 ^{Aa}	4.58±0.21 ^{Ec}	11.06±5.20
3	11.58±0.56 ^{Ab}	11.76±0.33 ^{Ab}	7.96±0.38 ^{Bb}	12.97±0.69 ^{Ab}	9.13±0.39 ^{Bb}	10.68±1.98
7	12.61±0.94 ^{ABab}	10.25±0.27 ^{Cc}	7.82±0.02 ^{Db}	14.02±0.19 ^{Ab}	11.22±0.01 ^{BCa}	11.18±2.25
10	13.71±1.19 ^{Aa}	8.35±0.19 ^{Cd}	9.58±0.78 ^{Ca}	11.18±0.12 ^{Bc}	12.37±0.68 ^{ABa}	11.04±2.09
Ort.	12.34±1.15	11.21±2.41	8.02±1.15	14.05±.71	9.33±3.19	
h°						
0	62.09±1.95 ^{Cc}	67.18±0.89 ^{Ba}	69.53±0.29 ^{Ba}	82.62±0.13 ^{Aa}	52.09±3.60 ^{Dc}	66.70±10.60
3	67.20±0.92 ^{Cb}	67.50±1.91 ^{Ca}	65.54±1.04 ^{Ca}	78.53±0.71 ^{ABab}	73.65±0.48 ^{Ba}	70.48±5.21
7	69.66±0.27 ^{Bab}	67.55±1.11 ^{Ba}	57.44±0.44 ^{Cb}	76.18±0.29 ^{Ab}	60.90±0.57 ^{Cb}	66.34±6.98
10	72.03±0.59 ^{Aa}	64.13±2.22 ^{Ba}	43.63±2.38 ^{Cc}	71.38±0.61 ^{Ac}	62.67±2.11 ^{Bb}	62.77±10.91
Ort.	67.74±4.03	66.59±1.96	59.03±10.63	77.18±4.36	62.33±8.35	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (a^* , b^* , C ve h° değerleri için $P<0.01$, L^* değeri için $P<0.05$).



Şekil 4.17 Soğukta depolanan uskumru filetosunun L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının a* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak kırmızılık değerlerinin düzenli bir değişim göstermediği görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak a* değeri K ve YÇE içeren gruplarda azalmış, diğer uygulamalarda ise artış göstermiştir. Fileto ette depolama başlangıcında a* değeri ortalama 3.69, 10 gün sonra ise ortalama 4.81 bulunmuştur. Tüm depolama süresince antioksidan içermeyen kontrol grubuna ait balıkların belirlenen kırmızılık değerleri (4.62) yüksek, NKE içeren balıkların a* değerleri (2.95) düşüktür.

Soğukta depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun a* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 2). Depolama süresinin başında K (5.38) ve YÇE (5.63) içeren grupların

kırmızılık değerleri arasında farklılık olmadığı ve bu grupların diğerlerine göre daha yüksek kırmızılık değerine sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0.01$). Benzer şekilde depolamanın başlangıcında ÜÇE (2.34), NKE (2.31) ve BHT (2.81) içeren gruplar arasında a^* değeri açısından herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.01$). Yapılan 10 günlük depolama sonrasında ise ÜÇE (6.94) ile muamele edilen balıkların a^* değerlerinin diğer gruplardan önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$).

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının b^* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak sarılık değerlerinin düzenli bir değişim göstermediği görülmektedir. Fileto ette depolama başlangıcında b^* değeri ortalama 10.26, 10 gün sonra ise ortalama 9.74 bulunmuştur. Yapılan uygulamalar incelendiğinde ise NKE uygulanan balıkların b^* değerlerinin (13.70) yüksek, BHT uygulanan uskumruların ise (8.29) düşük olduğu görülmektedir.

Soğukta depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun b^* değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto balıklarda sarılık değeri depolama süresince K grubu ve BHT ile muamele edilen balıklarda artmış; YÇE ve NKE içeren gruplarda azalmış ve ÜÇE içeren grupta ise değişmemiştir. Soğukta depolamanın başında NKE (17.87) ile muamele edilen balıkların sarılık değerleri diğer uygulamalardan yüksek, BHT (3.62) içeren balıklarda ise en düşük düzeydedir ($P<0.01$). Yapılan 10 günlük depolama sonunda ise K (13.04) balıkların en yüksek b^* değerine sahip oldukları belirlenmiştir.

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının C değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak C değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı, ancak uygulamalar arasında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir ($P<0.01$). Fileto uskumruda depolama başlangıcında C değeri ortalama 11.06, 10 gün sonra ise ortalama 11.04 bulunmuştur. Genel olarak kontrol grubuna ait balıkların renk yoğunluğu değerlerinin (12.34) diğer gruplardan yüksek, BHT ile muamele edilen balıkların (9.33) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun C (renk yoğunluğu - chroma) değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto uskumrularında C değeri depolama süresince K, ÜÇE ve BHT içeren balıklarda artarken; YÇE ve NKE içeren balıklarda azalmıştır. Soğukta depolamanın başında NKE (18.02) içeren balıklar en yüksek renk yoğunluğu değerine sahip iken, en düşük renk yoğunluğu değerine BHT (4.48) içeren grubun sahip olduğu belirlenmiştir. 10 günlük soğukta depolama süresi sonunda YÇE (8.35) ve ÜÇE (9.58) içeren fileto balıklarının C değerinin diğer gruplara göre düşük, kontrol grubu (13.71) balıklarının renk yoğunluğu değerlerinin ise yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının h° değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak h° değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı, ancak yapılan uygulamalar arasında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Fileto uskumruda depolama başlangıcında h° değeri ortalama 66.70, 10 gün sonra ise ortalama 62.77 bulunmuştur. Genel olarak NKE uygulanan balıkların renk açısı değerlerinin (77.18) diğer gruplardan yüksek, ÜÇE ile muamele edilen balıkların (59.03) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarında depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun renk açısı değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Fileto halde soğukta depolanan balıklarda renk açısı değeri kontrol grubu balıklarda depolama süresince artmış, YÇE ile muamele edilen balıklarda değişmemiş, NKE ve ÜÇE uygulanan uskumrularında azalmış, sentetik antioksidan kaynağı uygulanan balıklarda ise düzenli bir değişim göstermemiştir. Soğukta depolamanın başlangıcında NKE (82.62) içeren balıkların renk açısı değerinin diğer gruplardan yüksek olduğu, BHT (52.09) içeren grubun ise en düşük renk açısı değerine sahip olduğu görülmektedir. Yapılan 10 günlük soğukta depolama sonunda kontrol grubu (72.03) balıklar ile NKE (71.38) içeren balıkların en yüksek, ÜÇE (43.63) içeren balıkların ise en düşük h° değerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Undeland vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada a^* değerinin azalmasının, istavrit gibi kaslarında yüksek oranda hemoglobin bulunan balıklarda hemoglobinin neden olduğu lipid oksidasyonu ile alakalı olduğu ortaya konmuştur. Lee vd.(1999) antioksidanların metmiyoglobin oluşumunu engelleyerek et ve et ürünlerinde meydana gelen renk değişimlerini sınırladığını tespit etmişlerdir. Mansour ve Khalil (2000) yaptıkları araştırmada patates kabuğu, buy otu tohumu ve zencefil ekstraktı uyguladıkları sığır köftelerinin kırmızılık değerlerinin kontrol örneklerine göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu durum, antioksidan kaynaklarının metmiyoglobin oluşumunu engelleyerek rengin korunmasına yardımcı olmasıyla açıklanmıştır. Uygulanan ekstraktlar arasındaki farklılıkların ise, değişen pH değerlerine bağlı olarak antioksidan etkinliğinin farklılaşması ve okside olan miyoglobin düzeyinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Aynı çalışmada soğukta depolama süresinin uzamasına bağlı olarak kırmızılık değerinin azaldığı da belirlenmiştir. Yu vd. (2002), 13 gün süre ile yapılan soğukta depolama süresince pişirilmiş hindi ürünlerinde renk değişimlerinin biberiye ekstraktı ile engellenebildiğini göstermişlerdir. Yapılan bu çalışmada depolama süresince L^* ve b^* değerinin arttığı, a^* değerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. L^* ve b^* değeri depolama boyunca K grubu örneklerde diğer gruplara göre daha yüksek iken, a^* değerinin de düşük olduğu gösterilmiştir. Mitsumoto vd. (2005) çay kateşinlerinin pişirilmiş sığır etinde ve tavuk köftelerinde grimsi renk değişimlerine neden olduğunu belirlemişlerdir. Banon vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada yeşil çay ve üzüm çekirdeği ilave edilen düşük sülfid içeriğine sahip sığır köftelerinde L^* değerinin oldukça stabil olduğu, ekstrakt ilavesinin L^* değerini etkilemediği gösterilmiştir. Luther vd. (2007), Chardonnay ve ahududu çekirdek ununun balık yağında belirlenen Hunter L, a ve b değerlerini etkilediğini; L ve b değerinin ekstrakt ilavesi ile arttığını, ahududu ilavesinin ise yeşillik (-a) değerini yükselttiğini belirlemişlerdir. Üzüm çekirdeği ilavesinin karideslerde ileri derecede meydana gelen renk değişimleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 4°C’ de depolama süresince kontrol örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerlerinin 2.5, 5, 10 ve 15 g/L konsantrasyonlarda uygulanan üzüm çekirdeği içeren örneklerle göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan bu araştırmada oluşturulan tüm grupların depolama süresine bağlı olarak L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığı da tespit edilmiştir (Gökoğlu ve Yerlikaya 2008).

4.4.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı

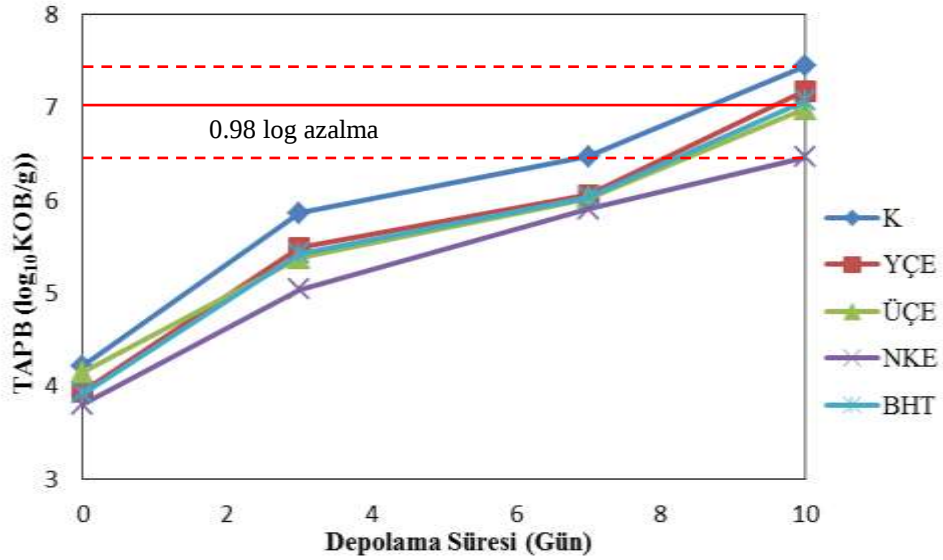
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen TAPB sayıları ($\log_{10}$ KOB/g et) sırasıyla çizelge 4.27’de ve şekil 4.17’de görülmektedir.

Çizelge 4.27 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısına ($\log_{10}$ KOB/g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	4.22±0.01 ^{Ad}	3.94±0.07 ^{Cd}	4.15±0.00 ^{Bd}	3.80±0.01 ^{Dd}	3.92±0.03 ^{Cd}	4.01±0.17
3	5.86±0.06 ^{Ac}	5.49±0.00 ^{Bc}	5.38±0.01 ^{Cc}	5.04±0.01 ^{Dc}	5.43±0.01 ^{BCc}	5.44±0.28
7	6.47±0.01 ^{Ab}	6.06±0.02 ^{Bb}	6.03±0.02 ^{Bb}	5.90±0.04 ^{Cb}	6.04±0.00 ^{Bb}	6.10±0.21
10	7.45±0.00 ^{Aa}	7.18±0.04 ^{Ba}	6.99±0.00 ^{Da}	6.47±0.01 ^{Ea}	7.08±0.01 ^{Ca}	7.03±0.34
Ort.	6.00±1.25	5.67±1.25	5.64±1.10	5.30±1.07	5.62±1.22	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.18 Soğukta depolanan uskumru filetolarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının TAPB sayıları incelendiğinde, uzayan

depolama süresine bağı olarak tüm örneklerin TAPB sayısında düzenli bir artış olduğu görülmektedir. Fileto uskumruda depolama başlangıcında TAPB sayısı ortalama 4.01, 10 gün sonra ise ortalama 7.03 bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının balıkların TAPB sayısı üzerine etili olduğu da görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların TAPB sayılarının (6.00) diğer gruplardan yüksek, NKE ile muamele edilen balıkların (5.30) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Soğukta depolanan fileto uskumrularında TAPB sayısına depolama süresinin, antioksidan uygulamasının etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu hem sürenin, hem uygulamanın hem de depolama süresi x uygulama interaksiyonunun etkili olduğunu göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto örneklerde başlangıçta 3.80-4.22 arasında değişen TAPB sayısı, 10 günlük depolama sonrasında 6.47-7.45 düzeylerine ulaşmıştır. Antioksidan uygulaması depolama süresinin başlangıcında etkisini göstermiştir. Depolama süresinin başında K örneklerinin en yüksek, NKE’li örneklerin ise en düşük TAPB sayına sahip olduğu tespit edilmiştir. Soğukta depolamanın 10. gününde ulaşılan TAPB sayıları karşılaştırıldığında, K grubuna (7.45) ait filetoların diğer gruplara kıyasla daha yüksek, NKE (6.47) ile muamele edilen grupların ise en düşük TAPB yüküne sahip oldukları görülmektedir. Elde edilen sonuçlar, NKE’nin TAPB sayısında 0.98 log azalma sağladığını göstermektedir. NKE içeren balıkların diğer gruplara kıyasla daha düşük mikrobiyal yüke sahip olması NKE’nin yüksek antimikrobiyal aktivitesi ile açıklanabilir.

4.4.5 Heme demir miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen heme demir miktarları, mg/100g et olarak çizelge 4.28’de ve şekil 4.19’da görülmektedir. Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının heme demir miktarları incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağı azalma olduğu görülmektedir. Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının başlangıçta 6.06-6.15 mg arasında değişen heme demir miktarları yapılan 10 günlük depolama sonunda 0.53-1.49 mg düzeyine düşmüştür. Antioksidan uygulamasının da balıkların heme demir miktarları üzerine etili

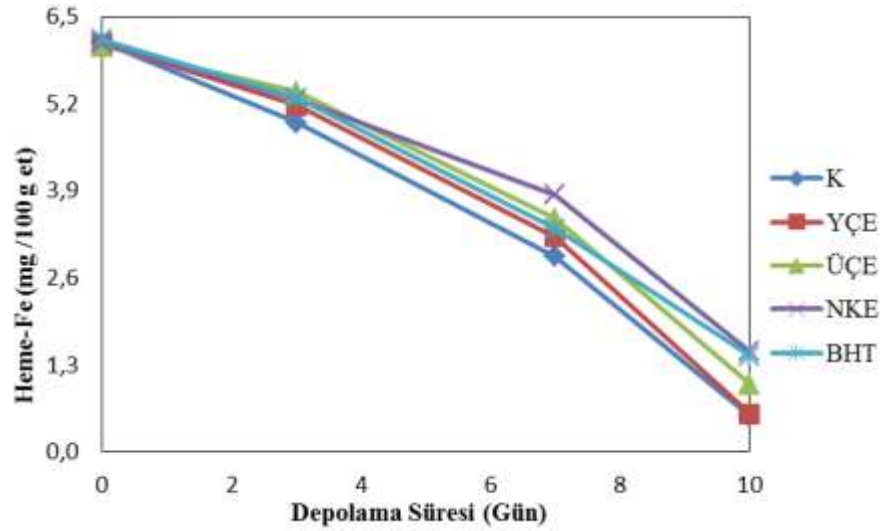
olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların heme demir miktarının (3.62 mg) diğer gruplardan düşük, NKE ile muamele edilen balıkların (4.18 mg) ise yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.28 Soğukta depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.12±0.09 ^{Aa}	6.09±0.01 ^{Aa}	6.06±0.01 ^{Aa}	6.10±0.10 ^{Aa}	6.15±0.11 ^{Aa}	6.11±0.07
3	4.91±0.02 ^{Bb}	5.17±0.07 ^{Ab}	5.37±0.06 ^{Ab}	5.27±0.07 ^{Ab}	5.28±0.06 ^{Ab}	5.20±0.17
7	2.92±0.07 ^{Dc}	3.21±0.01 ^{Cc}	3.47±0.05 ^{Bc}	3.84±0.07 ^{Ac}	3.33±0.12 ^{BCc}	3.35±0.32
10	0.53±0.01 ^{Cd}	0.57±0.00 ^{Cd}	1.01±0.01 ^{Bd}	1.49±0.08 ^{Ad}	1.43±0.09 ^{Ad}	1.01±0.43
Ort.	3.62±2.27	3.76±2.26	3.98±2.09	4.18±1.87	4.05±1.95	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-e) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.19 Soğukta depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarındaki değişim

Soğukta depolanan fileto uskumrularında heme demir miktarı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonuna bağlı olarak önemli değişim göstermiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 2). Depolama süresinin başında oluşturulan gruplar arasında istatistiki olarak bir fark olmadığı (P>0.01), 3. günden itibaren ise antioksidan ilave edilmeyen örneklerin heme demir miktarının diğer uygulamalardan düşük olduğu belirlenmiştir. 10. gün sonunda ise gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu

belirlenmiştir ($P<0.01$). Soğukta depolamanın 10. gününde K örneklerinin en düşük heme demir içeriğine sahip oldukları (0.53 mg), bunu sırasıyla YÇE (0.57 mg), ÜÇE (1.01 mg) , BHT (1.43 mg) ve NKE içeren grupların (1.49 mg) izlediği belirlenmiştir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak porfirin halkasının zarar gördüğü, heme demirin yapısından demirin ayrıldığı ve heme olmayan demir oluştuğu bilinmektedir.

4.4.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı

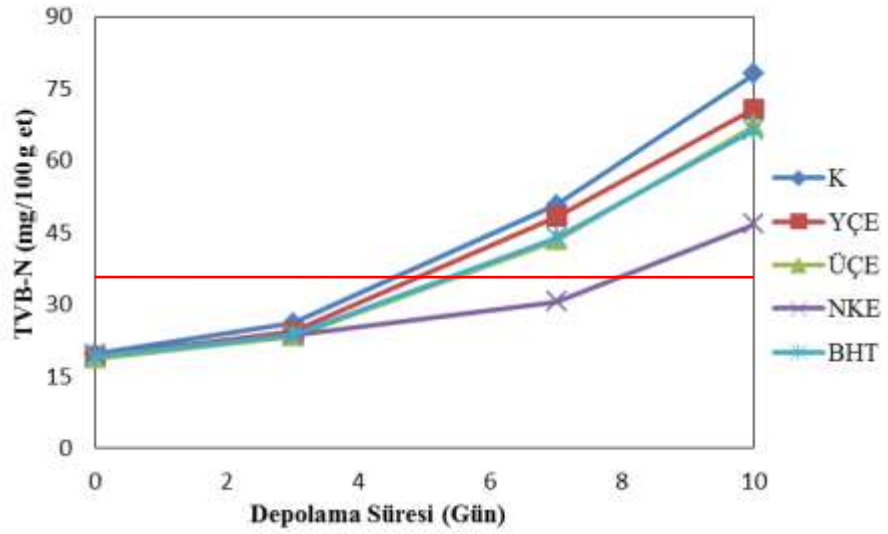
Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.29'da ve şekil 4.20'de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak uskumru filetolarının TVB-N miktarlarının arttığı görülmektedir. Fileto halde depolanan örneklerde depolama süresini başlangıcında 18.72-19.64 mg arasında değişen TVB-N miktarı, depolamanın 10. gününde 46.77-78.09 mg düzeyine yükselmiştir. TAPB sayısı ile birlikte değerlendirildiğinde, bu artışın özellikle yüksek endojen enzim faaliyeti ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Antioksidan uygulamasının da balıkların TVB-N miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların TVB-N miktarının (43.64 mg) diğer gruplardan yüksek, NKE ile muamele edilen balıkların (30.10 mg) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.29 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	19.61±0.51 ^{Ad}	19.19±0.06 ^{Ad}	18.72±0.43 ^{Ad}	19.64±0.19 ^{Ad}	19.12±0.15 ^{Ad}	19.26±0.43
3	26.13±0.18 ^{Ac}	24.24±0.39 ^{Bc}	23.32±0.29 ^{Bc}	23.48±0.09 ^{Bc}	23.57±0.14 ^{Bc}	24.15±1.11
7	50.74±0.71 ^{Ab}	48.24±0.54 ^{Bb}	43.37±0.22 ^{Cb}	30.50±0.38 ^{Db}	43.91±0.45 ^{Cb}	43.35±7.37
10	78.09±0.27 ^{Aa}	70.78±0.19 ^{Ba}	67.26±0.69 ^{Ca}	46.77±0.11 ^{Da}	66.32±0.75 ^{Ca}	65.84±10.9
Ort.	43.64±24.62	40.61±22.01	38.17±20.51	30.10±11.10	38.23±20.01	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.20 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim

Soğukta depolanan fileto uskumru balığında TVB-N miktarındaki değişime antioksidan uygulamasının ve depolama süresinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi, depolama süresinin, uygulamanın ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun önemli olduğunu göstermiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 2). Depolama süresinin başında uygulamalar arasındaki farklılıklar önemsizken ($P > 0.01$), ilerleyen depolama süresine bağlı olarak antioksidanlar etkilerini göstermiş ve gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.01$). Antioksidan uygulamasının etkisi depolamanın 3. gününden itibaren görülmüş ve antioksidanlı örneklerle K örnekleri arasındaki fark, 3., 7. ve 10. günlerde önemli düzeylerde olmuştur ($P < 0.01$, Çizelge 4.29). Depolamanın 3. gününde antioksidan ilaveli grupların TVB-N değerlerinin daha düşük olduğu, 7. günde ise NKE'nın diğerlerinden daha etkili olduğu belirlenmiştir. Depolama sonunda K grubu (78.09 mg) örneklerin en yüksek TVB-N miktarına sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (70.78 mg), ÜÇE (67.26 mg), BHT (66.32 mg) ve NKE (46.77 mg) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ($P < 0.01$). Uygulamalar arasındaki farklılıklar dikkate alındığında NKE'nın diğer bitkisel antioksidant kaynaklarına göre daha etkili olduğu söylenebilir (Şekil 4.21).

4.4.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı

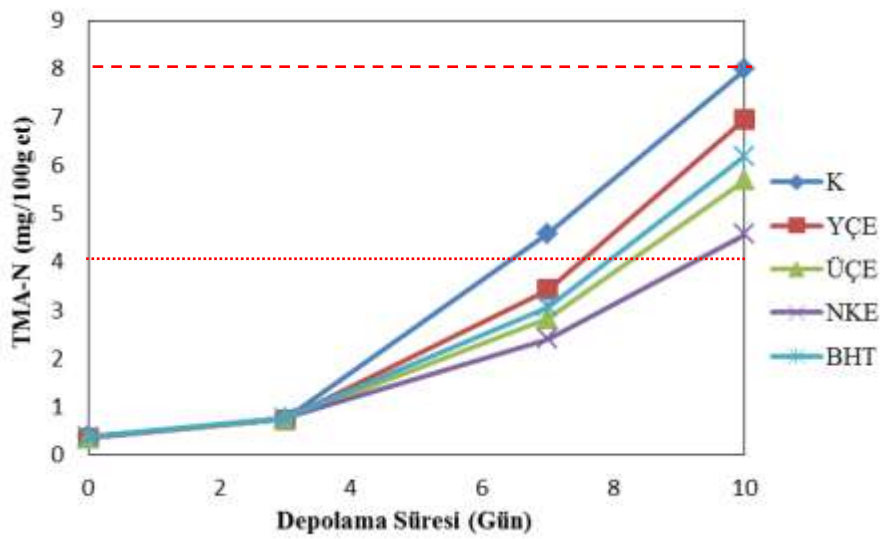
Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetolarında soğukta depolama sırasında belirlenen trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.30'da ve şekil 4.21'de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak balıkların TMA-N miktarlarının arttığı, depolama süresinin başlangıcında 0.37 mg düzeyinde olan TMA-N miktarının yapılan 10 günlük soğukta depolama sonrasında 6.28 mg düzeyine yükseldiği belirlenmiştir. Depolama süresince K grubuna ait uskumruların TMA-N miktarlarının diğer gruplardan yüksek, NKE uygulanan balıkların ise düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.30 Soğukta depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	0.39±0.02 ^{Ad}	0.35±0.03 ^{Ad}	0.35±0.00 ^{Ad}	0.37±0.03 ^{Ad}	0.38±0.02 ^{Ad}	0.37±0.02
3	0.74±0.02 ^{Ac}	0.74±0.02 ^{Ac}	0.75±0.02 ^{Ac}	0.76±0.01 ^{Ac}	0.75±0.01 ^{Ac}	0.75±0.02
7	4.58±0.08 ^{Ab}	3.42±0.21 ^{Bb}	2.83±0.10 ^{Cb}	2.40±0.08 ^{Db}	3.06±0.09 ^{Cb}	3.26±0.79
10	7.99±0.22 ^{Aa}	6.95±0.02 ^{Ba}	5.70±0.11 ^{Da}	4.57±0.31 ^{Ea}	6.19±0.20 ^{Ca}	6.28±1.22
Ort.	3.42±3.32	2.86±2.82	2.41±2.27	2.02±1.78	2.60±2.48	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.21 Soğukta depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim

Fileto uskumru balığının TMA-N miktarındaki değişime antioksidan uygulamasının ve depolama süresinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonucu, depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun önemli olduğunu göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Depolamanın ilk 3. gününde TMA-N miktarı açısından örnekler arasında farklılık olmadığı ($P<0.01$), 3. günden sonra tüm örneklerin TMA-N miktarlarının hızla arttığı belirlenmiştir. Depolamanın 7. gününden itibaren antioksidan kaynaklarının etkileri görülmüş ve antioksidanlı örneklerle K örnekleri arasındaki fark, 7. ve 10. günlerde önemli düzeylerde olmuştur ($P<0.01$, Çizelge 4.30). K örneklerinin depolamanın 7. gününde kalitesinin azaldığı, antioksidan uygulamalarının ise kalitenin korunmasında etkili olduğu belirlenmiştir. 10. günün sonunda ulaşılan TMA-N miktarları incelendiğinde K (7.99 mg) balıkların en yüksek TMA-N miktarına sahip oldukları, bunu sırasıyla YÇE (6.95 mg), BHT (6.19 mg), ÜÇE (5.70 mg) ve NKE (4.57 mg) içeren grupların izlediği çizelge 4.30'da görülmektedir. Depolamanın 10. gününde en düşük TMA-N içeriği NKE'li örneklerde belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, 10 günlük depolama süresi sonunda fileto örneklerin pazarlanabilir nitelikte olduğunu, NKE uygulamasının ise diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğunu göstermektedir.

4.4.8 Duyusal değerlendirme

Fileto uskumrular soğukta depolama süresince çiğ olarak duyusal analize tabi tutulmuş, depolamanın 0., 7. ve 10. günlerinde örnekler koku özellikleri açısından (taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları) değerlendirilmiştir. Soğukta depolanan fileto uskumruların duyusal analiz sonuçları çizelge 4.31'de verilmiştir. Depolama süresince belirlenen duyusal puanlarda meydana gelen değişimler ise şekil 4.22'de görülmektedir.

Farklı bitkisel ekstrakt kaynakları uygulanan uskumru filetolarında duyusal değerlendirmesi yapılan özellikler açısından depolama süresi ve uygulamanın etkili olduğu belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden aldıkları puanlar

azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan ilavesiz K balıkların taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu yönlerinden diğer gruplardan daha düşük; kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu açısından ise daha yüksek duyusal puanlar aldığı görülmektedir. Taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu özellikleri açısından BHT uygulanan balıkların diğer uygulamalardan daha yüksek puanlar aldıkları görülmektedir.

Çizelge 4.31 Soğukta depolanan uskumru filetosunun duyusal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

	Uygulama	Süre (gün)			
		0	7	10	Ort
Taze Balık Kokusu	K	10.0 ^{Aa}	5.1 ^{Cb}	2.8 ^{Dc}	6.0 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	5.6 ^{BCb}	3.5 ^{Cc}	6.4 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	5.8 ^{Bb}	3.9 ^{Cc}	6.6 ^C
	NKE	10.0 ^{Aa}	6.5 ^{Ab}	4.6 ^{Bc}	7.0 ^B
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.0 ^{Ab}	5.2 ^{Ac}	7.4 ^A
	Ort	10.0 ^a	6.0 ^b	4.0 ^c	
Ransit Koku	K	10.0 ^{Aa}	5.4 ^{Cb}	2.7 ^{Dc}	6.0 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.0 ^{Bb}	3.2 ^{Cc}	6.4 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	6.2 ^{Bb}	3.4 ^{Cc}	6.5 ^C
	NKE	10.0 ^{Aa}	6.9 ^{Ab}	3.9 ^{Bc}	6.9 ^B
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.3 ^{Ab}	4.5 ^{Ac}	7.3 ^A
	Ort	10.0 ^a	6.4 ^b	3.5 ^c	
Yağsı Koku	K	10.0 ^{Aa}	5.8 ^{Db}	4.7 ^{Dc}	6.8 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.4 ^{Cb}	5.5 ^{Cc}	7.3 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	6.5 ^{BCb}	5.7 ^{BCc}	7.4 ^{BC}
	NKE	10.0 ^{Aa}	6.9 ^{Bb}	6.0 ^{ABc}	7.6 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.5 ^{Ab}	6.4 ^{Ac}	8.0 ^A
	Ort	10.0 ^a	6.6 ^b	5.7 ^b	
Boya Kokusu	K	10.0 ^{Aa}	5.8 ^{Db}	5.3 ^{Cc}	7.0 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	6.5 ^{Cb}	5.7 ^{Bc}	7.4 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	6.9 ^{Bb}	6.2 ^{Ac}	7.7 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	7.1 ^{Bb}	6.3 ^{Ac}	7.8 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	7.7 ^{Ab}	6.3 ^{Ac}	8.0 ^A
	Ort	10.0 ^a	6.8 ^b	6.0 ^c	
Kimyasal/Bitkisel Ekstrakt Kokusu	K	10.0 ^{Aa}	9.6 ^{Aa}	9.1 ^{Ab}	9.6 ^A
	YÇE	9.7 ^{Aa}	8.5 ^{Cb}	7.6 ^{Cc}	8.6 ^C
	ÜÇE	9.6 ^{Aa}	9.0 ^{Bb}	7.9 ^{BCc}	8.8 ^{BC}
	NKE	9.6 ^{Aa}	9.2 ^{ABa}	8.2 ^{Bb}	9.0 ^B
	BHT	9.8 ^{Aa}	9.1 ^{Bb}	7.9 ^{BCc}	8.9 ^B
	Ort	9.7 ^a	9.1 ^b	8.1 ^c	

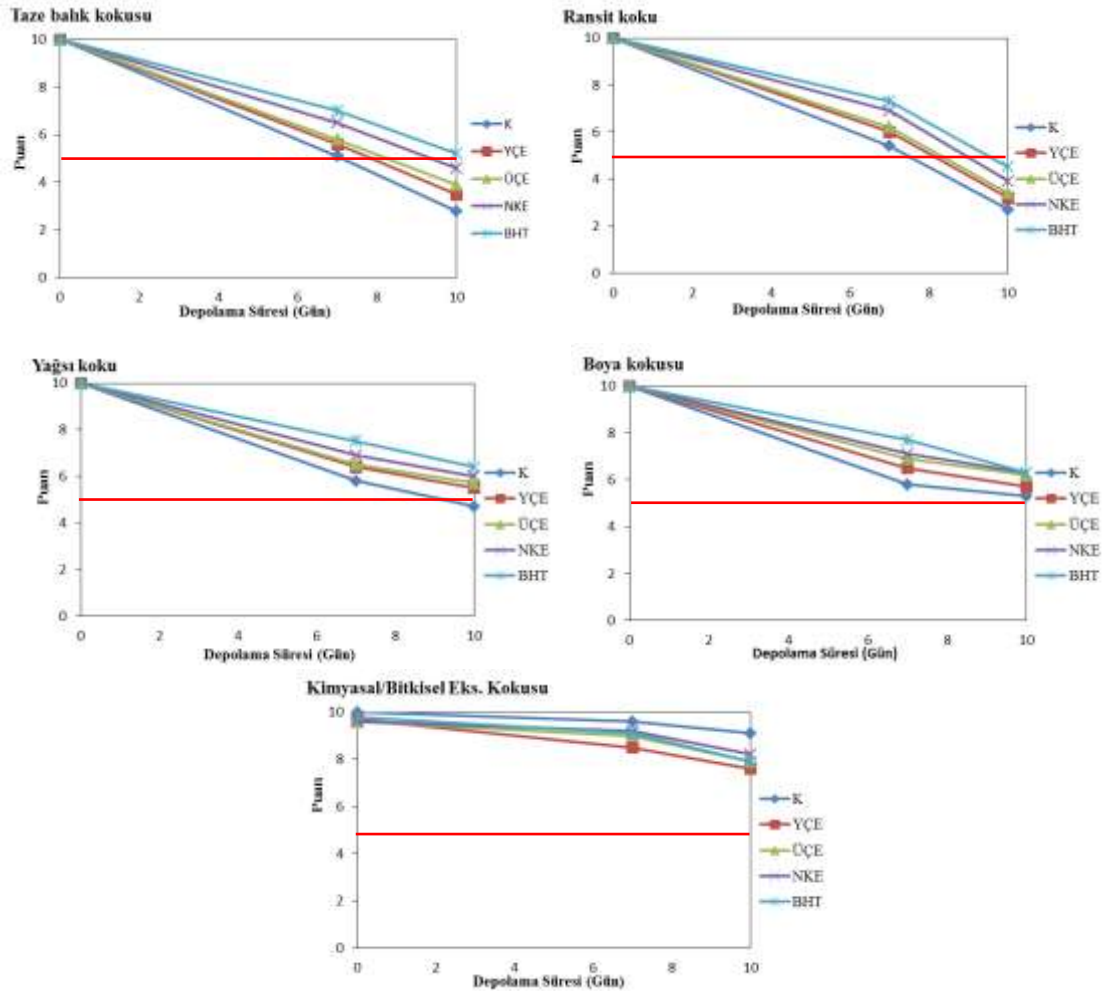
Sonuçlar iki tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (a-c) ve her bir sütunda (A-D) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Soğukta depolanan uskumru filetolarında yapılan duyusal değerlendirme sonucunda belirlenen taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokularında

meydana gelen değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2).

Depolama süresince taze balık kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda taze balık kokusunun algılandığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan taze balık kokusu azalmıştır ($P<0.01$). Soğukta depolamanın 10. gününde ise BHT uygulanan uskumrular dışındaki tüm balıkların taze balık kokusu yönünden aldıkları puanların 5'in altında olduğu görülmektedir ($P<0.01$).



Şekil 4.22 Soğukta depolanan uskumru filetosunun duysal puanlarındaki değişim

Depolama süresince ransit koku yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda ransit kokunun algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan ransit koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından uskumru filetolarına verilen puanlar azalmıştır. Yapılan tüm uygulamalarda ransit koku puanları depolamanın 10. gününde 5'in altına düşmüştür. Soğukta depolamanın 10. gününde ise K balıkların ransit koku açısından en düşük, BHT uygulanan balıkların ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$). Soğukta depolamanın 10. gününde bitkisel ekstrakt uygulanan uskumru filetoları arasında en yüksek puanı NKE uygulanan balıkların aldığı ($P<0.01$), YÇE ve ÜÇE uygulamaları arasında ise farklılık olmadığı ($P>0.01$) tespit edilmiştir.

Depolama başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda yağsı kokunun algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan yağsı koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolama süresince yağsı kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde sadece antioksidan uygulanmayan kontrol grubuna ait balıkların depolamanın 10. gününde sınır değer olan 5'in altında puan aldığı belirlenmiştir. Depolamanın 10. gününde K örneklerin yağsı koku açısından en düşük, BHT uygulanan filetoların ise en yüksek puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolamanın 10. gününde yağsı koku özelliği açısından NKE ve BHT uygulanan balıklar arasında farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P>0.01$).

Boya kokusu oksidasyonla birlikte algılanan bir kokudur. Bu nedenle oksidasyonun düzeyini belirlemek üzere boya kokusu yönünden değerlendirme de yapılmıştır. Depolama başlangıcında boya kokusu hiç algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Depolama sonunda ÜÇE, NKE ve BHT uygulanan filetolar arasında boya kokusu açısından farklılık olmadığı ve K grubundan yüksek puanlar aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$). 10. günde K balıkların ransit koku açısından en düşük puanı aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$).

Soğukta depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, kontrol grubuna panelistler tarafından diğer örnek gruplarına nazaran daha düşük puanlar verildiği belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre, BHT ve NKE uygulanmış balıkların panelistler tarafından daha fazla beğenildikleri söylenebilir.

4.4.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi

4.3.9.1 Peroksit değeri (PD)

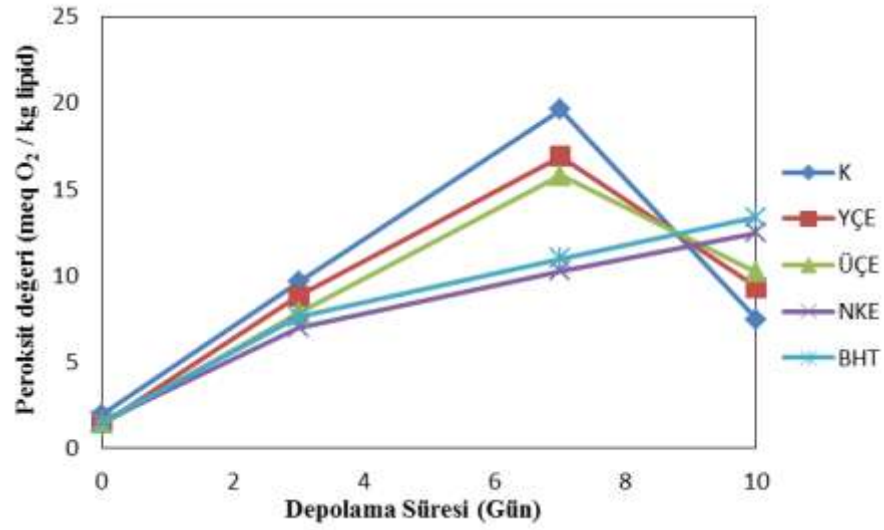
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen PD sonuçları, meq O₂/kg lipid olarak çizelge 4.32’de ve şekil 4.23’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak uskumru filetolarının PD düzeylerinin depolamanın 7. gününe kadar arttığı, daha sonra tekrar azaldığı tespit edilmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 1.59 meq olarak belirlenen PD, 7. günde 14.71 meq düzeyine ulaşmış, 10. günde ise 10.58 meq düzeyine azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, kontrol grubuna ait uskumru filetolarının PD düzeylerinin yüksek (9.67 meq), NKE içeren balıkların düşük (7.83 meq) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.32 Soğukta depolanan uskumru filetosunun peroksit değerine (PD) (meq. O₂/kg lipid farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	1.96±0.07 ^{Ad}	1.42±0.01 ^{Ac}	1.43±0.00 ^{Ad}	1.58±0.01 ^{Ad}	1.55±0.04 ^{Ad}	1.59±0.21
3	9.63±0.17 ^{Ab}	8.82±0.09 ^{Bb}	7.85±0.22 ^{Cc}	6.98±0.03 ^{Dc}	7.61±0.07 ^{CDc}	8.18±0.99
7	19.62±0.54 ^{Aa}	16.89±0.15 ^{Ba}	15.79±0.25 ^{Ca}	10.27±0.38 ^{Db}	10.98±0.03 ^{Db}	14.71±3.77
10	7.47±0.02 ^{Ec}	9.32±0.37 ^{Db}	10.22±0.28 ^{Cb}	12.48±0.66 ^{Ba}	13.39±0.20 ^{Aa}	10.58±2.27
Ort.	9.67±6.83	9.11±5.85	8.82±5.51	7.83±4.40	8.38±4.75	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.23 Soğukta depolanan uskumru filetosunun peroksit değerindeki değişim

Varyans analizi sonucunda, soğukta depolanan uskumru filetolarının peroksit değerlerindeki değişime depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkili olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 2). Çizelge 4.32’de görüldüğü gibi K, YÇE ve ÜÇE ile muamele edilen gruplarda depolamanın 7. gününe kadar PD artmış, 7. günden sonra ise tekrar azalmıştır. 0. günde 1.96 meq olan kontrol grubunun PD, 7. günde 19.62 meq’a ulaşmış, bugünden itibaren azalarak depolamanın 10. gününde 7.47 meq düzeyine düşmüştür. Benzer şekilde depolama süresinin başında 1.42 meq olarak belirlenen YÇE içeren balıkların PD, 7. günde 16.89 meq olmuş, 10. günde ise 9.32 meq olarak belirlenmiştir. ÜÇE ile muamele edilen balıklarda depolama süresinin başında 1.43 meq olan PD, 7. günde 15.79 meq düzeyine ulaşmış, 10. gün ise azalarak 10.22 meq’a düşmüştür. NKE ve BHT uygulanan balıklarda ise depolama süresince PD sürekli artmıştır. Depolamanın başında 1.58 meq olan NKE içeren grubun PD, 10. günün sonunda 12.48 meq’a ulaşmıştır. BHT ile muamele edilen grubun depolamanın başında belirlenen PD 1.55 meq iken, 10. günün sonunda 13.39 meq düzeyine yükseldiği belirlenmiştir. Çizelge 4.32’de depolama süresinin başında oluşturulan gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı ($P > 0.01$); depolamanın 7. gününde ise kontrol grubuna ait balıkların en yüksek PD sahip oldukları, bunu sırasıyla YÇE, ÜÇE, BHT ve NKE ile muamele edilen grupların izlediği görülmektedir ($P < 0.01$). 7. günde NKE ve BHT içeren gruplar arasında istatistiki olarak bir farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P > 0.01$). 10 günlük soğukta depolama sonrasında tespit edilen PD

incelendiğinde BHT ile muamele edilen balıkların diğer gruplara göre daha yüksek PD'ne sahip olduğu, bu grubu sırasıyla NKE, ÜÇE, YÇE ve K balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).

Jittrepotch vd. (2006), pişirilmiş Japon sardalya balıklarının PD düzeylerinin depolama süresinin başında 0.85 mmol/kg lipid olduğunu, 2°C'de 14 günlük depolama süresi sonunda ise bu değer 5.85 mmol/kg lipid düzeyine yükseldiğini göstermişlerdir.

4.4.9.2 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen TBARM değerleri, mg MDA/kg et olarak çizelge 4.33'de ve şekil 4.24'de görülmektedir.

Çizelge 4.33 Soğukta depolanan uskumru filetosunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarına (mg MDA/kg et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

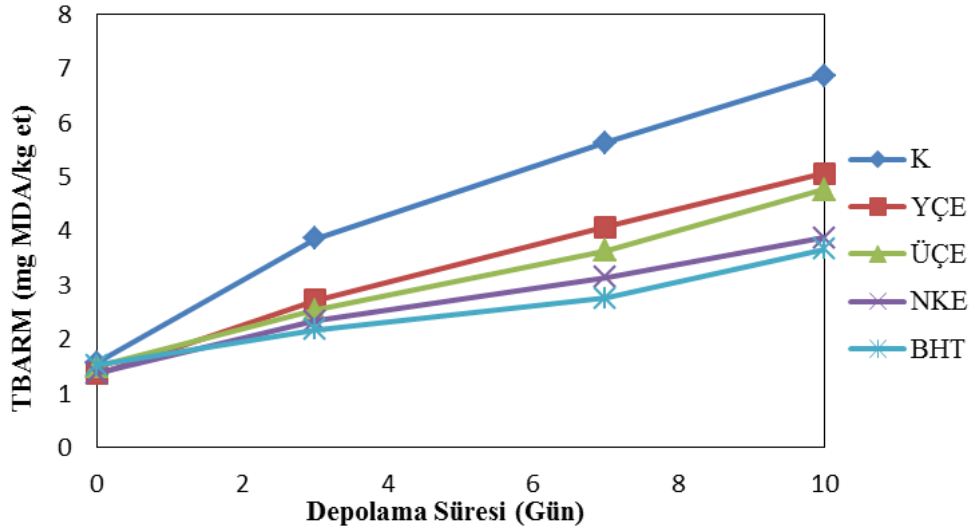
Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	1.58±0.02 ^{Ad}	1.36±0.09 ^{Ad}	1.50±0.14 ^{Ad}	1.38±0.08 ^{Ad}	1.52±0.05 ^{Ad}	1.47±0.11
3	3.86±0.09 ^{Ac}	2.72±0.02 ^{Bc}	2.53±0.03 ^{BCc}	2.34±0.02 ^{CDc}	2.19±0.02 ^{Dc}	2.73±0.63
7	5.64±0.31 ^{Ab}	4.08±0.03 ^{Bb}	3.64±0.11 ^{Cb}	3.14±0.05 ^{Db}	2.77±0.04 ^{Eb}	3.85±1.06
10	6.87±0.08 ^{Aa}	5.06±0.01 ^{Ba}	4.76±0.00 ^{Ca}	3.87±0.02 ^{Da}	3.66±0.03 ^{Da}	4.85±1.20
Ort.	4.49±2.13	3.31±1.49	3.11±1.31	2.68±0.99	2.53±0.84	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak TBARM değerinin arttığı, başlangıçta 1.47 mg düzeyinde olan TBARM miktarının soğukta depolamanın 10. gününde 4.85 mg düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TBARM miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K uskumruların ortalama TBARM miktarının diğer gruplardan çok daha yüksek olduğu çizelge 4.33'de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT'nin daha etkili olduğu bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE

uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.



Şekil 4.24 Soğukta depolanan uskumru filetosunun tiyobarbiturik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim

Soğukta depolanan uskumru filetolarının tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarlarındaki (TBARM) değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto balıklarda depolama süresinin başında 1.36-1.58 mg düzeyinde olan TBARM değerleri, 10 günlük depolama süresi sonunda 3.66-6.87 mg düzeyine yükselmiştir. Depolama süresinin başında gruplar arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$), ilerleyen depolama süresince antioksidanların etkinliklerini göstererek TBARM miktarındaki artışı sınırlandırdıkları tespit edilmiştir. Depolamanın 3. ve 7. günlerinde BHT’li örneklerin, doğal antioksidan kaynakları arasında ise NKE’li örneklerin en düşük TBARM miktarına sahip oldukları belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda BHT (3.66 mg) ve NKE (3.87 mg) içeren balıklar arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$) ve bu grupların diğerlerine göre daha düşük TBARM değerine sahip olduğu belirlenmiştir. BHT ve NKE içeren balıkları sırasıyla ÜÇE (4.76 mg), YÇE (5.06 mg) ve K (6.87 mg) uskumruların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).

Jittrepotch vd. (2006), pişirilmiş Japon sardalya balıklarının TBA değerlerinin depolama

süresinin başında 9.41 mg/kg et olduğunu, 2°C’de 14 günlük depolama süresi sonunda ise bu değerin 31.3 mg/kg et düzeyine yükseldiğini göstermişlerdir. Mielnik vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, soğukta depolanan hindi etinde özellikle de ilk 6 günde TBARM değerinin önemli düzeyde arttığı gösterilmiştir. 10-20 g/kg düzeyinde üzüm çekirdeği ekstraktı ilave edilen hindi but etinde TBARM değerinin kontrol örneğine kıyasla yaklaşık 10 kat azaldığı Lau ve King (2003) tarafından belirlenmiştir.

TBA değerine dayalı olarak artan ransidite, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asidi hidroperoksitlerinin malonaldehite dönüşmesinden kaynaklanmaktadır (Sikorsky vd. 1984). Lipid oksidasyonunun bir sonucu olarak malonaldehit oluşumu, TBA değerinin yükselmesine neden olur. Ancak ilerleyen oksidatif reaksiyonlar sonucunda proteinler ve malonaldehit arasındaki reaksiyona bağlı olarak TBA değeri azalır (Benedict vd. 1975). Nassu vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada, fermente keçi sosislerinde antioksidan kaynağı olarak biberiye ekstraktı (%0, 0.025 ve 0.050) kullanılmış, üretilen sosisler 90 gün süre ile oda sıcaklıklarında (30°C) depolanmıştır. Depolama süresinin başında TBARM değerinin hızla arttığı, daha sonra ise azaldığı tespit edilmiştir. Malonaldehit lipid oksidasyonunun ikincil reaksiyon ürünleridir. Bunu anlamı TBARM değeri depolama süresince sürekli olarak artar değildir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak azalan TBARM değeri malonaldehitin proteinler ile reaksiyonunu akla getirmektedir (Melton 1983). TBARM, malonaldehit oluşumunun izlenmesinde kullanılan genel bir analizdir. Ancak oluşan diğer aldehit ürünlerinin de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girebileceği ve kırmızı renk verebileceği unutulmamalıdır (Alghazeer vd. 2008).

4.4.9.3 *para*-Anisidin değeri (*p*-Ad)

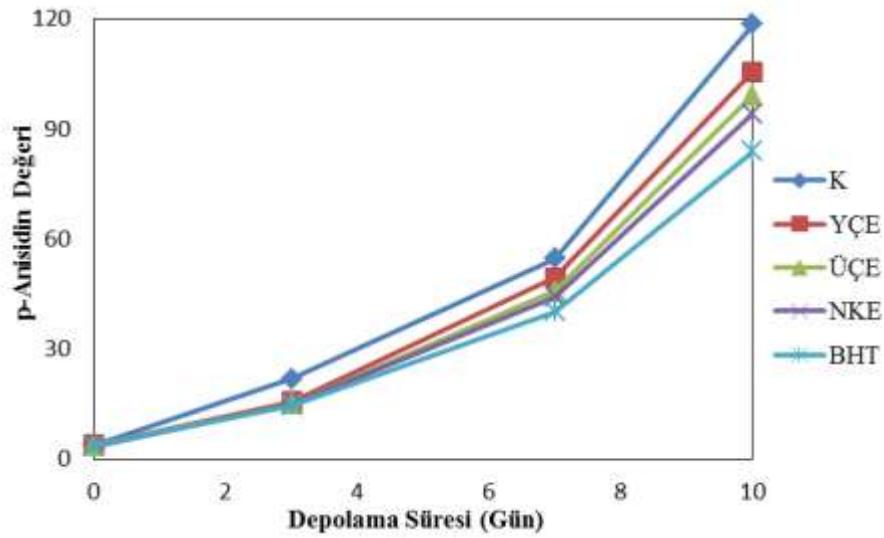
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen *p*-Ad sonuçları çizelge 4.34’de ve şekil 4.25’de görülmektedir.

Çizelge 4.34 Soğukta depolanan uskumru filetosunun *p*-Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	3.78±0.26 ^{Ad}	3.88±0.13 ^{Ad}	3.72±0.18 ^{Ad}	3.55±0.21 ^{Ad}	3.59±0.25 ^{Ad}	3.70±0.20
3	21.75±0.74 ^{Ac}	15.62±0.86 ^{Bc}	14.97±0.21 ^{Bc}	14.66±0.52 ^{Bc}	14.65±0.30 ^{Bc}	16.33±2.91
7	54.62±1.65 ^{Ab}	49.33±1.25 ^{Bb}	45.72±0.69 ^{Cb}	44.12±0.66 ^{Cb}	40.18±1.56 ^{Db}	46.79±5.24
10	118.41±1.01 ^{Aa}	105.42±1.82 ^{Ba}	99.14±1.01 ^{Ca}	94.04±0.05 ^{Da}	83.74±0.01 ^{Ea}	100.15±12.22
Ort.	49.60±46.70	43.60±42.20	40.90±39.50	39.10±37.40	35.50±33.00	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.25 Soğukta depolanan uskumru filetosunun *p*-Anisidin değerindeki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak *p*-Ad düzeyinin arttığı, başlangıçta 3.70 olan düzeyin soğukta depolamanın 10. gününde 100.15 düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının *p*-Ad üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama *p*-Ad'nin oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu çizelge 4.36'da görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT'nin daha etkili olduğu bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

Soğukta depolanan uskumru filetolarının *p*-Ad'ndeki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu etkilidir (P<0.01, EK 4 Çizelge

2). Fileto halde soğukta depolanan uskumru balıklarının *p*-Ad depolama süresince artmaktadır ($P<0.01$). Depolama süresinin başında oluşturulan grupların *p*-Ad sonuçlarının 3.55-3.88 arasında değiştiği ve 0. günde uygulamalar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Antioksidan kaynakları depolamanın 3. gününden itibaren etkilerini göstermiş ve *p*-Ad düzeyinin yükselmesini sınırlandırmışlardır. 3 günlük depolama sonrasında antioksidan uygulamaları arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$), depolamanın 7. gününde ise BHT'nin daha etkili olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). 10 günlük soğukta depolamadan sonra *p*-Ad sonuçları 83.74-118.41 arasına yükselmiştir. Depolama süresi sonunda K örneklerin (118.41) en yüksek *p*-Ad'ne ulaştığı, bunu sırasıyla YÇE (105.42), ÜÇE (99.14), NKE (94.04) ve BHT (83.74) uygulanan balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).

4.4.9.4 Yağ asitleri dağılımı

Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen yağ asidi dağılımları çizelge 4.35'de verilmiştir. Yağ asitlerinde miktar tayini, tespit edilen tüm yağ asidi piklerinin altında kalan alan ve her bir yağ asidine ait pikin altında kalan alan kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar “g yağ asidi/100g toplam yağ asidi” olarak verilmiştir.

Çalışmada, uskumru filetolarının palmitik asit, oleik asit ve dokosahekzaenoik asit yağ asitlerini yüksek oranda içerdiği belirlenmiştir. Soğukta depolanan uskumru filetolarının depolanması süresince miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit, eikosaenoik asit miktarı artmış; eikosatrienoik asit, eikosapentaenoik asit, ve dokosahekzaenoik asit miktarı azalmış, dokosapentaenoik asit miktarı ise depolama süresince değişmemiştir. Genel olarak soğukta depolanan uskumru filetolarının çoklu doymamış yağ asidi miktarlarının azaldığı, tekli doymamış yağ asidi ve doymuş yağ asidi miktarlarının ise arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.35 Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%)

Yağ asidi	Çıkış zamanı (dakika)	Uygulama	Süre (Gün)			
			0	3	7	10
Miristik asit (C14:0)	4.40	K	2.03	2.14	2.68	3.32
		YÇE	2.02	2.18	2.58	2.77
		ÜÇE	1.85	1.91	2.53	2.55
		NKE	2.05	2.14	2.45	2.71
		BHT	1.84	2.33	2.53	2.87
Palmitik asit (C16:0)	6.37	K	21.31	22.54	24.87	25.96
		YÇE	22.95	24.68	25.88	27.44
		ÜÇE	22.56	23.29	25.41	26.06
		NKE	20.06	21.85	24.64	27.65
		BHT	22.20	23.08	24.13	26.97
Palmitoleik asit (C16:1)	6.75	K	1.69	3.17	4.74	5.85
		YÇE	2.21	3.44	5.58	5.09
		ÜÇE	2.82	3.09	4.11	5.20
		NKE	3.31	3.83	4.20	4.90
		BHT	3.17	3.92	4.50	4.75
Stearik asit (C18:0)	10.03	K	7.15	7.94	8.35	9.05
		YÇE	7.00	7.69	8.01	9.84
		ÜÇE	5.87	6.74	7.21	8.03
		NKE	7.48	7.59	8.91	9.06
		BHT	5.40	6.48	7.35	8.04
Oleik asit (C18:1 n-9)	10.77	K	23.29	24.16	29.39	31.59
		YÇE	21.38	24.03	27.66	29.41
		ÜÇE	21.50	26.20	29.13	31.46
		NKE	24.93	25.12	26.68	28.76
		BHT	24.99	27.27	29.03	30.25
Linoleik asit (C18:2 n-9)	12.16	K	2.01	2.16	2.43	3.49
		YÇE	2.30	2.55	3.01	3.45
		ÜÇE	2.39	2.56	3.17	3.51
		NKE	1.23	1.27	2.04	2.18
		BHT	1.21	1.38	2.05	2.14
Eikosaenoik asit (C20:1)	18.04	K	1.05	1.23	1.91	2.24
		YÇE	1.27	1.99	2.18	2.25
		ÜÇE	2.01	2.08	2.17	2.54
		NKE	1.78	2.00	2.17	2.56
		BHT	1.35	1.66	2.19	2.42
Eikosatrienoik asit (C20:3)	23.82	K	3.20	2.04	1.91	1.64
		YÇE	2.98	2.01	1.97	1.85
		ÜÇE	1.42	1.82	1.91	1.95
		NKE	1.96	2.08	2.17	2.75
		BHT	1.96	2.18	2.55	2.94
Eikosapentaenoik asit (C20:5)	28.75	K	5.14	4.62	4.34	2.91
		YÇE	5.44	4.66	3.77	3.07
		ÜÇE	5.10	4.72	4.24	4.20
		NKE	5.12	4.90	4.76	4.74
		BHT	5.48	4.80	4.74	3.99
Dokosapentaenoik asit (DPA) (C22:5 n-3)	51.84	K	1.50	1.47	1.47	1.51
		YÇE	1.56	1.49	1.30	1.53
		ÜÇE	1.69	1.38	1.75	1.43
		NKE	1.42	1.50	1.85	1.91
		BHT	1.51	1.69	1.44	1.63

Çizelge 4.35 Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%) (devam)

Dokosaheksaenoik asit (DHA) (C22:6 n-3)	56.52	K	31.64	28.53	17.92	12.44
		YÇE	30.88	25.28	19.07	13.30
		ÜÇE	32.79	26.31	18.37	13.07
		NKE	30.66	27.73	20.12	12.79
		BHT	30.89	25.13	19.49	14.01
DYA	-	K	30.49	32.63	35.89	38.33
		YÇE	31.97	34.55	36.47	40.05
		ÜÇE	30.29	31.83	35.15	36.64
		NKE	29.60	31.59	36.00	39.42
		BHT	29.44	31.99	34.01	37.88
TDYA	-	K	26.02	28.55	36.05	39.68
		YÇE	24.86	29.46	34.42	36.75
		ÜÇE	26.33	31.38	35.41	39.21
		NKE	30.02	30.94	33.05	36.22
		BHT	29.50	32.84	35.73	37.42
ÇDYA	-	K	43.50	38.82	28.07	21.99
		YÇE	43.17	36.00	29.11	23.20
		ÜÇE	43.39	36.80	29.45	24.16
		NKE	40.39	37.47	30.95	24.36
		BHT	41.06	35.17	30.27	24.70

DYA: Doymuş yağ asitleri toplamı, TDYA: Tekli doymamış yağ asitleri toplamı, ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri toplamı.

Jittreptch vd. (2006) pişmiş Japon sardalya balıklarından elde edilen lipidlerde başlangıçta C14:0, C16:0, C16:1 (n-7), C18:0, C18:1 (n-9), C20:5 (n-3) ve C22:6 (n-3) yağ asitlerinin baskın yağ asitleri olduğunu ve bunların toplam lipidlerin %78'ini oluşturduğunu göstermişlerdir. 2°C'de 14 gün süre ile yapılan depolama sonunda C14:0, C16:0, C18:0 ve C18:1 (n-9) miktarı artmış, C16:1 (n-7), C20:5 (n-3) ve C22:6 (n-3) yağ asidi miktarları azalmıştır. Depolama süresinin başında toplam yağ asitlerinin %44'ü doymuş, %22'si monoenoik ve %34.5'i ise polienoik asitlerden oluştuğu, depolama süresinin uzamasıyla doymuş ve monoenoik asit miktarı artarken, polienoik asit miktarının azaldığı belirlenmiştir.

4.4.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi

4.4.10.1 Toplam karbonil miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen toplam karbonil miktarları nmol/mg protein olarak çizelge 4.36'da ve şekil

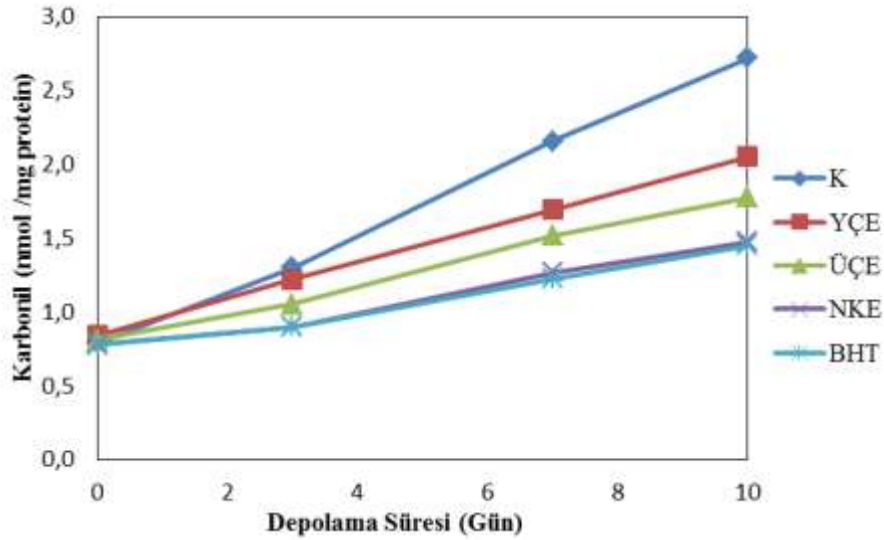
4.26'da görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak karbonil miktarı artmış, başlangıçta 0.80 nmol olan karbonil miktarı soğukta depolamanın 10. gününde 1.89 nmol düzeyine ulaşmıştır. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise antioksidan uygulamasının karbonil miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama karbonil miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu çizelge 4.36'da görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise NKE ve BHT'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.36 Soğukta depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	0.79±0.01 ^{Ad}	0.84±0.02 ^{Ad}	0.81±0.00 ^{Ad}	0.78±0.00 ^{Ad}	0.78±0.01 ^{Ac}	0.80±0.03
3	1.30±0.05 ^{Ac}	1.22±0.03 ^{Ac}	1.05±0.07 ^{Bc}	0.90±0.00 ^{Cc}	0.90±0.03 ^{Cc}	1.07±0.18
7	2.16±0.08 ^{Ab}	1.69±0.07 ^{Bb}	1.52±0.02 ^{Cb}	1.26±0.02 ^{Db}	1.22±0.04 ^{Db}	1.57±0.36
10	2.72±0.07 ^{Aa}	2.05±0.03 ^{Ba}	1.78±0.00 ^{Ca}	1.48±0.00 ^{Da}	1.45±0.00 ^{Da}	1.89±0.49
Ort.	1.74±0.80	1.45±0.49	1.29±0.41	1.10±0.30	1.09±0.28	

Sonuçlar iki tekrerrüt ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.26 Soğukta depolanan uskumru filetosunda karbonil miktarındaki değişim

Soğukta depolanan uskumru filetosunda karbonil miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun etkili olduğu belirlenmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 2). Fileto halde depolanan uskumruların

depolama süresinin başında 0.78-0.84 nmol düzeyinde olduğu belirlenen toplam karbonil miktarları depolama süresi sonunda 1.45-2.72 nmol düzeyine yükselmiştir. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında önemli bir farklılık söz konusu değilken ($P>0.01$), ilerleyen depolama süresine bağlı olarak antioksidanların etkinliklerini gösterdikleri belirlenmiştir. Depolamanın 3. 7. ve 10. günlerinde NKE ve BHT' nin etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolamanın 10. gününde belirlenen karbonil miktarları karşılaştırıldığında, BHT (1.45 nmol) ve NKE (1.48 nmol) ile muamele edilen balıkları sırasıyla ÜÇE (1.78 nmol), YÇE (2.05 nmol) ve K grubu (2.72 nmol) balıkların izlediği görülmektedir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının özellikle de BHT ve NKE'nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.

4.4.10.2 Toplam sülfidril miktarı

Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen toplam sülfidril miktarları nmol/mg protein olarak çizelge 4.37'de ve şekil 4.27'de görülmektedir.

Çizelge 4.37 Soğukta depolanan uskumru filetosunun sülfidril miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	44.22±0.87 ^{Aa}	44.07±0.52 ^{Aa}	43.81±0.13 ^{Aa}	43.26±0.21 ^{Aa}	44.29±0.47 ^{Aa}	43.93±0.55
3	30.47±0.25 ^{Cb}	30.23±0.30 ^{Cb}	34.05±0.25 ^{Bb}	35.03±0.56 ^{ABb}	35.21±0.09 ^{Ab}	32.99±2.33
7	18.70±0.38 ^{Ec}	20.34±0.16 ^{Dc}	25.15±0.08 ^{Cc}	29.58±0.23 ^{Ac}	28.12±0.41 ^{Bc}	24.38±4.48
10	10.80±0.05 ^{Ed}	12.55±0.11 ^{Dd}	17.60±0.41 ^{Cd}	21.78±0.63 ^{Ad}	19.06±0.02 ^{Bd}	16.36±4.32
Ort.	26.04±13.49	26.80±12.59	30.15±10.48	32.41±8.38	31.67±9.91	

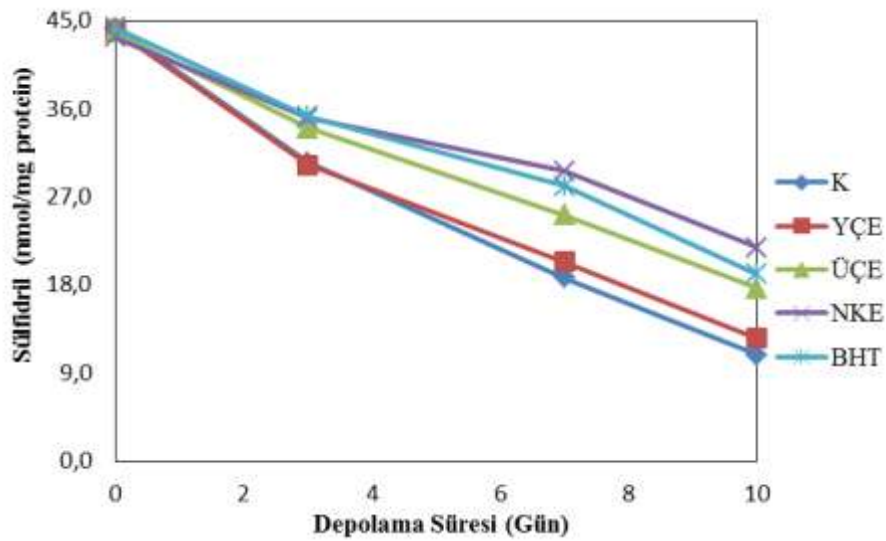
Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak sülfidril miktarının azaldığı, başlangıçta 43.93 nmol olan sülfidril miktarının soğukta depolamanın 10. gününde 16.36 nmol düzeyine ulaştığı gözlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise,

antioksidan uygulamasının sülfidril miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama sülfidril miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise NKE ve BHT'nin daha etkili oldukları belirlenmiştir.

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının toplam sülfidril miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Fileto halde soğukta depolanan balıkların depolama süresinin başında 43.26-44.29 nmol düzeyinde olan toplam sülfidril içeriklerinin depolama sonunda 10.80-21.78 nmol aralığına düştüğü belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların toplam sülfidril miktarları azalmıştır ($P<0.01$).



Şekil 4.27 Soğukta depolanan uskumru filetosunda sülfidril miktarındaki değişim

Depolama süresinin başında uygulamalar arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$), depolama süresince antioksidanların etkinliklerini gösterdikleri ve sülfidril miktarındaki azalmayı sınırlandırdıkları belirlenmiştir. Depolamanın 3. gününde NKE ve BHT etkili iken, 7. ve 10. günlerde NKE'nin daha etkili olduğu çizelge 4.37'de görülmektedir. 10 günlük depolama süresi sonunda belirlenen sülfidril miktarlarına göre K grubuna ait uskumruların en düşük (10.80 nmol) sülfidril içeriğine sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (12.55 nmol), ÜÇE (17.60 nmol), BHT (19.06 nmol) ve NKE (21.78 nmol) içeren

balıkların izlediği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.

4.4.10.3 Protein çözünürlüğü

Farklı antioksidan kaynakları ile muamele edilen uskumru filetosunda soğukta depolama sırasında belirlenen toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrillar protein çözünürlüğü (MPÇ) sonuçları çizelge 4.38'da verilmiştir. TPÇ, MPÇ ve SPÇ miktarlarında soğukta depolama süresince belirlenen değişimler ise şekil 4.28'de verilmiştir.

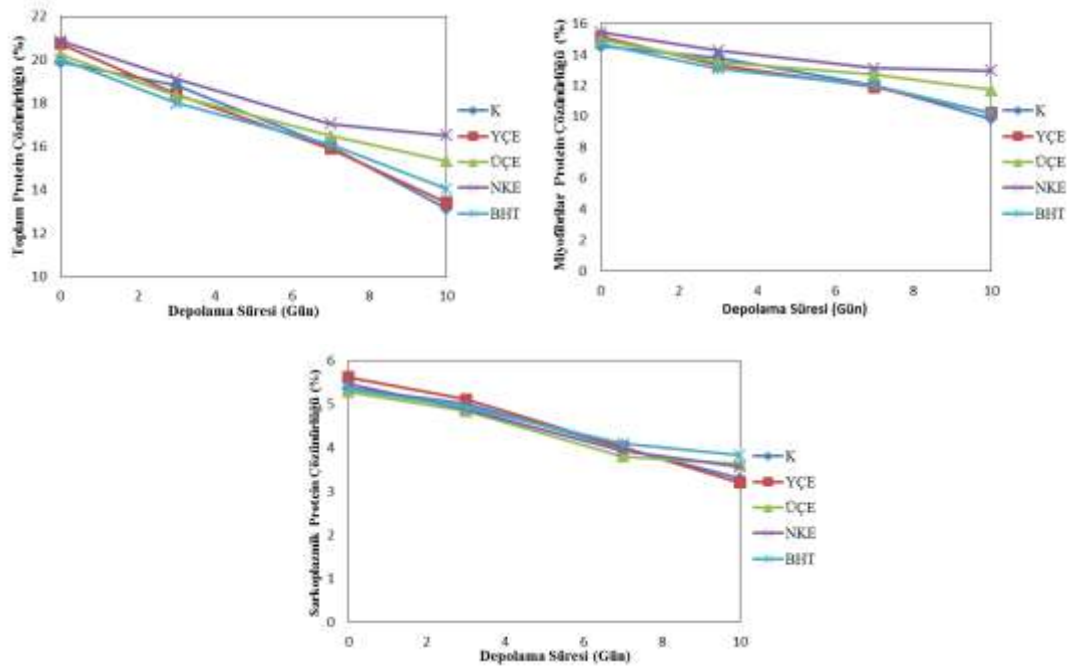
Çizelge 4.38 Soğukta depolanan uskumru filetosunun toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrillar protein çözünürlüğü (MPÇ) miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
TPÇ						
0	19.88±0.38 ^{Ba}	20.75±0.16 ^{Aa}	20.22±0.03 ^{ABa}	20.86±0.04 ^{Aa}	20.02±0.00 ^{Ba}	20.34±0.44
3	18.80±0.08 ^{ABb}	18.41±0.20 ^{BCb}	18.34±0.17 ^{BCb}	19.11±0.15 ^{Ab}	17.99±0.04 ^{Cb}	18.53±0.42
7	15.98±0.11 ^{Bc}	15.90±0.00 ^{Bc}	16.48±0.09 ^{ABc}	17.04±0.03 ^{Ac}	16.10±0.08 ^{Bc}	16.30±0.45
10	13.12±0.61 ^{Dd}	13.42±0.52 ^{CDd}	15.32±0.23 ^{Bd}	16.50±0.05 ^{Ad}	14.04±0.20 ^{Cd}	14.48±1.36
Ort.	16.94±2.83	17.12±2.94	17.59±1.99	18.38±1.85	17.04±2.37	
SPÇ						
0	5.35±0.18 ^{Aa}	5.61±0.02 ^{Aa}	5.28±0.03 ^{Aa}	5.45±0.20 ^{Aa}	5.34±0.11 ^{Aa}	5.41±0.16
3	5.01±0.06 ^{Ab}	5.11±0.02 ^{Ab}	4.84±0.07 ^{Ab}	4.88±0.09 ^{Ab}	4.92±0.06 ^{Ab}	4.95±0.11
7	4.00±0.02 ^{Ac}	4.01±0.00 ^{Ac}	3.80±0.07 ^{Ac}	3.92±0.09 ^{Ac}	4.09±0.09 ^{Ac}	3.96±0.11
10	3.29±0.13 ^{BCd}	3.20±0.09 ^{Cd}	3.63±0.34 ^{ABc}	3.56±0.08 ^{ABd}	3.82±0.09 ^{Ac}	3.50±0.27
Ort.	4.41±0.88	4.48±1.01	4.39±0.75	4.45±0.81	4.54±0.66	
MPÇ						
0	14.53±0.20 ^{Ba}	15.13±0.14 ^{ABa}	14.94±0.00 ^{ABa}	15.41±0.16 ^{Aa}	14.68±0.11 ^{ABa}	14.94±0.35
3	13.80±0.14 ^{ABb}	13.30±0.17 ^{Bb}	13.50±0.10 ^{ABb}	14.23±0.24 ^{Ab}	13.07±0.03 ^{Bb}	13.58±0.44
7	11.98±0.09 ^{BCc}	11.89±0.01 ^{Cc}	12.68±0.02 ^{ABc}	13.11±0.06 ^{Ac}	12.01±0.17 ^{BCc}	12.33±0.51
10	9.82±0.73 ^{Cd}	10.22±0.42 ^{Cd}	11.69±0.56 ^{Bd}	12.95±0.02 ^{Ac}	10.21±0.12 ^{Cd}	10.98±1.28
Ort.	12.53±1.97	12.64±1.94	13.20±1.29	13.92±1.06	12.49±1.74	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak toplam protein çözünürlüğünün (TPÇ) azaldığı, başlangıçta %20.34 olan TPÇ'nün soğukta depolamanın 10. gününde %14.48 düzeyine ulaştığı (%29 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama TPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise NKE'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.28 Soğukta depolanan uskumru filetosunda toplam, sarkoplazmik ve miyofibrilar protein çözünürlüğündeki değişim

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının toplam protein çözünürlüğü üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 2). Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının depolama süresinin başında %19.88-20.86 olarak belirlenen TPÇ miktarı 10 gün sonunda %13.12-16.50 düzeyine düşmüştür. Depolamanın başında NKE (%20.86) ve YÇE (%20.75) içeren grupların TPÇ, diğer gruplardan yüksek; K (%19.88) ve BHT (%20.02) uygulanan balıkların ise düşük olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$). Depolama sonrasında ise NKE (%16.50) içeren balıkların en yüksek TPÇ düzeyine sahip olduğu, bunu sırasıyla ÜÇE (%15.32), BHT (%14.04), YÇE (%13.42) ve K (%13.12) grubuna ait filetoların

izledikleri belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak TPÇ'nün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin TPÇ'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Uzayan depolama süresine bağlı olarak sarkoplazmik protein çözünürlüğünün (SPÇ) azaldığı, başlangıçta %5.41 olan SPÇ'nün soğukta depolamanın 10. gününde %3.50 düzeyine ulaştığı (%27 azalma) belirlenmiştir. Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının SPÇ üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Oluşturulan tüm grupların başlangıç SPÇ değerleri arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$) ancak, ilerleyen depolama süresiyle azalan SPÇ değerlerine bağlı olarak depolama süresi sonunda gruplar arasında çeşitli farklılıkların olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir. Depolamanın başında %5.28-5.61 arasında değişen SPÇ değerleri depolama süresi sonunda %3.20-3.82 düzeyine azalmıştır. Depolama süresi sonunda oluşturulan grupların SPÇ değerleri NKE > ÜÇE > YÇE – BHT - K şeklinde sıralanmıştır ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak sarkoplazmik protein çözünürlüğünün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin SPÇ'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Uzayan depolama süresine bağlı olarak miyofibrilar protein çözünürlüğünün (MPÇ) azaldığı, başlangıçta %14.94 olan MPÇ'nün soğukta depolamanın 10. gününde %10.98 düzeyine ulaştığı (%35 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının MPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumrular ile YÇE ve BHT uygulanan balıkların ortalama MPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, diğer uygulamalar arasında ise NKE'nin daha etili olduğu belirlenmiştir.

Soğukta depolanan fileto uskumru balıklarının miyofibrilar protein çözünürlüğü üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 2). Depolama süresinin başında YÇE (15.13), ÜÇE (14.94) ve BHT (14.68) uygulanan balıklar arasında herhangi bir farklılık

belirlenmemiştir ($P>0.01$). Depolama süresinin başında NKE içeren balıkların MPÇ miktarları diğer gruplara göre yüksek (15.41), K örneklerinin (14.53) ise düşüktür ($P<0.01$). Depolama süresinin sonunda NKE (12.95) uygulanan balıkların MPÇ düzeyleri yüksektir, bu grubu sırasıyla ÜÇE (12.09), YÇE (10.22), BHT (10.21) ve K (9.82) grubu filetolar izlemektedir. K, YÇE ve BHT içeren balıklar arasında depolama süresi sonunda farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P>0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak MPÇ'nün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin MPÇ'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

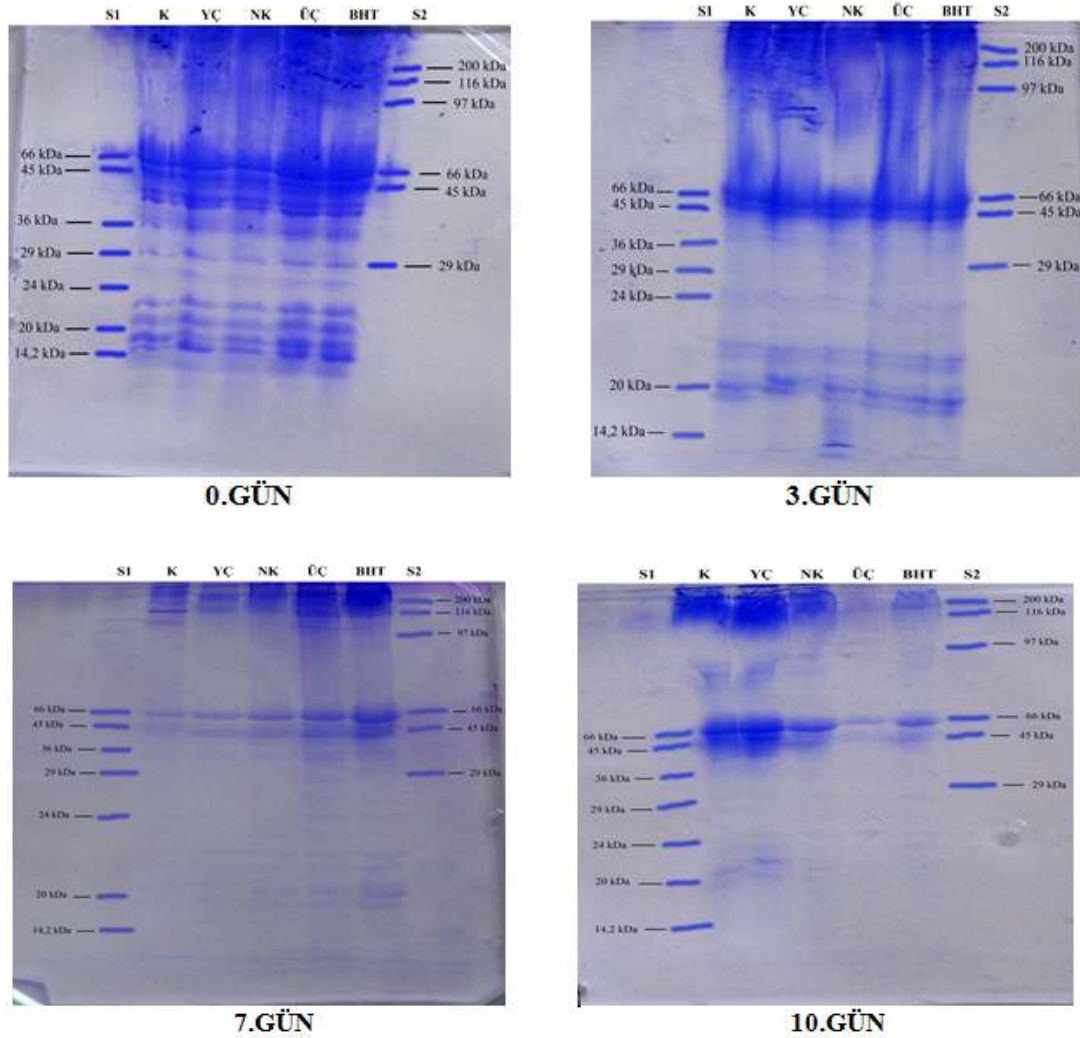
Elde edilen sonuçlar, uskumru filetosunda belirlenen toplam protein çözünürlüğünün büyük oranda miyofibrilar proteinlerden kaynaklandığını, uzayan depolama süresine bağlı olarak sarkoplazmik ve miyofibrilar proteinlerin etkilendiğini göstermektedir. Depolama süresince SPÇ ve MPÇ değerinde önemli miktarda azalma tespit edilmiştir.

4.4.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrophorezi (SDS-PAGE)

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektrophorezi (SDS-PAGE) tekniği ile soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince miyofibrilar proteinlerinde meydana gelen değişmeler belirlenmiştir. Soğukta depolanan kıyma örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS-PAGE sonuçları şekil 4.29'da verilmiştir.

Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresinin başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda 200, 116, 66, 45, 36 ve 29 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirgin bir şekilde görülmektedir. Ayrıca 45-36 ve 24-14.2 kDa aralığında protein bantları belirlenmiştir. Soğukta depolamanın 3. gününde elde edilen elektrophoretogramlara göre 200, 116, 66 ve 45 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirgin bir şekilde görülürken 36, 29 ve 14.2 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının kaybolduğu belirlenmiştir. 3 günlük depolama sonunda 24-20 kDa

aralığında protein bantları gözlenmiştir. 7 gün süre ile soğukta depolanan fileto uskumrulara ise 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları K, YÇE ve NKE içeren örneklerde belirginken, ÜÇE ve BHT uygulanan balıklarda yoğunlukları azalmıştır.



Şekil 4.29 Soğukta depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen miyofibrilar proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları

0., 3., 7. ve 10.günler. Jele 2mg protein/mL örnek tamponundan 20µL yüklenmiştir. S1 66-14.2 kDa, S2 205-36 kDa arası molekül ağırlığına sahip protein standartlarını göstermektedir. K, YÇ, NK, ÜÇ ve BHT oluşturulan grupları göstermektedir.

66 kDa molekül ağırlığındaki protein bandı K, YÇE, NKE ve BHT içeren örneklerde çok, ÜÇE uygulanan balıklarda ise az yoğunluktadır. 45 kDa molekül ağırlığındaki protein bandı, oluşturulan tüm gruplarda depolamanın 7. gününde belirgin bir şekilde

görülmektedir. 24-20 kDa aralığında protein bantlarının yoğunlukları K ve YÇE uygulanan filetolarda azalırken, diğer gruplarda kaybolmuştur. Depolamanın 10. gününde 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının tüm gruplarda yoğunluklarının azaldığı belirlenmiştir. 66 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının K, YÇE, NKE içeren örneklerde yoğunlukları azaldığı, ÜÇE ve BHT uygulanan balıklarda ise yoğunluklarının arttığı tespit edilmiştir. 29 kDa molekül ağırlığındaki protein bandı 10 günlük depolama sonunda sadece ÜÇE içeren örneklerde belirlenirken, 24 kDa molekül ağırlığındaki protein bandına ÜÇE ve BHT uygulanan örneklerde rastlanmıştır.

4.5 Dondurularak Depolanan Uskumru Kıymasına Ait Sonuçlar

4.5.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarları

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları çizelge 4.39'da gösterilmiştir. Dondurularak depolanan kıyma uskumru örneklerinin uzayan depolama süresine bağlı olarak nem miktarı azalmış, protein ve yağ miktarları ise artmıştır ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Kıyma ette depolama başlangıcında ve 6. ay sonra belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları sırasıyla ortalama %73.55 ve %69.99, %15.49 ve %16.69, %1.28 ve 1.33, %8.79 ve %9.71 bulunmuştur. Antioksidan kaynağı ilavesinin uskumru kıymalarının nem, protein kül ve yağ miktarı üzerine etkili olmadığı ($P>0.01$), depolama süresinin ise nem, protein ve yağ miktarı üzerine etkisinin önemli olduğu ($P<0.01$) tespit edilmiştir (EK 4 Çizelge 3). Donmuş depolama süresince nem miktarında gözlenen azalma evaporatif su kaybına bağlıdır. Protein ve yağ miktarında gözlenen artış ise nem kaybından kaynaklanmıştır.

Çizelge 4.39 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının nem, protein, kül ve yağ miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort.
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
Nem						
0	73.65±0.40	73.36±0.14	73.40±0.07	73.60±0.24	73.73±0.09	73.55±0.22 ^A
6	69.64±0.01	70.16±0.04	70.14±0.28	70.06±0.24	69.97±0.05	69.99±0.24 ^B
Ort.	71.65±2.32	71.76±1.86	71.77±1.89	71.83±2.05	71.85±2.17	
Protein						
0	14.87±1.21	16.45±0.29	15.45±1.12	15.13±0.28	15.53±0.36	15.49±0.81 ^B
6	17.48±1.48	16.72±2.13	15.33±1.87	16.38±0.23	17.55±0.07	16.69±1.37 ^A
Ort.	16.17±1.87	16.59±1.25	15.39±1.26	15.76±0.75	16.54±1.18	
Kül						
0	1.29±0.10	1.32±0.02	1.25±0.05	1.30±0.01	1.26±0.03	1.28±0.05
6	1.41±0.13	1.27±0.04	1.30±0.06	1.27±0.08	1.38±0.03	1.33±0.08
Ort.	1.35±0.11	1.29±0.04	1.27±0.05	1.28±0.05	1.32±0.07	
Yağ						
0	8.79±0.33	8.80±0.08	9.98±0.06	8.48±0.06	8.90±0.19	8.79±0.23 ^B
6	9.68±0.41	9.78±0.16	9.56±0.16	9.65±0.26	9.85±0.08	9.71±0.21 ^A
Ort.	9.24±0.60	9.29±0.57	9.27±0.35	9.06±0.70	9.38±0.57	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

A-B : İlgili sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2005) sardalya kıymasının %16.2 protein, %5.2 yağ, %77.2 su ve % 1.2 külden oluştuğunu belirlemişlerdir.

4.5.2 pH değeri

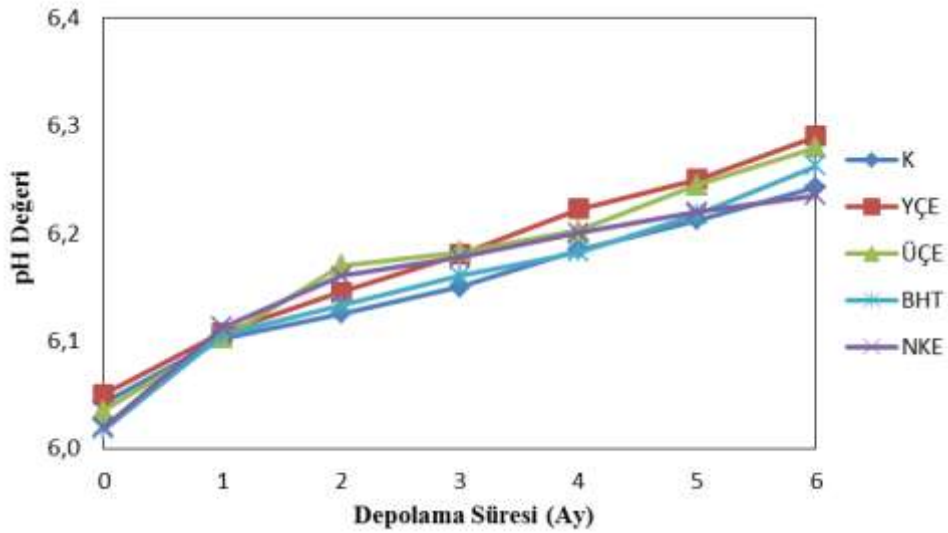
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen pH değerleri çizelge 4.40'da ve şekil 4.30'da verilmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında pH değeri ortalama 6.03, 6 ay sonra ise ortalama 6.26 bulunmuştur. K örneklerinde ortalama pH değeri 6.15, YÇE içeren örneklerde 6.18, ÜÇE içeren örneklerde 6.18, NKE içeren örneklerde 6.16 ve BHT ile muamele edilen kıyma örneklerinde ise 6.15'dir.

Çizelge 4.40 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.04±0.00 ^{ABF}	6.05±0.01 ^{Ag}	6.04±0.01 ^{ABCF}	6.02±0.00 ^{BCe}	6.01±0.01 ^{Cf}	6.03±0.01
1	6.10±0.01 ^{Ae}	6.11±0.01 ^{Af}	6.10±0.00 ^{Ae}	6.11±0.01 ^{Ad}	6.11±0.01 ^{Ae}	6.11±0.01
2	6.13±0.01 ^{Ce}	6.15±0.01 ^{BCe}	6.17±0.01 ^{Ad}	6.16±0.01 ^{ABc}	6.13±0.00 ^{Cd}	6.15±0.02
3	6.15±0.01 ^{Bd}	6.18±0.00 ^{Ad}	6.18±0.01 ^{AcD}	6.18±0.00 ^{ABc}	6.16±0.01 ^{ABc}	6.17±0.01
4	6.19±0.01 ^{Bc}	6.22±0.01 ^{Ac}	6.20±0.01 ^{ABc}	6.20±0.01 ^{ABb}	6.18±0.01 ^{Bc}	6.20±0.02
5	6.21±0.00 ^{Cb}	6.25±0.01 ^{Ab}	6.25±0.01 ^{ABb}	6.22±0.00 ^{BCab}	6.22±0.00 ^{Cb}	6.23±0.02
6	6.25±0.01 ^{CDa}	6.29±0.00 ^{Aa}	6.28±0.01 ^{ABa}	6.24±0.01 ^{Da}	6.26±0.00 ^{BCa}	6.26±0.02
Ort.	6.15±0.07	6.18±0.08	6.18±0.08	6.16±0.07	6.15±0.08	

Sonuçlar iki tekrerrüt ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.30 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının pH değerindeki değişim

Yapılan varyans analizi sonucu, dondurularak depolanan kıyma örneklerin pH değeri üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkisinin önemli olduğunu göstermiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 3). Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen pH değerlerinin düşük olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak pH değerinin arttığı ve 6. ayda tespit edilen pH değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01). Antioksidan uygulaması depolamanın başlangıcında etkisini göstermiştir. Depolamanın başlangıcında YÇE uygulanan balıkların pH değerlerinin diğer balıklardan yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01). 1. ay sonunda uygulamalar arasında farklılık olmadığı (P>0.01), süreye bağlı olarak pH değerleri arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. pH

değerindeki değişimler incelendiğinde, 6 aylık depolama sonrasında NKE uygulanan uskumru kıymalarının diğer balıklardan daha düşük pH değerine sahip oldukları da görülmektedir.

pH değerinde depolama süresince gözlenen artışın özellikle endojen veya mikrobiyal enzimler tarafından oluşturulan amonyak ve trimetilamin gibi volatil bazlardan kaynaklanmış olabileceği NKE'nın ise mikrobiyal faaliyeti sınırlandırmasına bağlı olarak daha etkili olduğu düşünülmektedir.

4.5.3 Renk

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen L^* , a^* , b^* , C ve h^0 değerleri çizelge 4.41'de ve şekil 4.31'de görülmektedir. Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının L^* değerlerinin depolamanın başında azaldığı, uzayan depolama süresine bağlı olarak tekrar arttığı belirlenmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında L^* değeri ortalama 52.76, 2. ayda 46.25 ve 6. ayda 54.35 bulunmuştur. L^* değerinde depolama süresince meydana gelen değişimin oksidatif ve mikrobiyal değişimler sonucunda balık etinin yapısında meydana gelen renk değişimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BHT uygulanan uskumru kıymalarının depolama süresince belirlenen ortalama L^* değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek (53.26) olduğu, bu grubu sırasıyla ÜÇE (51.57), K (51.30), NKE (48.47) ve YÇE (48.09) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

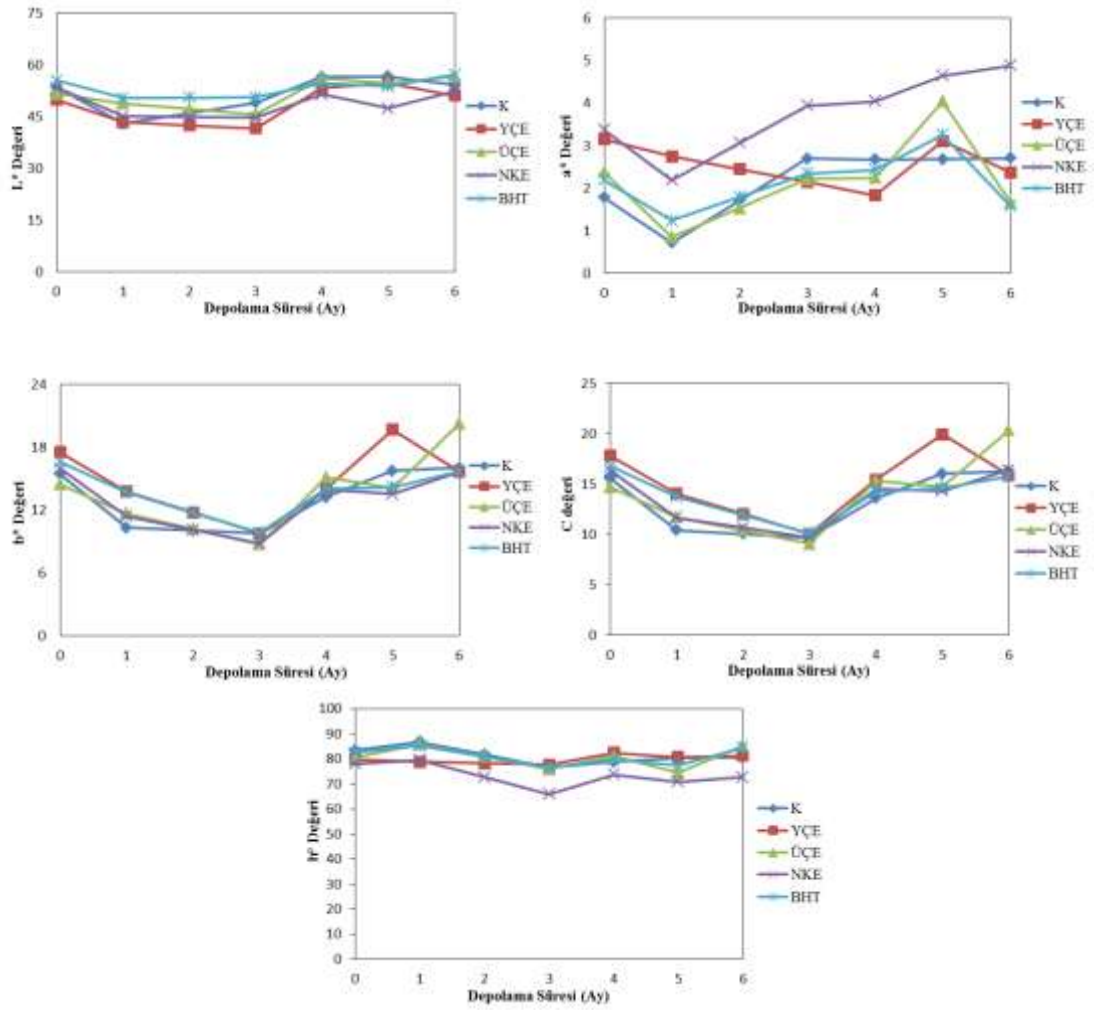
Dondurularak depolanan kıyma uskumru örneklerin parlaklık değeri üzerine depolama süresi ve uygulamanın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). Depolama süresinin başlangıcında belirlenen L^* değerlerinin yüksek olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak önce azaldığı ve daha sonra tekrar arttığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, antioksidan kaynağının uskumru kıymasının L^* değeri üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Bu durumun, ilave edilen bitkisel materyalin kendi renginden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.41 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
L*						
0	53.45±1.16	49.84±0.46	51.67±1.76	53.39±0.95	55.46±1.02	52.76±2.17 ^a
1	43.01±2.22	43.39±7.25	48.82±4.96	45.08±6.65	50.42±6.75	46.14±5.37 ^b
2	46.03±0.00	42.54±0.00	47.26±0.00	44.88±0.00	50.53±0.00	46.25±2.79 ^c
3	49.05±2.92	41.68±1.14	45.69±1.71	44.68±0.60	50.65±0.66	46.35±3.58 ^b
4	56.57±2.64	53.35±7.19	56.11±6.03	51.45±0.68	54.74±0.63	54.44±3.82 ^a
5	56.64±2.23	54.74±1.70	54.78±2.84	47.47±5.54	53.79±0.69	53.48±4.03 ^a
6	54.37±1.83	51.12±1.44	56.70±0.16	52.34±2.22	57.23±3.01	54.35±2.90 ^a
Ort.	51.30±5.36 ^{AB}	48.09±5.99 ^B	51.57±4.89 ^{AB}	48.47±4.45 ^B	53.26±3.37 ^A	
a*						
0	1.78±0.33	3.15±0.15	2.38±0.07	3.37±0.20	2.20±0.04	2.58±0.65 ^b
1	0.72±0.28	2.75±0.76	0.84±0.48	2.19±0.97	1.24±0.28	1.55±0.95 ^c
2	1.71±0.00	2.45±0.00	1.53±0.00	3.06±0.00	1.79±0.00	2.11±0.60 ^{bc}
3	2.70±0.39	2.15±0.10	2.22±0.10	3.94±0.17	2.35±0.10	2.67±0.71 ^b
4	2.67±1.96	1.83±0.77	2.24±1.20	4.04±0.42	2.43±0.06	2.64±1.14 ^b
5	2.68±0.86	3.11±0.39	4.04±0.74	4.64±0.94	3.26±1.12	3.55±0.97 ^a
6	2.71±0.12	2.37±0.05	1.67±0.93	4.88±0.57	1.59±0.01	2.64±1.31 ^b
Ort.	2.14±0.96 ^B	2.54±0.57 ^B	2.13±1.08 ^B	3.73±1.00 ^A	2.12±0.71 ^B	
b*						
0	15.45±0.09 ^{Aa}	17.52±0.63 ^{Aab}	14.48±0.20 ^{Abc}	15.97±0.51 ^{Aa}	16.59±1.13 ^{Aa}	16.00±1.18
1	10.33±0.77 ^{Bb}	13.77±3.05 ^{Ac}	11.67±1.26 ^{ABcd}	11.41±2.55 ^{ABbc}	13.69±2.89 ^{ABab}	12.17±2.23
2	10.04±0.00 ^{Ab}	11.77±0.00 ^{Ade}	10.23±0.00 ^{Ad}	10.12±0.00 ^{Ac}	11.76±0.00 ^{Abc}	10.78±0.85
3	9.76±0.67 ^{Ab}	9.77±0.47 ^{Ae}	8.77±0.32 ^{Ad}	8.83±0.61 ^{Ac}	9.84±0.57 ^{Ac}	9.40±0.65
4	13.26±0.10 ^{Aa}	14.02±1.16 ^{Ac}	15.12±2.09 ^{Ab}	13.96±0.72 ^{ABab}	14.01±0.91 ^{ABab}	14.07±1.09
5	15.77±0.33 ^{Ba}	19.68±3.95 ^{Aa}	14.13±0.41 ^{Bbc}	13.51±1.57 ^{Bab}	14.19±1.54 ^{Bab}	15.45±2.81
6	16.04±0.17 ^{Ba}	15.69±1.67 ^{Bbc}	20.23±1.71 ^{Aa}	15.64±1.75 ^{Ba}	15.67±1.80 ^{Ba}	16.65±2.22
Ort.	12.95±2.77	14.60±3.57	13.52±3.73	12.78±2.81	13.68±2.46	
C						
0	15.56±0.06	17.81±0.59	14.68±0.19	16.33±0.54	16.74±1.12	16.22±1.21 ^{ab}
1	10.41±0.72	14.05±3.14	11.72±1.30	11.63±2.68	13.76±2.89	12.31±2.28 ^c
2	10.03±0.00	12.04±0.00	10.40±0.00	10.65±0.00	11.94±0.00	11.01±0.87 ^{cd}
3	9.66±0.21	10.03±0.41	9.08±0.32	9.68±0.49	10.12±0.58	9.71±0.50 ^d
4	13.62±0.48	15.45±0.57	15.33±1.89	14.54±0.57	14.24±0.90	14.63±1.05 ^b
5	16.02±0.48	19.94±3.84	14.75±0.53	14.33±1.18	14.58±1.76	15.93±2.66 ^{ab}
6	16.30±0.13	15.89±1.66	20.32±1.79	16.39±1.85	15.78±1.77	16.93±2.15 ^a
Ort.	13.08±2.88 ^B	15.03±3.55 ^A	13.75±3.70 ^{AB}	13.36±2.79 ^B	13.88±2.44 ^{AB}	
h°						
0	83.52±1.12	79.86±0.79	80.72±0.49	78.13±0.14	82.55±0.29	80.95±2.08
1	86.85±2.86	78.82±0.66	85.93±1.87	79.52±2.57	85.28±0.70	83.28±3.87
2	49.00±55.1	80.61±0.00	72.39±0.00	73.10±0.00	84.48±0.00	71.92±22.51
3	76.50±5.81	77.61±0.95	75.97±0.36	65.91±2.36	76.46±0.03	74.49±5.03
4	78.79±8.04	82.44±2.00	81.12±5.65	73.81±2.37	79.82±0.74	79.20±4.65
5	80.39±2.79	80.72±2.95	74.44±2.80	70.89±5.60	77.33±2.90	76.75±4.74
6	80.63±0.41	81.31±0.89	85.32±2.25	72.76±0.06	84.42±0.39	80.89±4.75
Ort.	76.53±19.72	80.20±1.89	79.41±5.44	73.44±4.76	81.48±3.58	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.31 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının a* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak kırmızılık değerlerinin düzenli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında a* değeri ortalama 2.58, 6 ay sonra 2.64 bulunmuştur. NKE içeren örneklerin depolanmaları süresince belirlenen ortalama a* değerlerinin diğer uygulamalardan yüksek (3.73) olduğu, NKE uygulanan balıkları sırasıyla YÇE (2.54), K (2.14), ÜÇE (2.13) ve BHT (2.12) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma örneklerde depolama süresi ve uygulamanın a* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). Depolama süresinin a* değeri üzerine etkili olduğu ancak, depolama süresinin başlangıcında ve depolama

süresi sonunda belirlenen kırmızılık değerleri arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). Antioksidan uygulamaları arasında ise NKE içeren balıkların diğer uygulamalardan daha yüksek kırmızılık değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). K, YÇE, ÜÇE ve BHT uygulanan balıklar arasında a^* değeri açısından farklılık olmadığı da tespit edilmiştir ($P>0.01$).

Sanchez-Alonso vd. (2008), farklı konsantrasyonlarda beyaz üzüm lifi içeren çiğ örneklerin a^* değerinde donmuş depolama süresince değişim olmadığını ($P>0.01$), ancak K örneklerinin a^* değerlerinin önemli düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir ($P<0.01$). b^* değeri ise lif içeren örneklerde değişmemiş, ancak K örneklerinde depolama süresince artış göstermiştir. Bu durum kırmızılık değerinin azalması ile açıklanmıştır. Oksijene olan heme proteinler okside olan pigmentlerden (met-heme proteinler-kahverengi) farklı olarak parlak renk verirler (Sanchez-Alonso vd. 2008). Sanchez-Alonso ve Borderias (2008) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kıyma istavrit kaslarına ilave edilen üzüm lifinin pişirilmiş örneklerde a^* değerini arttırdığı (%0'da 3.8; %2'de 4.4 ve %4'de 4.8) ($P<0.01$), çiğ örneklerde ise gruplar arasında önemli bir farklılık olmadığı ($P>0.01$) ve 6.40-7.10 arasında değişen a^* değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada pişirme işleminin a^* değerini azalttığı da tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının b^* değerleri incelendiğinde, sarılık değerlerinin uzayan depolama süresine bağlı olarak düzenli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Kıyma ette depolama başlangıcında b^* değeri ortalama 16.00, 6 ay sonra ise ortalama 16.65 bulunmuştur. Genel olarak NKE içeren balıkların sarılık değerlerinin (12.78) diğer gruplardan düşük, YÇE ile muamele edilen balıkların (14.60) ise yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma balıklarda depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun b^* değeri üzerine istatistiki olarak etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). 3 aylık depolama süresince donmuş depolanan kıyma örneklerde b^* değerinin azaldığı, uzayan depolama süresine bağlı olarak tekrar arttığı gözlenmiştir ($P<0.01$). Her bir depolama süresinde, uygulamalar

arasındaki farklılıklar incelendiğinde depolamanın ilk dört ayında gruplar arasında farklılık olmadığı, 5. ve 6. aylarda antioksidan uygulamasının b^* değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). 6 aylık depolama sonunda ise ÜÇE (20.23) içeren grubun sarılık değerinin diğer gruplardan yüksek olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir. Bitkisel ekstrakt ilavesinin kıyma uskumrulara sarılık değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Uygulanan ekstraktlar arasındaki farklılıkların değişen pH değerlerine bağlı olarak antioksidan etkinliğinin farklılaşması ve okside olan miyogloblin düzeyinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının C değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak C değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı, ancak yapılan uygulamalar arasında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Kıyma ette depolama başlangıcında C değeri ortalama 16.22, 6 ay sonra ise ortalama 16.93 bulunmuştur. Genel olarak YÇE uygulanan balıkların renk yoğunluğu değerlerinin (15.03) diğer gruplardan yüksek, K (13.08) ve NKE ile muamele edilen balıkların (13.36) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan uskumru kıymalarında C değeri üzerine depolama süresi ve uygulamanın etkisi önemlidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Donmuş depolanan kıyma örneklerde tüm depolama süreci dikkate alındığında YÇE içeren balıkların en yüksek renk yoğunluğu değerine sahip oldukları, kontrol grubu balıklar ile NKE içeren balıkların ise en düşük C değerine sahip oldukları gözlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin renk yoğunluğu üzerine etkisi incelendiğinde ise depolamanın 3. ayına kadar C değerinin azaldığı, daha sonra tekrar arttığı belirlenmiştir ($P<0.01$).

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının h^o değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine ve antioksidan uygulamasına bağlı olarak h^o değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında h^o değeri ortalama 80.95, 6 ay sonra ise ortalama 80.89 bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının etkisi incelendiğinde, NKE ile muamele edilen balıkların renk açısı değerinin diğer uygulamalardan düşük, BHT'nin ise yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan istatistik değerlendirme sonucunda, donmuş depolanan kıyma uskumru balıklarında depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun renk açısı değeri üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$, EK 4 Çizelge 3).

4.5.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı

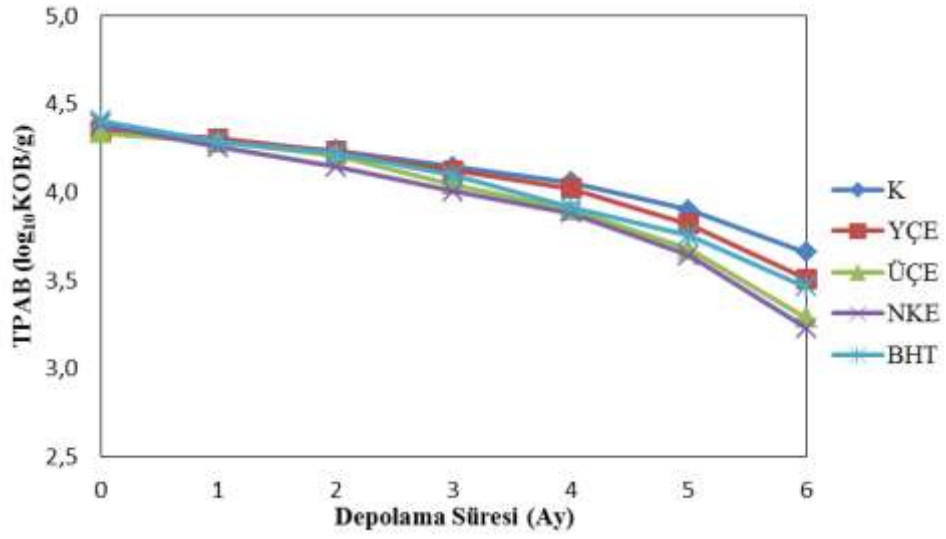
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen TAPB sayısı ($\log_{10}$ KOB/g et) çizelge 4.42’de ve şekil 4.32’de görülmektedir. Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının TAPB yükleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı düzenli bir azalma olduğu görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında TAPB sayısı ortalama 4.37, 6 ay sonra ise ortalama 3.43 bulunmuştur.

Çizelge 4.42 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam aerob psikrofil bakteri sayısına ($\log_{10}$ KOB/g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	4.37±0.01 ^{Aa}	4.35±0.02 ^{Aa}	4.34±0.00 ^{Aa}	4.38±0.00 ^{Aa}	4.40±0.01 ^{Aa}	4.37±0.03
1	4.29±0.02 ^{Ab}	4.30±0.00 ^{Aab}	4.28±0.00 ^{Aab}	4.25±0.03 ^{Ab}	4.29±0.01 ^{Ab}	4.28±0.02
2	4.24±0.03 ^{Ab}	4.23±0.03 ^{Ab}	4.21±0.05 ^{ABb}	4.14±0.04 ^{Bc}	4.22±0.06 ^{ABb}	4.21±0.02
3	4.14±0.02 ^{Ac}	4.12±0.01 ^{Ac}	4.04±0.00 ^{BCc}	4.00±0.00 ^{Cd}	4.09±0.01 ^{ABc}	4.08±0.05
4	4.06±0.02 ^{Ad}	4.02±0.00 ^{Ad}	3.90±0.05 ^{Bd}	3.88±0.01 ^{Be}	3.91±0.00 ^{Bd}	3.95±0.02
5	3.90±0.01 ^{Ae}	3.81±0.04 ^{Be}	3.67±0.03 ^{Ce}	3.64±0.05 ^{Cf}	3.75±0.01 ^{Be}	3.76±0.03
6	3.66±0.04 ^{Af}	3.51±0.00 ^{Be}	3.29±0.03 ^{Cf}	3.23±0.01 ^{Cg}	3.46±0.03 ^{Bf}	3.43±0.16
Ort.	4.09±0.24	4.05±0.29	3.96±0.10	3.93±0.38	4.02±0.32	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.32 Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim

Dondurularak depolanan kıyma uskumrularda TAPB sayısı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). Başlangıçta kıyma örneklerde 4.34-4.40 arasında değişen TAPB sayısı 6 aylık depolama sonrasında 3.23-3.66 aralığına düşmüştür. TAPB sayısında meydana gelen bu azalmanın, dondurma işleminin mikroorganizmalar üzerine olan tahrip edici etkisinden ve uygulanan antioksidan kaynaklarının antibakteriyal aktivitelerinden kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir. Başlangıçta oluşturulan gruplar arasında istatistiki olarak bir farklılık gözlenmezken ($P > 0.01$), 6. ay sonunda K grubu örneklerin en yüksek TAPB yüküne sahip olduğu (3.66), bunu sırasıyla YÇE (3.51), BHT (3.46), ÜÇE (3.29) ve NKE (3.23) içeren grupların izlediği görülmektedir ($P < 0.01$). Ulaşılan son TAPB yükleri dikkate alındığında; YÇE ve BHT ile muamele edilen gruplar arasında, ÜÇE ve NKE ile muamele edilen gruplar arasında herhangi bir farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P > 0.01$). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, donmuş depolama süresince tüm örneklerin mikrobiyal açıdan güvenli olduğu da görülmektedir. Donmuş depolama sonunda ulaşılan TAPB yükleri incelendiğinde, NKE içeren balıkların diğer gruplara kıyasla daha düşük mikrobiyal yüke sahip olduğu, bu durumun ise NKE'nin yüksek antimikrobiyal aktivitesiyle alakalı olduğu düşünülmektedir.

4.5.5 Heme demir miktarı

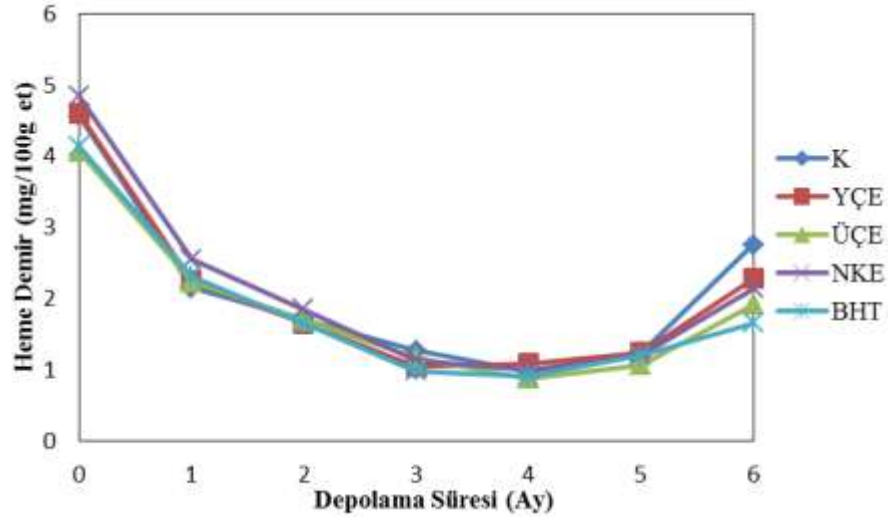
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen heme demir miktarları, mg/100g et olarak çizelge 4.43’de ve şekil 4.33’de görülmektedir.

Çizelge 4.43 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	4.57±0.01 ^{Ba}	4.61±0.15 ^{Ba}	4.07±0.01 ^{Ca}	4.85±0.16 ^{Aa}	4.14±0.13 ^{Ca}	4.45±0.33
1	2.15±0.01 ^{Bc}	2.24±0.19 ^{Bb}	2.24±0.08 ^{Bb}	2.55±0.03 ^{Ab}	2.31±0.08 ^{Bb}	2.30±0.16
2	1.96±0.04 ^{Ad}	1.18±0.01 ^{BCc}	1.95±0.01 ^{Ac}	1.34±0.07 ^{Bd}	1.07±0.03 ^{Cde}	1.50±0.40
3	1.27±0.00 ^{Ae}	1.05±0.00 ^{Bc}	1.17±0.05 ^{ABd}	1.14±0.03 ^{ABef}	0.99±0.01 ^{Be}	1.12±0.11
4	0.98±0.01 ^{ABf}	1.08±0.00 ^{Ac}	0.88±0.04 ^{Be}	1.00±0.00 ^{ABf}	0.91±0.01 ^{ABe}	0.97±0.08
5	1.25±0.04 ^{Ae}	1.24±0.03 ^{Ab}	1.07±0.09 ^{Ade}	1.21±0.06 ^{Ade}	1.20±0.09 ^{Ad}	1.19±0.08
6	2.75±0.05 ^{Ab}	2.28±0.02 ^{Bb}	1.91±0.01 ^{Cc}	2.14±0.06 ^{Bc}	1.65±0.03 ^{Dc}	2.15±0.39
Ort.	2.14±1.19	1.95±1.24	1.90±1.04	2.03±1.32	1.75±1.12	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-f) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.33 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının heme demir miktarındaki değişim

Dondurularak depolanan kıyma uskumru örneklerinin heme demir miktarları incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak demir miktarlarında önce bir

azalma, daha sonra ise tekrar bir artış olduğu görülmektedir. Kıyma uskumruda depolama başlangıcında demir miktarı ortalama 4.45 mg, 6 ay sonra ise ortalama 2.15 mg bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının da balıkların heme demir miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların heme demir miktarının (2.14 mg) diğer gruplardan yüksek, BHT ile muamele edilen balıkların (1.75 mg) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumrularında heme demir miktarı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Dondurularak depolanan kıyma uskumru örneklerde depolama süresinin ilk 5 ayında heme demir içeriğinin önemli düzeyde azaldığı, 6. ayda ise tekrar artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin başında 4.07-4.85 mg olarak belirlenen heme demir içerikleri 6. ayın sonunda 1.65-2.75 mg düzeyine düşmüştür. Donmuş depolamanın başlangıcında NKE (4.85 mg) içeren grubun heme demir miktarı diğer gruplara göre yüksek, BHT uygulanan grubun ise (4.14 mg) düşüktür ($P<0.01$). Yapılan depolama sonrasında ise K (2.75 mg) balıkların heme demir içeriklerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu ve BHT (1.65 mg) içeren balıkların ise en düşük heme demir içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak, porfirin halkasında değişimler olduğunu ve bu değişimlere bağlı olarak heme demir miktarının azaldığını göstermektedir.

4.5.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen TVB-N miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.44’de ve şekil 4.34’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak uskumru kıymalarının TVB-N miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 16.56 mg düzeyinde olan TVB-N miktarı 6 ay depolama sonrasında 30.89 mg düzeyine yükselmiştir. Antioksidan uygulamasının kıyma örneklerin TVB-N miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan örneklerin TVB-N

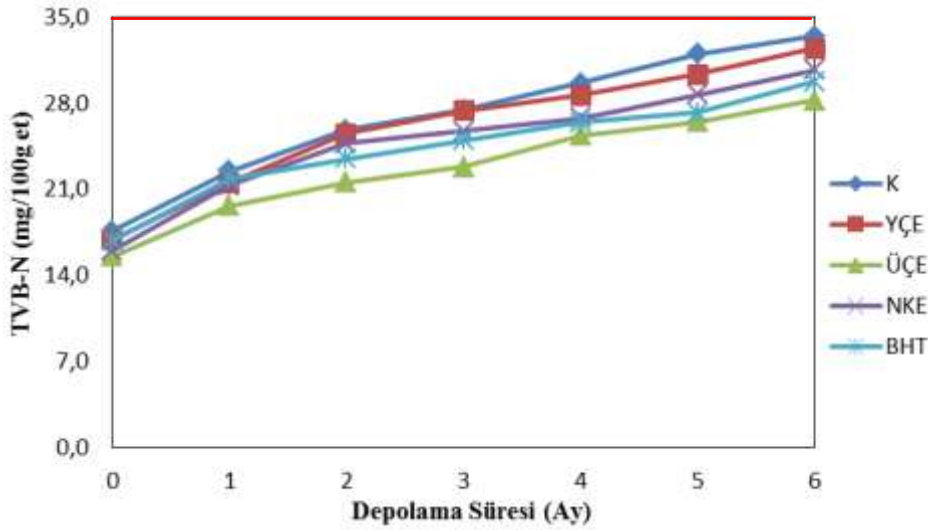
miktarının (26.89 mg) diğer gruplardan yüksek, ÜÇE ile muamele edilen örneklerin (22.79 mg) ise en düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.44 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam volatıl baz nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	17.57±0.20 ^{Ag}	16.86±0.11 ^{Ag}	15.52±0.21 ^{Bg}	16.00±0.26 ^{Bg}	16.84±0.62 ^{Ag}	16.56±0.80
1	22.43±0.25 ^{Af}	21.52±0.21 ^{Bf}	19.64±0.37 ^{Cf}	21.29±0.11 ^{Bf}	21.84±0.08 ^{ABf}	21.34±1.00
2	25.80±0.28 ^{Ae}	25.51±0.41 ^{Ae}	21.57±0.53 ^{De}	24.72±0.27 ^{Be}	23.43±0.55 ^{Ce}	24.20±1.67
3	27.41±0.06 ^{Ad}	27.34±0.10 ^{Ad}	22.80±0.02 ^{Cd}	25.69±0.20 ^{Bd}	24.94±0.00 ^{Bd}	25.64±1.80
4	29.61±0.18 ^{Ac}	28.63±0.38 ^{Bc}	25.34±0.14 ^{Dc}	26.77±0.09 ^{Cc}	26.39±0.05 ^{Cc}	27.35±1.65
5	31.98±0.02 ^{Ab}	30.31±0.28 ^{Bb}	26.47±0.28 ^{Db}	28.66±0.44 ^{Cb}	27.22±0.11 ^{Db}	28.93±2.13
6	33.43±0.23 ^{Aa}	32.44±0.60 ^{Ba}	28.22±0.04 ^{Ea}	30.68±0.16 ^{Ca}	29.70±0.04 ^{Da}	30.89±1.98
Ort.	26.89±5.33	26.09±5.16	22.79±4.19	24.83±4.71	24.33±4.03	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.34 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam volatıl baz nitrojeni miktarındaki değişim

Dondurularak depolanan kıyma uskumrularda TVB-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 3). Uzayan depolama süresine bağlı olarak örneklerin TVB-N miktarında artış olduğu görülmektedir. Başlangıçta 15.52-17.57 mg arasında değişen TVB-N miktarı, kıyma örneklerde depolamanın sonunda 29.70-33.43 mg düzeyine

ulaşmıştır. Antioksidan uygulamasının depolama süresinin başında bile etkili olduğu, ÜÇE (15.52 mg) ve NKE (16.00 mg) uygulanan balıkların diğerlerine göre daha düşük TVB-N miktarına sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresince ÜÇE uygulanan örneklerin TVB-N miktarlarının diğer uygulamalardan düşük olduğu ortaya konmuştur ($P<0.01$). Donmuş depolama sonunda ise K (33.43 mg) örneklerin en yüksek TVB-N miktarına sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (32.44 mg), NKE (30.68 mg), BHT (29.70 mg) ve ÜÇE (28.22 mg) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ($P<0.01$).

Genellikle TVB-N miktarı 100 g ette 35-40 mg düzeylerine ulaştığında balığın bozulduğu kabul edilmektedir. Diğer yandan bazı araştırmacılar bu limiti 35 mg/100 g et olarak bildirmektedirler (Fagan vd. 2003). Yapmış olduğumuz çalışmada, donmuş depolama esnasında bu sınırın aşılmadığı, 6 aylık depolama sonrasında balıkların toplam volatile baz nitrojeni miktarı açısından tüketime uygun olduğu belirlenmiştir.

4.5.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen TMA-N miktarları çizelge 4.45’ de ve şekil 4.35’ de görülmektedir.

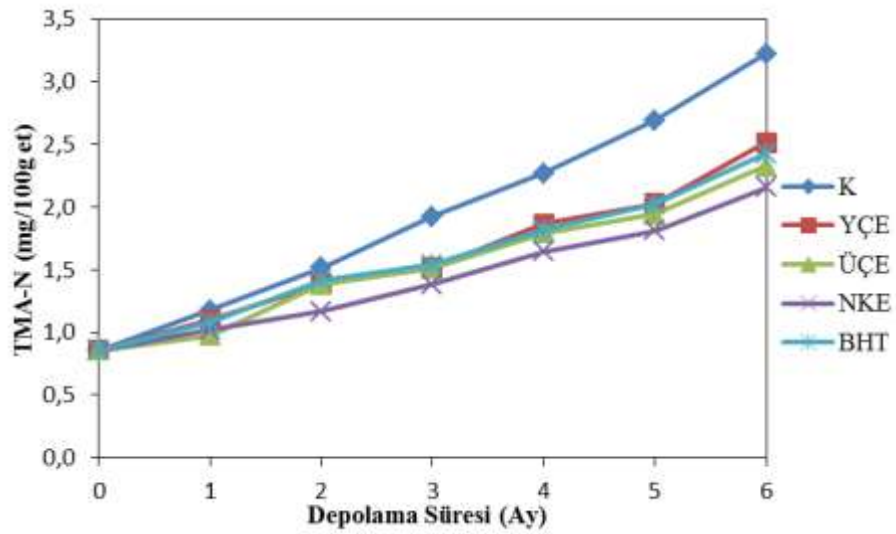
Çizelge 4.45 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	0.86±0.07 ^{Ag}	0.86±0.07 ^{Ag}	0.86±0.07 ^{Ag}	0.86±0.07 ^{Ag}	0.86±0.07 ^{Ag}	0.86±0.05
1	1.18±0.03 ^{Af}	1.10±0.03 ^{ABf}	0.97±0.05 ^{Cf}	1.02±0.06 ^{BCf}	1.08±0.09 ^{ABCf}	1.07±0.08
2	1.52±0.02 ^{Ae}	1.39±0.00 ^{Be}	1.38±0.00 ^{Be}	1.16±0.02 ^{Ce}	1.42±0.03 ^{ABe}	1.37±0.12
3	1.93±0.03 ^{Ad}	1.52±0.02 ^{Bd}	1.51±0.01 ^{Bd}	1.38±0.02 ^{Cd}	1.54±0.01 ^{Bd}	1.57±0.19
4	2.27±0.02 ^{Ac}	1.87±0.00 ^{Bc}	1.79±0.02 ^{Bc}	1.65±0.01 ^{Cc}	1.82±0.00 ^{Bc}	1.88±0.22
5	2.69±0.04 ^{Ab}	2.03±0.02 ^{Bb}	1.95±0.02 ^{Bb}	1.81±0.01 ^{Cb}	2.02±0.03 ^{Bb}	2.10±0.32
6	3.22±0.00 ^{Aa}	2.51±0.00 ^{Ba}	2.33±0.01 ^{Ca}	2.15±0.02 ^{Da}	2.43±0.03 ^{BCa}	2.53±0.39
Ort.	1.95±0.81	1.61±0.55	1.54±0.51	1.43±0.45	1.59±0.52	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak balıkların TMA-N miktarlarının arttığı ve uygulamalar arasında ise farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 0.86 mg düzeyinde olan TMA-N miktarının yapılan 6 aylık donmuş depolama sonrasında 2.53 mg'a ulaşmıştır ($P<0.01$). Depolama süresince K örneklerin TMA-N miktarlarının diğer örneklerden fazla, NKE uygulanan balıkların ise az olduğu çizelge 4.45'de görülmektedir.



Şekil 4.35 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim

Dondurularak depolanan kıyma uskumrularda TMA-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Kıyma örneklerde depolama süresinin başında 0.86 mg olan TMA-N miktarı, depolama süresi sonunda 2.15-3.22 mg düzeyine artmıştır. Depolama süresinin başında örnekler arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$), uzayan depolama süresince antioksidanların etkinliklerini göstererek TMA-N oluşumunu sınırlandırdıkları tespit edilmiştir. NKE uygulamasının depolamanın 3. ayından itibaren diğerlerine göre daha etkili olduğu çizelge 4.45' de görülmektedir. 6. ay sonunda belirlenen TMA-N miktarına göre, K grubuna ait balıkların (3.22 mg) en yüksek TMA-N miktarına sahip olduğu, bu grubu sırasıyla YÇE (2.51 mg), BHT (2.44 mg), ÜÇE (2.33 mg) ve NKE (2.15 mg) içeren örneklerin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, depolama ile artan TMA-N miktarının NKE ilavesi ile

sınırlandırılabilceğini göstermektedir. TMA-N değerine göre kalite sınıflandırılması dikkate alınacak olursa, yapılan tüm uygulamalarda depolama süresince TMA-N değerinin 4 mg/100g TMA-N'dan az olduğu, balıkların TMA-N açısından iyi durumda oldukları belirlenmiştir.

4.5.8 Duyusal değerlendirme

Hazırlanan kıyma uskumrular donmuş depolama süresince çiğ olarak duyusal analize tabi tutulmuş, duyusal analizde örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Koku özelliği; taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden değerlendirilmiştir. Kıyma halde dondurularak depolanan balıkların duyusal analiz sonuçları izelge 4.46'da verilmiştir. Kıyma halde dondurularak depolanan uskumrulara depolama süresince duyusal puanlarda meydana gelen değişimler ise şekil 4.36'da görülmektedir.

Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden aldıkları puanlar azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise antioksidan ilavesiz K grubuna ait balıkların taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu açısından diğer gruplardan daha düşük; kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu yönünden ise daha yüksek duyusal puanlar aldığı görülmektedir. Ransit, yağsı ve boya kokusu özellikleri açısından BHT uygulanan balıkların diğer uygulamalardan daha yüksek puanlar aldığı belirlenmiştir. Depolama süresince belirlenen taze balık kokusu özelliği açısından NKE uygulanan örneklerin diğer uygulamalardan daha yüksek puana sahip olduğu belirlenmiştir.

Farklı antioksidan kaynakları ile muamele edilen dondurulmuş uskumru kıymalarının duyusal puanlarına depolama süresi ve uygulamanın etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 izelge 3). Taze balık kokusu açısından verilen puanlar incelendiğinde, E'lı ve BHT'li örnekler arasında farklılık olmadığı ($P>0.01$) görülmektedir. Yağsı koku özelliği açısından NKE'lı ve BHT'li örnekler ile NKE'lı ve E'lı örnekler arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.01$). Boya kokusu yönünden, NKE'lı ve

BHT'li örnekler arasında herhangi bir farklılık olmadığı da tespit edilmiştir ($P>0.01$). Kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu açısından ise antioksidan ilave edilmeyen uskumruların daha yüksek puanlar aldığı belirlenmiştir ($P<0.01$).

Çizelge 4.46 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının duyu analizi sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

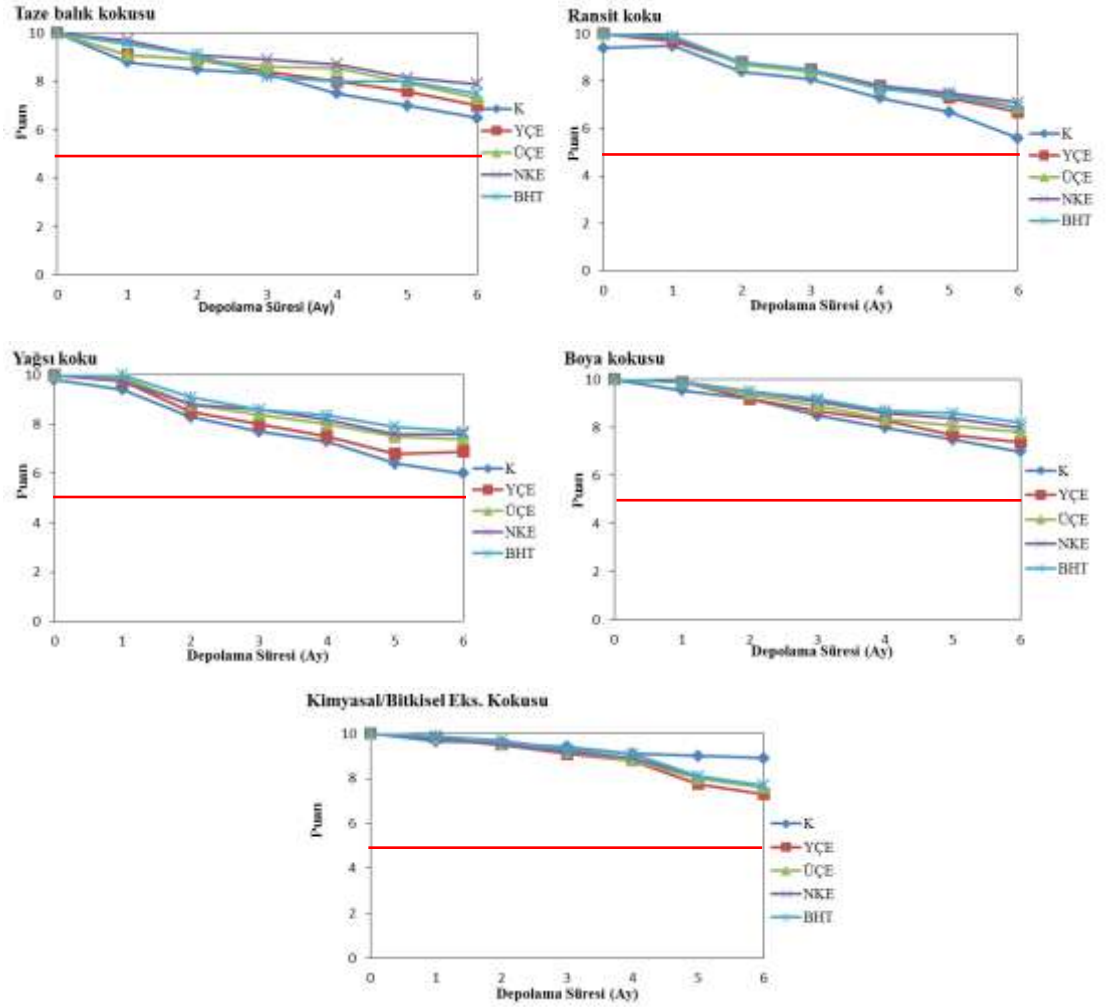
	Uyg.	Süre (ay)							
		0	1	2	3	4	5	6	Ort
Taze Balık Kokusu	K	10.0	8.8	8.5	8.3	7.5	7.0	6.5	8.1 ^C
	YÇE	10.0	9.1	8.9	8.4	7.5	7.6	7.0	8.4 ^{BC}
	ÜÇE	10.0	9.1	8.9	8.6	8.6	8.0	7.3	8.6 ^B
	NKE	10.0	9.7	9.1	8.9	8.7	8.2	7.9	8.9 ^A
	BHT	10.0	9.6	9.1	8.2	8.0	8.0	7.5	8.6 ^B
	Ort	10.0 ^a	9.3 ^b	8.9 ^c	8.5 ^d	8.0 ^e	7.7 ^e	7.2 ^f	
Ransit Koku	K	9.4	9.5	8.4	8.1	7.3	6.7	5.6	7.9 ^B
	YÇE	10.0	9.7	8.8	8.5	7.8	7.3	6.7	8.4 ^A
	ÜÇE	10.0	9.9	8.7	8.4	7.7	7.5	6.9	8.4 ^A
	NKE	10.0	9.8	8.8	8.5	7.8	7.5	7.1	8.5 ^A
	BHT	10.0	9.9	8.8	8.5	7.7	7.4	6.9	8.5 ^A
	Ort	9.9 ^a	9.8 ^a	8.7 ^b	8.4 ^c	7.7 ^d	7.3 ^e	6.6 ^f	
Yağsı Koku	K	9.8 ^{Aa}	9.4 ^{Ba}	8.3 ^{Cb}	7.7 ^{Cc}	7.3 ^{Bc}	6.4 ^{Bd}	6.0 ^{Cd}	7.8 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{ABa}	8.5 ^{BCb}	8.0 ^{BCc}	7.5 ^{Bd}	6.8 ^{Be}	6.9 ^{Be}	8.2 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Ab}	8.8 ^{ABb}	8.4 ^{ABbc}	8.0 ^{Ac}	7.5 ^{Ad}	7.4 ^{Ad}	8.6 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{ABa}	8.8 ^{ABb}	8.6 ^{Abc}	8.2 ^{Ac}	7.6 ^{Ad}	7.6 ^{Ad}	8.7 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	10.0 ^{Aa}	9.1 ^{Ab}	8.6 ^{Ac}	8.4 ^{Ac}	7.9 ^{Ad}	7.7 ^{Ad}	8.8 ^A
	Ort	10.0 ^a	9.8 ^b	8.7 ^c	8.3 ^d	7.9 ^e	7.2 ^f	7.1 ^f	
Boya Kokusu	K	10.0 ^{Aa}	9.6 ^{Bb}	9.2 ^{Ac}	8.5 ^{Cd}	8.0 ^{Ce}	7.5 ^{Cf}	7.0 ^{Dg}	8.5 ^D
	YÇE	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aa}	9.2 ^{Ab}	8.7 ^{BCc}	8.3 ^{BCd}	7.7 ^{Ce}	7.4 ^{Ce}	8.7 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aa}	9.4 ^{Ab}	8.9 ^{ABc}	8.4 ^{Bd}	8.1 ^{Bde}	7.8 ^{Be}	8.9 ^B
	NKE	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aa}	9.5 ^{Ab}	9.1 ^{Ac}	8.6 ^{ABd}	8.4 ^{ABd}	8.0 ^{ABe}	9.1 ^A
	BHT	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aa}	9.5 ^{Ab}	9.2 ^{Ab}	8.7 ^{Ac}	8.6 ^{Ac}	8.2 ^{Ad}	9.2 ^A
	Ort	10.0 ^a	9.8 ^b	9.4 ^c	8.9 ^d	8.4 ^e	8.1 ^f	7.7 ^g	
Kimyasal/Bitkisel Ekstrakt Kokusu	K	10.0 ^{Aa}	9.7 ^{Aab}	9.6 ^{Aab}	9.4 ^{Abc}	9.1 ^{Ac}	9.0 ^{Ac}	8.9 ^{Ad}	9.4 ^A
	YÇE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{Aab}	9.5 ^{Abc}	9.1 ^{Ac}	8.8 ^{Ad}	7.8 ^{Be}	7.3 ^{Bf}	8.9 ^C
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{Aab}	9.5 ^{Abc}	9.2 ^{Ac}	8.8 ^{Ad}	8.0 ^{Be}	7.6 ^{Be}	8.9 ^{BC}
	NKE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{Aab}	9.5 ^{Abc}	9.2 ^{Ac}	8.9 ^{Ad}	8.1 ^{Be}	7.7 ^{Be}	9.0 ^{BC}
	BHT	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aab}	9.7 ^{Aab}	9.3 ^{Abc}	9.1 ^{Ac}	8.1 ^{Bd}	7.7 ^{Bd}	9.1 ^B
	Ort	10.0 ^a	9.8 ^b	9.6 ^c	9.2 ^d	8.9 ^e	8.2 ^f	7.8 ^g	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (a-e) ve her bir sütunda (A-D) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Dondurularak depolanan kıyma uskumrularında yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusunda meydana gelen değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama etkileşimini önemlidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Depolama süresince taze balık kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda taze balık kokusunun algılandığı ve

gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan taze balık kokusu azalmıştır. Donmuş depolamanın 6. ayında ise taze balık kokusu açısından NKE uygulanan kıyma örneklerin en yüksek puanı aldığı görülmektedir ($P<0.01$).



Şekil 4.36 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının duyusal puanlarındaki değişim

Depolama süresince ransit koku yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda ransit kokunun algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan ransit koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolamanın 6. ayında K balıklarda belirlenen ransit koku puanları diğer uygulamalardan düşük; NKE uygulanan

balıklarda ise yüksektir.

Depolama başlangıcında yağsı koku hiç algılanmadığından tüm gruplara verilen puan ortalamaları 9.80-10.00 arasında değişmiştir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan yağsı koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolama süresince yağsı kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, antioksidan uygulanmayan K balıklarının depolamanın 6. ayında diğer uygulamalardan düşük olduğu ($P<0.01$), ÜÇE, NKE ve BHT içeren örnekler arasında ise farklılık olmadığı ($P>0.01$) belirlenmiştir.

Oksidasyonun düzeyini belirlemek üzere boya kokusu yönünden değerlendirme yapılmıştır. Depolama başlangıcında boya kokusu, yapılan hiçbir uygulamada algılanmamıştır. İlerleyen depolama süresine ve artan oksidatif reaksiyonlara bağlı olarak boya kokusunun arttığı belirlenmiştir. Depolama süresince boya kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, antioksidan uygulanmayan K örneklerin depolamanın 6. ayında aldığı puanların diğer uygulamalardan düşük olduğu belirlenmiştir. Depolama sonunda ÜÇE'li ve NKE'li örnekler ile NKE'li ve BHT'li örnekler arasında boya kokusu açısından farklılık olmadığı ve K grubundan yüksek puanlar aldıkları belirlenmiştir ($P<0.01$).

Depolama başlangıcında antioksidan uygulanmayan uskumrulara kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu algılanmamış, ancak antioksidan ilave edilen gruplarda kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu hissedilmiştir. Depolama süresine bağlı olarak kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusunda çok az değişim meydana gelmiş olup, depolamanın 6. ayında K grubunun en yüksek puanı almış olduğu saptanmıştır. 6 ay sonunda panelistlerin kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu açısından YÇE, ÜÇE, NKE ve BHT uygulanan kıymalarda benzer kokuları algıladıkları da tespit edilmiştir.

Dondurularak depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, taze balık, ransit, yağsı ve

boya koku özelliklerine kontrol grubu balıklara daha düşük puanlar verildiği belirlenmiştir. Bu durum antioksidan ilavesinin balıkların koku özellikleri üzerine etkili olması ve istenmeyen kokunun oluşumunu engellemesi ile açıklanabilir.

4.5.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi

4.5.9.1 Peroksit değeri (PD)

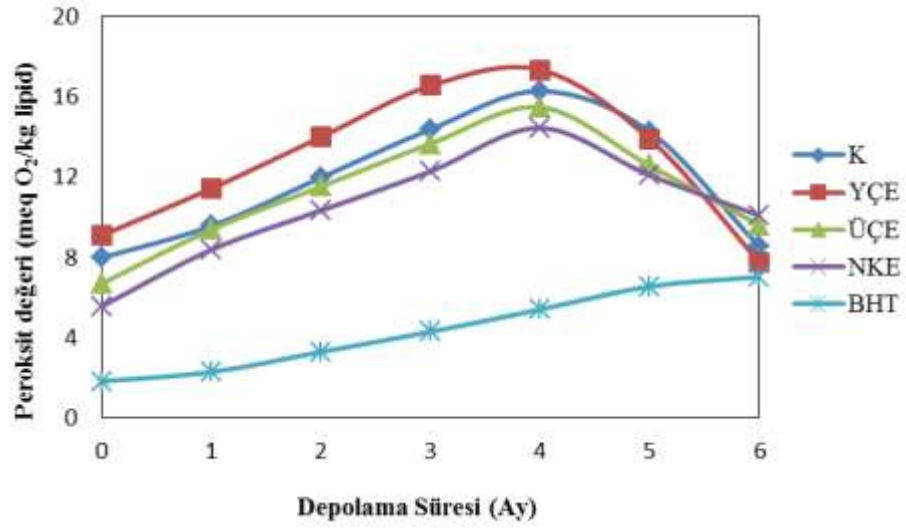
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen PD, meq O₂/kg lipid olarak çizelge 4.47’ de ve şekil 4.37’ de görülmektedir. K, YÇE, ÜÇE ve NKE uygulanan uskumru kıymalarının PD’lerinin depolamanın 4. ayına kadar arttığı, daha sonra azaldığı tespit edilmiştir. BHT uygulanan uskumru kıymalarında ise PD depolama süresince artış göstermiştir. Depolama süresinin başlangıcında 6.23 meq olarak belirlenen PD, 4. ayda 13.79 meq düzeyine ulaşmış, 6. ayda ise 8.60 meq düzeyine azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, BHT uygulanan uskumru kıymalarının PD’lerinin düşük (4.54 meq), YÇE içeren balıkların PD’lerinin yüksek (13.06 meq) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.47 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının peroksit değerine (meq O₂/kg lipid) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	7.98±0.40 ^{Be}	9.10±0.20 ^{Ae}	6.69±0.37 ^{Cf}	5.56±0.37 ^{Df}	1.83±0.19 ^{Ed}	6.23±2.65
1	9.56±0.18 ^{Bd}	11.43±0.23 ^{Af}	9.38±0.25 ^{Be}	8.38±0.40 ^{Ce}	2.29±0.34 ^{Dd}	8.21±3.30
2	12.58±0.17 ^{Bc}	15.38±0.09 ^{Ac}	11.49±0.30 ^{Cd}	11.21±0.08 ^{Cc}	4.41±0.26 ^{Dc}	11.02±3.82
3	14.38±0.21 ^{Bb}	16.55±0.10 ^{Ab}	13.66±0.32 ^{Bb}	12.28±0.09 ^{Cb}	4.29±0.01 ^{Dc}	12.23±4.43
4	16.28±0.04 ^{Ba}	17.34±0.05 ^{Aa}	15.48±0.16 ^{Ca}	14.43±0.32 ^{Da}	5.40±0.03 ^{Eb}	13.79±4.53
5	14.25±0.02 ^{Ab}	13.89±0.12 ^{Ad}	12.57±0.56 ^{Bc}	12.08±0.06 ^{Bb}	6.55±0.25 ^{Ca}	11.87±2.94
6	8.51±0.12 ^{Be}	7.76±0.03 ^{Cg}	9.60±0.13 ^{Ae}	10.09±0.47 ^{Ad}	7.03±0.70 ^{Ca}	8.60±1.23
Ort.	11.94±3.13	13.06±3.58	11.27±2.85	10.58±2.80	4.54±1.92	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.37 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının peroksit değerindeki değişim

Dondurularak depolanan uskumru kıymasının peroksit değerlerindeki değişimlere depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). K, YÇE, ÜÇE ve NKE uygulanan uskumru kıymalarının PD'lerinin depolamanın 4. ayına kadar arttığı, daha sonra tekrar azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum K, YÇE, ÜÇE ve NKE uygulanan örneklerde oksidasyonun oldukça ilerlediğini, birincil oksidasyon ürünlerinin depolamanın 4. ayından sonra parçalanarak ikincil oksidasyon ürünlerine dönüştüğünü göstermektedir. BHT uygulanan uskumru kıymalarında ise PD depolama süresince artış göstermiştir. Bu durum, BHT uygulamasının lipidlerde oksidasyonu yavaşlattığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar peroksit oluşumunu azaltmada BHT'nin diğer uygulamalardan daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Birincil oksidasyon ürünlerinin düzeylerindeki azalma, hidroperoksitlerin ikincil lipid peroksidasyon ürünleri oluşturarak bozulmaları ile açıklanabilir.

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2005) tarafından yapılan çalışmada uzayan depolama süresine bağlı olarak sardalya kıymasının PD'nin arttığı tespit edilmiştir. PD'nin depolama süresinin başında yüksek olması, sardalyanın yapısında bulunan fazla miktardaki çoklu doymamış yağ asidi ve kıyma çekme işleminin oksidasyon üzerine etkisi ile açıklanmıştır. Kıyma çekme işlemi etin oksijenle temas eden yüzey alanının artmasına,

kas membran sisteminin zarar görmesine neden olarak lipid oksidasyonunu hızlandırmaktadır.

4.5.9.2 Tiyoarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) değeri

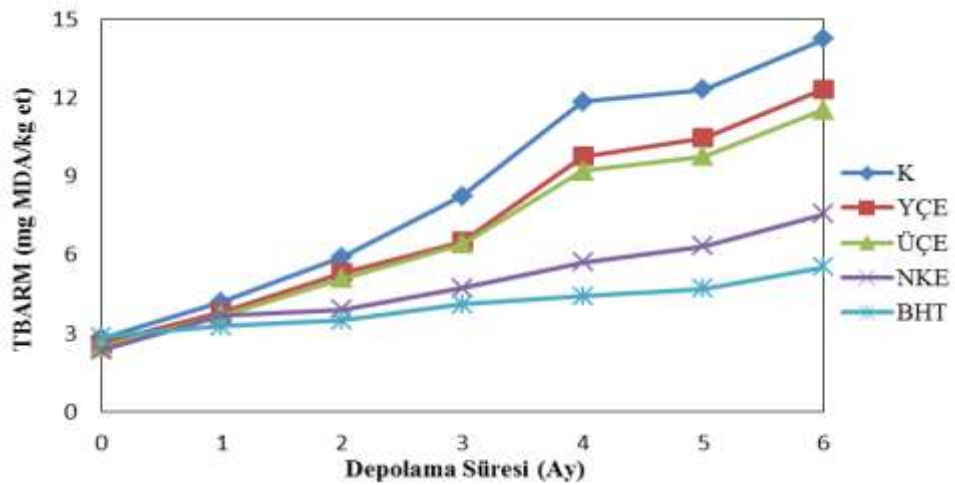
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen TBARM, mg MDA/kg et olarak çizelge 4.48’de ve şekil 4.38’de görülmektedir.

Çizelge 4.48 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının tiyoarbitürik asit reaktif maddesi miktarına (mg MDA/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	2.80±0.71 ^{Af}	2.60±0.01 ^{Af}	2.48±0.07 ^{Af}	2.34±0.02 ^{Ae}	2.88±0.08 ^{Ad}	2.62±0.32
1	4.19±0.20 ^{Ae}	3.80±0.04 ^{ABe}	3.68±0.11 ^{ABe}	3.69±0.36 ^{ABd}	3.26±0.10 ^{Bd}	3.72±0.35
2	5.90±1.06 ^{Ad}	5.31±0.09 ^{Ad}	5.09±0.05 ^{Ad}	3.92±0.14 ^{Bd}	3.49±0.06 ^{Bcd}	4.74±1.01
3	8.25±0.07 ^{Ac}	6.50±0.08 ^{Bc}	6.41±0.38 ^{Bc}	4.71±0.06 ^{Cc}	4.11±0.06 ^{Cbc}	6.00±1.55
4	11.84±0.54 ^{Ab}	9.76±0.07 ^{Bb}	9.20±0.03 ^{Bb}	5.72±0.18 ^{Cb}	4.41±0.13 ^{Db}	8.19±2.88
5	12.31±0.24 ^{Ab}	10.46±0.04 ^{Bb}	9.77±0.09 ^{Bb}	6.32±0.27 ^{Cb}	4.70±0.11 ^{Db}	8.71±2.94
6	14.25±0.24 ^{Aa}	12.34±0.14 ^{Ba}	11.53±0.46 ^{Ca}	7.57±0.26 ^{Da}	5.53±0.06 ^{Ea}	10.24±3.39
Ort.	8.50±4.26	7.25±3.52	6.88±3.25	4.90±1.71	4.06±0.88	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-f) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.38 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının tiyoarbitürik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim

Uzayan depolama süresine bağılı olarak TBARM'nin arttığı, başlangıçta 2.62 mg olan TBARM'nin donmuş depolamanın 6. ayında 10.24 mg düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde antioksidan uygulamasının TBARM üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama TBARM miktarının oluşturulan diğer gruplardan çok daha yüksek olduğu çizelge 4.48'de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT'nin daha etili olduğu, bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumruların TBARM değerindeki değişimlere depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Kıyma halde dondurularak depolanan balık etinde depolama süresine bağılı olarak TBARM miktarları artmıştır ($P<0.01$). Başlangıçta 2.34-2.88 mg arasında değişen TBARM miktarları depolama süresi sonunda 5.53-14.25 mg düzeyine yükselmiştir. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında istatistiki olarak bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). 1. ay sonunda elde edilen verilere göre BHT uygulamasının TBARM oluşumunu sınırlandırdığı tespit edilmiştir. NKE ise depolamanın 2. ayından itibaren etkili olmuştur. 4. ve 5. aylarda BHT'li örneklerin diğer uygulamalardan düşük, doğal antioksidan kaynakları arasında ise NKE'li örneklerin daha düşük TBARM miktarına sahip oldukları belirlenmiştir. Depolamanın sonunda, BHT'li örneklerin (5.53 mg) TBARM değerlerinin diğerlerine kıyasla daha düşük olduğu, bu grubu sırasıyla NKE (7.57 mg), ÜÇE (11.53 mg), YÇE (12.34 mg) içeren grupların izlediği ve en yüksek TBARM miktarına K örneklerinin (14.25 mg) sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$).

Schormuller (1969), 7-8 mg MDA/kg düzeyindeki TBA değerinin kabul edilebilir tazelik limitinin üst sınırı olduğunu bildirmiştir. Bu sınırı K örnekleri 2. aydan sonra, YÇe ve ÜÇE'li örnekler 3. aydan sonra aşmışlardır. NKE ve BHT uygulanan balıklarda ise 6 aylık epolama süresince bu sınır aşılmamıştır.

Tang vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada, çay kateşinleri ile beslenen tavuklardan

elde edilen göğüs ve but etlerinin kontrol örneklerine kıyasla çok daha düşük TBARM değerlerine sahip oldukları gösterilmiştir. Beslenme programına 200 ppm düzeyinde ilave edilen çay kateşinlerinin soğukta ve dondurulmuş olarak depolanan tavuk etlerinde α -tokoferol asetat ile aynı etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Tang vd. 2002). Dondurulmuş olarak depolanan istavrit balıklarının ve filetolarının lipid stabilitesi üzerine sitrik asit ve askorbik asit uygulamalarının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, TBA değerinin depolama süresine bağlı olarak arttığı; başlangıçta 0.07 mg malondialdehit/kg olan TBA değerinin -20°C’ de 6 ay süre ile yapılan donmuş depolama sonrasında 0.45-0.96 mg MDA/kg düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir. Balık örneklerinin başlangıçta 0.09 mg MDA/kg olan TBA değerinin -20°C’de 9 ay süre ile yapılan donmuş depolama sonrasında 0.37-0.49 MDA/kg düzeyine yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışma ile sitrik asit ve askorbik asitin oksidasyonu önlemede etkili birer kaynak oldukları, özellikle %0.5 düzeyinde sitrik asit uygulamasının diğerlerine göre lipid stabilitesi açısından daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Aubourg vd. 2004). Serdaroğlu ve Felekoğlu (2005), sardalya kıymasının TBA değerinin depolama süresinin başlangıcında 0.95-1.26 mg MA/kg olduğunu ve depolama süresine bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada lipid oksidasyonu üzerine biberiye ekstraktı ve soğan suyunun etkileri araştırılmış, -20 °C’ de 5 ay depolama sonrasında en düşük TBA değerine (5.97 mg MA/kg et) biberiye ekstraktı kullanılan sardalyaların sahip olduğunu tespit edilmiştir. Sanchez-Alonso vd. (2008), donmuş depolamanın başında beyaz üzüm lifi ile muamele edilen ve edilmeyen istavrit balığının TBA değeri açısından farklılık olmadığını, ancak uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların TBA değerlerinin yükseldiğini ve depolamanın 150. gününde kontrol örneklerinin en yüksek TBA düzeyine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sanchez-Alonso ve Borderias (2008) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kıyma istavrit kaslarına ilave edilen üzüm lifinin lipid oksidasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Depolama süresinin ilerlemesine bağlı olarak TBA değerlerinin arttığı, kontrol örneklerinin TBA değerinin depolama süresince üzüm lifi ilave edilen örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. %2 ve %4 oranlarında ilave edilen üzüm lifinin depolama süresince etkinliklerinin birbirlerinden oldukça farklı olduğu da gözlenmiştir. Bu durum, örneklerin peroksit dekompozisyonlarının farklı düzeylerde olmasına, karbonil oluşum hızındaki farklılığa, peroksitlerin kasta bulunan nükleofilik

moleküller (serbest amino asitler, peptidler, proteinler, aminlenmiş fosfolipidler, vb.) ile interaksiyonlarına bağlı olmasıyla açıklanmıştır. Yapılan bu araştırmada -20°C’de üzüm lifinin antioksidan etkinliğinin 180 gün olduğu da belirlenmiştir (Sanchez-Alonso ve Borderias 2008). Alghazeer vd. (2008), 26 hafta süre ile -10 ve -80°C’de depolanan yeşil çay antioksidanlarını içeren ve içermeyen Atlantik uskumruda TBARM düzeylerinin depolama süresince tüm gruplarda arttığını, 10 haftalık depolama sonrasında ise azaldığını belirlemişlerdir. Bu durumun TBARM ile proteinler arasındaki çapraz bağlanmadan kaynaklandığı düşünülmektedir (Saeed vd. 1999, Alghazeer vd. 2008). Dondurularak depolanan palamut filetolarında yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, depolama süresince TBA değerinin arttığı, antioksidan ilave edilmeyen grupta bu artışın diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Yerlikaya ve Gökoğlu 2010). Ayrıca yapılan bu çalışma ile yeşil çay ekstraktı ve üzüm çekirdeği ekstraktı arasında TBA değeri açısından farklılık olmadığı da tespit edilmiştir ($P>0.01$) (Yerlikaya ve Gökoğlu 2010).

Yapılan çalışmalarda, belirlenen TBA değerlerinin etin çeşidine ve yağ asidi kompozisyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Bu nedenle tek başına TBA değeri verilerek kalite değişimlerinin incelenmesi doğru bir yaklaşım değildir. TBA analizi sonucunun diğer oksidasyon parametreleri ile desteklenmesi gerekir. Lipid oksidasyonunun ikincil reaksiyon ürünlerinin, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak parçalanabildiği ya da diğer bileşenlerle reaksiyona girebildiği bilinmektedir (Aubourg ve Medina 1999). Benzer şekilde tiyobarbitürik asitin, diğer bazı gıda bileşenleri ile reaksiyona girerek aynı renge (pembe) sahip bileşikler oluşturabileceği de unutulmamalıdır (Kanner ve Rosenthal 1992).

Genel olarak; yapılan pekçok çalışma, farklı yöntemlerle uygulanan sentetik ya da doğal antioksidanların lipid oksidasyonunun engellenmesinde etkili olduğunu ortaya koymuştur. Antioksidan seçiminde ve kullanımında belirleyici faktör, ekstrakt ya da antioksidan kaynağının uygun şekilde ve konsantrasyonda kullanılmasıdır.

4.5.9.3 para-Anisidin (*p*-Ad) değeri

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen *p*-Ad sonuçları çizelge 4.49’de ve şekil 4.39’da görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak *p*-Ad düzeylerinin arttığı, başlangıçta 3.02 olan *p*-Ad’nin dondurularak depolamanın 6. ayında 76.62 düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının *p*-Ad üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama *p*-Ad’nin oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu çizelge 4.49’da görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT’nin daha etkili olduğu bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.49 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının *p*-Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

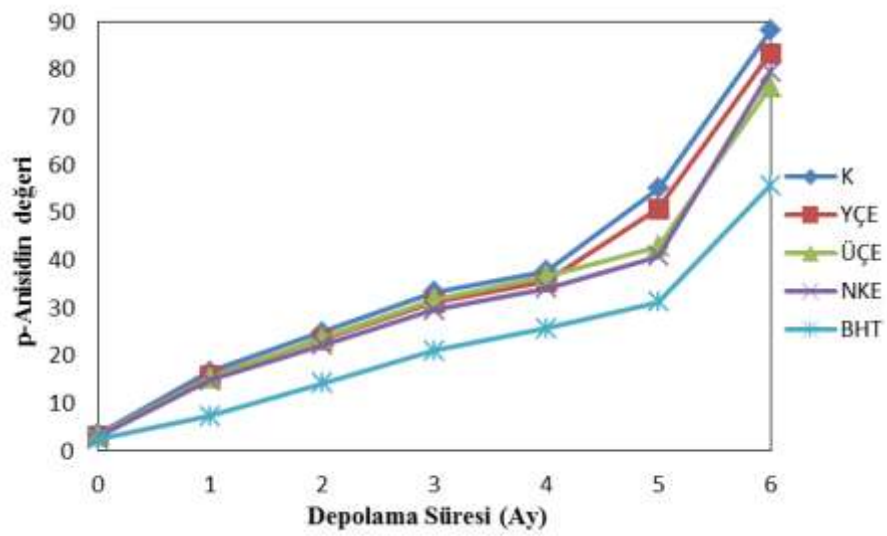
Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	3.53±0.05 ^{Ag}	2.99±0.10 ^{Af}	3.19±0.35 ^{Af}	2.95±0.16 ^{Af}	2.44±0.18 ^{Ag}	3.02±0.40
1	16.58±0.50 ^{Af}	15.70±1.32 ^{Ae}	15.29±1.14 ^{Ae}	14.74±2.44 ^{Ae}	7.32±0.84 ^{Bf}	13.93±3.69
2	27.25±0.11 ^{Ae}	28.40±0.89 ^{Ad}	30.20±0.97 ^{Ad}	26.45±1.30 ^{Ad}	12.26±0.96 ^{Be}	24.91±6.83
3	33.30±0.17 ^{Ad}	31.09±1.65 ^{Ad}	31.80±0.21 ^{Ad}	29.57±0.86 ^{Ad}	21.06±0.56 ^{Bd}	29.36±4.60
4	37.64±0.47 ^{Ac}	35.56±0.56 ^{Ac}	36.66±0.12 ^{Ac}	34.11±0.74 ^{Ac}	25.73±0.48 ^{Bc}	33.94±1.43
5	55.08±0.24 ^{Ab}	50.74±2.15 ^{Bb}	42.92±1.55 ^{Cb}	40.82±3.59 ^{Cb}	31.19±0.75 ^{Db}	44.15±8.87
6	88.15±1.17 ^{Aa}	83.37±1.52 ^{Ba}	76.39±3.10 ^{Ca}	79.48±2.21 ^{Ca}	55.69±2.35 ^{Da}	76.62±11.89
Ort.	37.36±26.57	35.41±24.96	33.78±22.22	32.59±23.29	22.24±17.24	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-B) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının *p*-Ad’ndeki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkilidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 3). Kıyma halde dondurularak depolanan balıklarda depolama süresinin başında oluşturulan gruplar arasında bir farklılık olmadığı (P>0.01) ve *p*-Ad’nin 2.44-3.53 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların *p*-Ad önemli düzeyde artmıştır (P<0.01). Depolamanın 1., 2., 3. ve 4. aylarında BHT’li örneklerin daha düşük *p*-Ad sahip olduğu (P<0.01), K, YÇE, ÜÇE ve NKE uygulamaları arasında ise farklılık olmadığı (P>0.01) belirlenmiştir. Depolamanın 5.

ayında K örneklerinin en yüksek, BHT'li örneklerin en düşük *p*-Ad sahip oldukları tespit edilmiştir ($P<0.01$). 6 aylık depolama sonunda ulaşılan *p*-Ad karşılaştırıldığında, K grubu balıkların en yüksek (88.15) *p*-Ad düzeyine sahip olduğu, bu grubu sırasıyla YÇE (83.37), NKE (79.48), ÜÇE (76.39) ve BHT (55.69) içeren örneklerin izlediği görülmektedir. NKE ve ÜÇE içeren kıyma örnekler arasında depolama süresince belirlenen *p*-Ad değerleri açısından istatistiki olarak farklılık olmadığı da belirlenmiştir ($P>0.01$).



Şekil 4.39 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının *p*-anisidin değerindeki değişim

p-Ad, lipid oksidasyonunun birincil ürünlerinin (hidroperoksitler) ikincil oksidasyon ürünlerine (karboniller) dönüşmesiyle artış gösterir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak lipidlerde meydana gelen değişimlerin *p*-Ad'nin artmasına neden olduğu, antioksidan uygulamaları karşılaştırıldığında ise sentetik antioksidan kaynağının diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiştir.

4.5.9.4 Yağ asitleri dağılımı

Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının depolama süresince belirlenen yağ asidi dağılımları sırasıyla çizelge 4.50' de verilmiştir.

Çizelge 4.50 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%)

Yağ asidi	Çıkış zamanı (dakika)	Uygulama	Süre (ay)		
			0	3	6
Miristik asit (C14:0)	4.40	K	2.26	2.58	2.52
		YÇE	2.46	2.51	2.85
		ÜÇE	2.94	2.93	2.99
		NKE	2.07	2.66	2.85
		BHT	2.86	2.89	2.91
Palmitik asit (C16:0)	6.37	K	22.64	25.17	26.56
		YÇE	22.55	25.33	27.09
		ÜÇE	24.98	26.55	26.39
		NKE	23.88	24.71	26.45
		BHT	24.63	25.96	27.67
Palmitoleik asit (C16:1)	6.75	Kontrol	3.77	4.88	4.97
		YÇE	3.88	4.11	4.75
		ÜÇE	3.65	4.53	4.87
		NKE	3.74	4.62	4.83
		BHT	4.13	4.71	4.96
Stearik asit (C18:0)	10.03	K	6.35	6.52	7.01
		YÇE	6.74	7.35	9.13
		ÜÇE	6.37	7.35	9.26
		NKE	6.61	7.54	8.49
		BHT	6.42	6.80	8.24
Oleik asit (C18:1 n-9)	10.77	K	30.25	30.55	30.58
		YÇE	27.39	28.69	31.46
		ÜÇE	25.71	28.40	29.78
		NKE	25.99	28.16	29.72
		BHT	26.70	30.10	30.53
Linoleik asit (C18:2 n-9)	12.16	K	1.04	1.09	1.05
		YÇE	1.09	1.10	1.58
		ÜÇE	1.08	1.11	1.04
		NKE	1.13	1.08	1.18
		BHT	1.06	1.12	1.15
Eikosaenoik asit (C20:1)	18.04	K	1.77	2.19	2.29
		YÇE	1.74	2.26	2.40
		ÜÇE	1.59	2.07	2.41
		NKE	1.74	2.22	2.50
		BHT	1.77	2.14	2.23
Eikosatrienoik asit (C20:3)	23.82	K	1.99	1.95	1.76
		YÇE	1.56	1.60	1.76
		ÜÇE	1.32	1.51	1.79
		NKE	1.31	1.52	2.06
		BHT	1.46	1.53	1.93
Eikosapentaenoik asit (C20:5)	28.75	K	5.23	5.21	4.95
		YÇE	4.87	4.70	3.77
		ÜÇE	4.90	4.39	3.90
		NKE	5.32	4.86	4.14
		BHT	5.06	4.88	4.46
Dokosapentaenoik asit (DPA) (C22:5 n-3)	51.84	K	1.66	1.69	1.67
		YÇE	1.53	1.59	1.65
		ÜÇE	1.36	1.49	1.62
		NKE	1.55	1.54	1.54
		BHT	1.38	1.64	1.79

Çizelge 4.50 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%) (devam)

Dokosahekzaenoik asit (DHA) (C22:6 n-3)	56.52	K	23.05	18.18	16.66
		YÇE	26.18	20.75	13.56
		ÜÇE	26.11	19.67	15.95
		NKE	26.67	21.10	16.26
		BHT	24.54	18.25	14.13
DYA	-	K	31.25	34.27	36.09
		YÇE	31.75	35.19	39.07
		ÜÇE	34.28	36.83	38.64
		NKE	32.57	34.91	37.79
		BHT	33.91	35.65	38.82
TDYA	-	K	35.78	37.62	37.83
		YÇE	33.01	35.07	38.60
		ÜÇE	30.95	35.00	37.06
		NKE	31.47	35.00	37.05
		BHT	32.60	36.95	37.72
ÇDYA	-	K	32.98	28.11	26.08
		YÇE	35.24	29.74	22.33
		ÜÇE	34.77	28.16	24.30
		NKE	35.97	30.10	25.17
		BHT	33.50	37.41	23.45

DYA: Doymuş yağ asitleri toplamı, TDYA: Tekli doymamış yağ asitleri toplamı, ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri toplamı.

Çalışmada, uskumru kıymalarının palmitik asit, oleik asit ve dokosahekzaenoik asiti yüksek oranda içerdiği belirlenmiştir. Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının depolanması süresince miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, eikosaenoik asit ve eikosatrienoik asit miktarları artmış; eikosapentaenoik asit ve dokosahekzaenoik asit miktarı azalmıştır. Linoleik asit ve dokosapentaenoik asit miktarında ise önemli bir değişim olmamıştır. Çoklu doymamışlık gösteren dokosahekzaenoik asit miktarlarındaki azalma diğerlerinden daha fazla olmuştur. Genel olarak dondurularak depolanan uskumru kıymalarının çoklu doymamış yağ asidi miktarlarının azaldığı, tekli doymamış yağ asidi ve doymuş yağ asidi miktarlarının ise arttığı tespit edilmiştir.

Balık eti yapısında bulunan yüksek orandaki doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle oksidatif değişmelere hassasiyet göstermekte ve bu şekilde kalite kayıplarına uğramaktadır. Elde edilen sonuçlar araştırmada kullanılan uskumru kıymalarının yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin depolama süresince meydana gelen oksidatif reaksiyonlardan önemli düzeyde etkilendiğini göstermektedir.

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2005), sardalya lipidlerinin büyük miktarının 16:0, 18:0, 16:1, 20:3 (n-3), 20:5 (n-3) ve 22:6(n-3) yağ asitlerinden oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan bu çalışmada kontrol grubuna ait balık örneklerinin çoklu doymamış yağ asidi içeriklerinin -20°C’de 5 ay süre ile yapılan depolama sonunda %43.81’den %32.78’e azaldığı ve doymuş yağ asidi miktarının ise %32.17’den % 42.1’e yükseldiği belirlenmiştir. Çoklu doymamış yağ asidi miktarındaki bu azalma, sardalya lipidlerinin enzimatik hidrolizi ile açıklanmıştır. Kundakçı (1979), kefal balığının doymuş yağ asidi içeriğinin -18°C’de 18 ay süre ile yapılan depolama sonrasında %31.75’den %37.48’e yükseldiğini belirlemiştir.

4.5.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi

4.5.10.1 Toplam karbonil miktarı

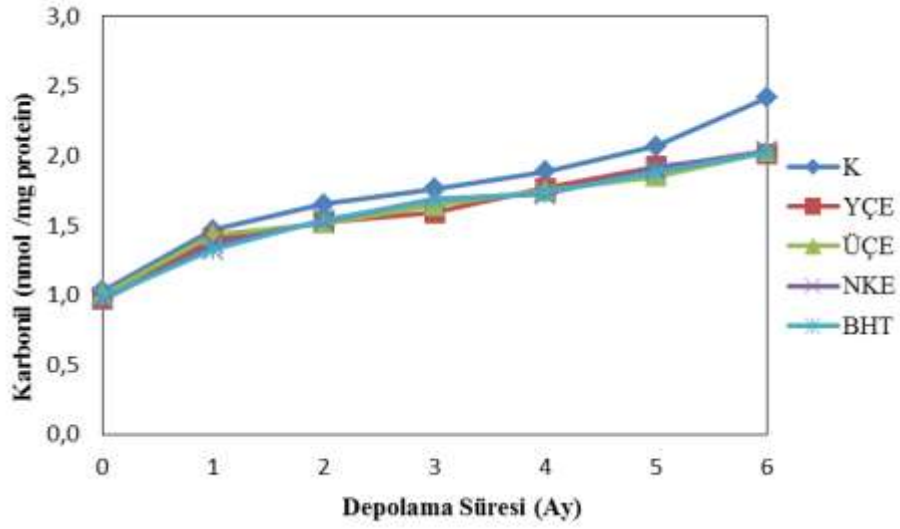
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında dondurularak depolama sırasında belirlenen toplam karbonil miktarları, nmol/mg protein olarak çizelge 4.51’de ve şekil 4.40’da görülmektedir.

Çizelge 4.51 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının karbonil miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	1.03±0.03 ^{Ag}	0.97±0.01 ^{Af}	1.00±0.02 ^{Ag}	0.97±0.02 ^{Af}	0.98±0.03 ^{Af}	0.99±0.03
1	1.47±0.07 ^{Af}	1.40±0.05 ^{ABCe}	1.43±0.02 ^{ABf}	1.36±0.08 ^{BCe}	1.33±0.01 ^{Ce}	1.40±0.07
2	1.65±0.01 ^{Ae}	1.52±0.02 ^{Bd}	1.52±0.02 ^{Be}	1.53±0.04 ^{Bd}	1.54±0.03 ^{Bd}	1.55±0.06
3	1.76±0.01 ^{Ad}	1.59±0.03 ^{Cd}	1.64±0.00 ^{BCd}	1.69±0.02 ^{Bc}	1.68±0.02 ^{ABc}	1.67±0.06
4	1.89±0.01 ^{Ac}	1.77±0.01 ^{Bc}	1.75±0.01 ^{Bc}	1.72±0.02 ^{Bc}	1.73±0.03 ^{Bc}	1.77±0.06
5	2.07±0.01 ^{Ab}	1.92±0.02 ^{Bb}	1.85±0.00 ^{Bb}	1.91±0.02 ^{Bb}	1.88±0.04 ^{Bb}	1.92±0.08
6	2.41±0.03 ^{Aa}	2.01±0.03 ^{Ba}	2.03±0.01 ^{Ba}	2.03±0.03 ^{Ba}	2.02±0.03 ^{Ba}	2.10±0.17
Ort.	1.76±0.42	1.60±0.09	1.60±0.32	1.60±0.34	1.59±0.34	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.40 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarındaki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak karbonil miktarının arttığı, başlangıçta 0.99 nmol olan karbonil miktarının donmuş depolamanın 6. ayında 2.10 nmol düzeyine ulaştığı saptanmıştır. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının karbonil miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait kıyma uskumruların ortalama karbonil miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan uskumru kıymasında karbonil miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). Kıyma halde depolanan uskumruların depolama süresinin başında 0.97-1.03 nmol olarak belirlenen toplam karbonil miktarları 6 aylık depolama süresi sonunda 2.01-2.41 nmol aralığına yükselmiştir. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında herhangi bir farklılık olmadığı ($P > 0.01$), depolamanın 1. ayından itibaren antioksidan kaynaklarının etkilerini göstererek karbonil miktarındaki artışı sınırlandırdıkları belirlenmiştir. 4. ve 5. aylarda en yüksek karbonil miktarına antioksidan ilave edilmeyen grubun sahip olduğu ($P < 0.01$) ve antioksidan kaynakları arasında ise farklılık olmadığı ($P > 0.01$) tespit edilmiştir. Benzer şekilde, depolama süresi sonunda K grubu örneklerin en yüksek (2.41 nmol) karbonil miktarına sahip olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda belirlenen karbonil miktarlarına göre YÇE,

ÜÇE, NKE ve BHT ile muamele edilen balıklar arasında farklılık yoktur ($P>0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının ise oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.

4.5.10.2 Toplam sülfidril miktarı

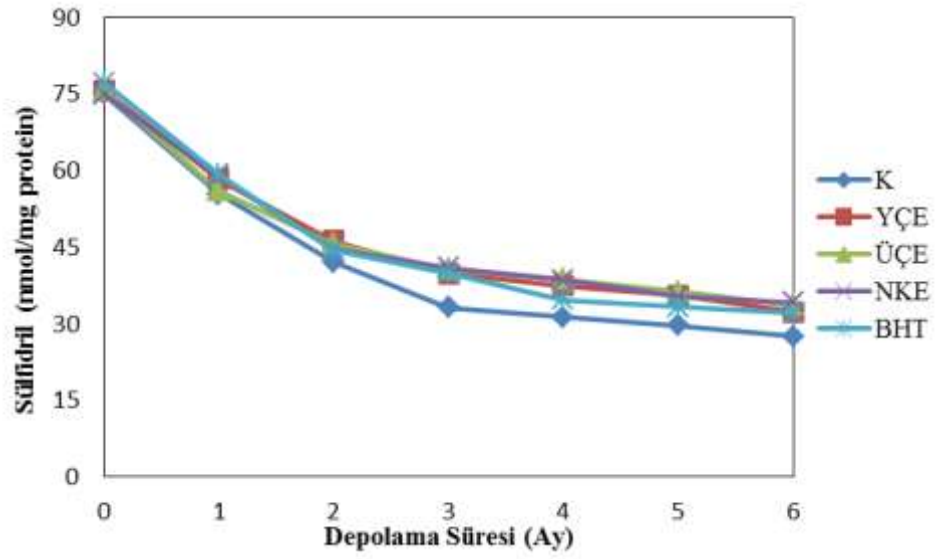
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru kıymasında dondurularak depolama sırasında belirlenen toplam sülfidril miktarları, nmol/mg protein olarak çizelge 4.52’de ve şekil 4.41’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak sülfidril miktarının azaldığı, başlangıçta 75.78 nmol olan sülfidril miktarının donmuş depolamanın 6. ayında 31.94 nmol düzeyine azaldığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının sülfidril miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama sülfidril miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise ÜÇE ve NKE’nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.52 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının sülfidril miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	75.13±0.30 ^{Ba}	75.74±0.39 ^{ABa}	75.90±0.95 ^{ABa}	74.95±1.24 ^{Ba}	77.19±0.71 ^{Aa}	75.78±1.02
1	55.35±0.06 ^{Bb}	58.27±0.13 ^{Ab}	56.06±0.77 ^{Bb}	58.82±0.23 ^{Ab}	59.23±0.33 ^{Ab}	57.55±1.66
2	42.13±0.33 ^{Cc}	46.23±0.65 ^{Ac}	45.72±0.47 ^{ABc}	44.59±0.65 ^{Bc}	44.37±0.22 ^{Bc}	44.61±1.54
3	33.17±0.20 ^{Bd}	39.76±0.05 ^{Ad}	40.70±0.36 ^{Ad}	40.91±1.14 ^{Ad}	39.88±0.33 ^{Ad}	38.88±3.08
4	31.32±0.37 ^{Ce}	37.45±0.46 ^{Ae}	38.75±0.07 ^{Ae}	38.51±0.56 ^{Ae}	34.64±0.73 ^{Be}	36.13±2.99
5	29.64±0.41 ^{Cf}	35.54±0.22 ^{Af}	36.33±0.16 ^{Af}	35.25±0.38 ^{Af}	33.25±0.52 ^{Bef}	34.00±2.55
6	27.53±0.53 ^{Dg}	32.35±0.32 ^{BCg}	33.73±0.26 ^{ABg}	34.11±0.83 ^{Af}	31.98±0.43 ^{Cf}	31.94±2.50
Ort.	42.04±16.78	46.48±14.89	46.74±14.24	46.73±14.37	45.79±16.06	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.41 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında sülfidril miktarındaki değişim

Dondurularak depolanan uskumru kıymalarının toplam sülfidril miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Kıyma halde dondurularak depolanan uskumrularda depolama süresinin başında 74.95-77.19 nmol düzeyinde olan toplam sülfidril içeriklerinin depolama sonunda 27.53-34.11 nmol aralığına düştüğü Çizelge 4.55’de görülmektedir. Depolama süresinin başında BHT (77.19 nmol) uygulanan balıkların diğerlerine göre daha yüksek sülfidril içeriğine sahip olduğu, bunu sırasıyla ÜÇE (75.90 nmol), YÇE (75.74 nmol), K (75.13 nmol) ve NKE (74.95 nmol) içeren balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). 6 aylık depolama süresince K örneklerinin sülfidril içeriklerinin antioksidan uygulanan örneklerden düşük olduğu çizelge 4.55’de görülmektedir. 6 aylık depolama süresi sonunda ise NKE (34.11 nmol) içeren balıkların en yüksek sülfidril içeriğine sahip olduğu, bunu sırasıyla ÜÇE (33.73 nmol), YÇE (32.35 nmol), BHT (31.98 nmol) ve K (27.53 nmol) örneklerinin izlediği belirlenmiştir.

Proteinlerin tiyol içeriklerinin azalması, proteinlerin oksidatif olarak bozulduğunu gösteren önemli bir kriterdir (Soszynsky ve Bartosz 1997). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, sülfidril içeriklerinin azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle NKE’nın

oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.

4.5.10.3 Protein çözünürlüğü

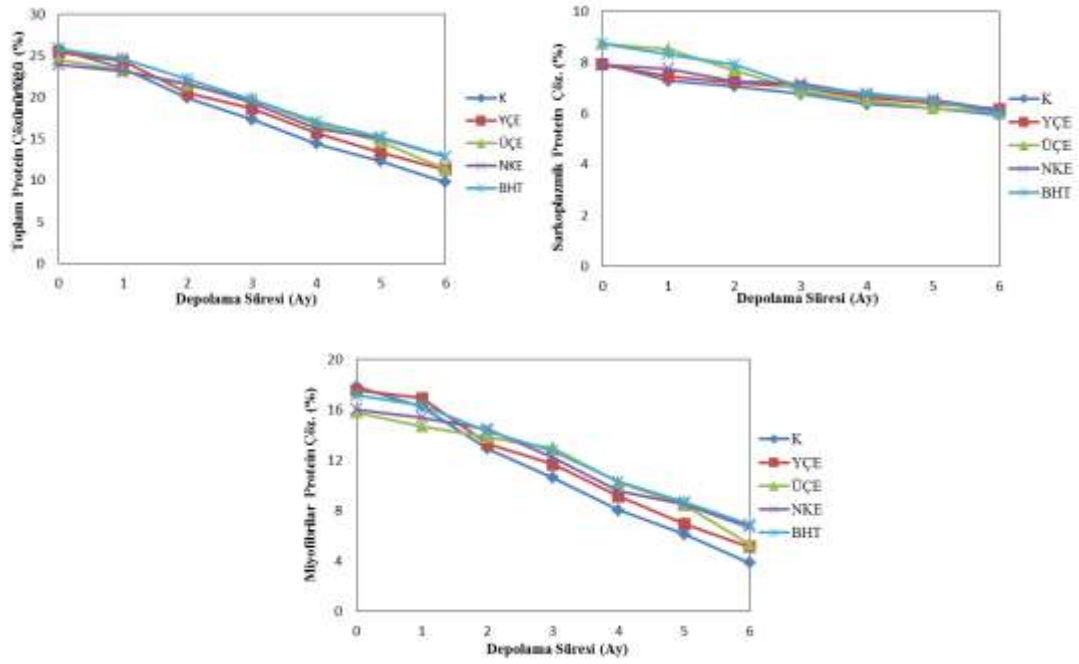
Farklı antioksidan kaynakları ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) sonuçları çizelge 4.53’de ve şekil 4.42’de görülmektedir.

Çizelge 4.53 Dondurularak depolanan uskumru kıymasının toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
TPÇ						
0	25.81±0.14 ^{Aa}	25.46±0.14 ^{Aa}	24.52±0.44 ^{Ba}	23.92±0.00 ^{Ca}	25.87±0.13 ^{Aa}	25.12±0.83
1	23.51±0.21 ^{Bb}	24.37±0.14 ^{Ab}	23.21±0.28 ^{Bb}	23.14±0.27 ^{Bb}	24.65±0.29 ^{Ab}	23.78±0.68
2	19.95±0.27 ^{Dc}	20.49±0.18 ^{Cc}	21.51±0.04 ^{Bc}	21.71±0.07 ^{ABc}	22.19±0.21 ^{Ac}	21.17±0.88
3	17.37±0.07 ^{Cd}	18.69±0.11 ^{Bd}	19.86±0.16 ^{Ad}	19.37±0.00 ^{Ad}	19.77±0.12 ^{Ad}	19.01±0.97
4	14.42±0.01 ^{De}	15.74±0.03 ^{Ce}	16.75±0.08 ^{ABe}	16.28±0.26 ^{Be}	17.08±0.06 ^{Ae}	16.05±0.99
5	12.34±0.28 ^{Df}	13.36±0.07 ^{Cf}	14.66±0.08 ^{Bf}	15.09±0.02 ^{ABf}	15.22±0.22 ^{Af}	14.13±1.18
6	9.78±0.11 ^{Cg}	11.28±0.23 ^{Bg}	11.37±0.30 ^{Bg}	12.80±0.07 ^{Ag}	12.90±0.11 ^{Ag}	11.63±1.22
Ort.	17.60±5.64	18.48±5.16	18.84±4.60	18.90±4.11	19.67±4.68	
SPÇ						
0	7.96±0.16 ^{Ba}	7.91±0.04 ^{Ba}	8.74±0.15 ^{Aa}	7.90±0.15 ^{Ba}	8.73±0.13 ^{Aa}	8.25±0.43
1	7.27±0.32 ^{Cb}	7.45±0.10 ^{BCb}	8.51±0.08 ^{Aa}	7.74±0.04 ^{Ba}	8.32±0.04 ^{Ab}	7.86±0.52
2	7.06±0.03 ^{Bbc}	7.21±0.02 ^{Bbc}	7.69±0.09 ^{Ab}	7.25±0.03 ^{Bb}	7.91±0.05 ^{Ac}	7.42±0.34
3	6.77±0.18 ^{Bc}	7.03±0.02 ^{ABc}	6.89±0.12 ^{ABc}	7.15±0.00 ^{Ab}	7.03±0.18 ^{ABd}	6.97±0.17
4	6.37±0.11 ^{Bd}	6.62±0.14 ^{ABd}	6.52±0.20 ^{ABd}	6.74±0.02 ^{Ac}	6.80±0.06 ^{Ade}	6.61±0.19
5	6.19±0.28 ^{Bde}	6.41±0.06 ^{ABde}	6.21±0.08 ^{ABde}	6.55±0.03 ^{Ac}	6.52±0.06 ^{ABe}	6.38±0.19
6	5.93±0.00 ^{Ae}	6.16±0.14 ^{Ae}	6.04±0.03 ^{Ae}	6.12±0.09 ^{Ad}	5.97±0.06 ^{Af}	6.05±0.11
Ort.	6.79±0.69	6.97±0.59	7.23±1.05	7.06±0.62	7.32±0.97	
MPÇ						
0	17.85±0.31 ^{Aa}	17.55±0.10 ^{ABa}	15.78±0.29 ^{Ca}	16.02±0.15 ^{Ca}	17.14±0.00 ^{Ba}	16.87±0.88
1	16.24±0.11 ^{Bb}	16.93±0.04 ^{Ab}	14.70±0.37 ^{Db}	15.40±0.31 ^{Cb}	16.33±0.25 ^{Bb}	15.92±0.84
2	12.90±0.24 ^{Cc}	13.29±0.20 ^{Cc}	13.82±0.05 ^{Bc}	14.45±0.10 ^{Ac}	14.29±0.25 ^{ABc}	13.75±0.64
3	10.61±0.11 ^{Dd}	11.66±0.09 ^{Cd}	12.98±0.04 ^{Ad}	12.22±0.01 ^{Bd}	12.74±0.30 ^{Ad}	12.04±0.90
4	8.05±0.10 ^{Ce}	9.12±0.11 ^{Be}	10.23±0.28 ^{Ae}	9.54±0.28 ^{Be}	10.28±0.00 ^{Ae}	9.45±0.88
5	6.14±0.00 ^{Cf}	6.95±0.14 ^{Bf}	8.45±0.15 ^{Af}	8.54±0.05 ^{Af}	8.69±0.16 ^{Af}	7.75±1.08
6	3.85±0.11 ^{Cg}	5.12±0.10 ^{Bg}	5.32±0.27 ^{Bg}	6.69±0.02 ^{Ag}	6.93±0.05 ^{Ag}	5.58±1.19
Ort.	10.81±4.98	11.51±4.58	11.61±3.62	11.84±3.51	12.34±3.72	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.42 Dondurularak depolanan uskumru kıymasında toplam, sarkoplazmik ve miyofibrillar protein çözünürlüğündeki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak toplam protein çözünürlüğünün (TPÇ) azaldığı, başlangıçta %25.12 olan TPÇ'nün donmuş depolamanın 6. ayında %11.63 düzeyine düştüğü (%54 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama TPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise BHT'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının TPÇ miktarı üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 3). Depolama süresinin başında kıyma örneklerin %23.92-25.87 aralığında değişen TPÇ, depolama süresi sonunda %9.78-12.90 aralığına düşmüştür. 0. gün analiz sonuçları incelendiğinde, NKE'lı örneklerin en düşük TPÇ'ne (%23.92) sahip olduğu görülmektedir. 6 aylık depolama sonunda BHT (%12.90) ve NKE (%12.80) içeren örneklerin TPÇ miktarının en yüksek, K (% 9.78) örneklerin en düşük olduğu gözlenmiştir ($P < 0.01$). Elde edilen sonuçlar, depolama süresinin uzamasına bağlı olarak TPÇ'nün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de

BHT ve NKE'nin TPC'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Depolama süresine bağlı olarak SPÇ'nün azaldığı, başlangıçta %8.25 olan SPÇ'nün donmuş depolamanın 6. ayında %6.05 düzeyine düştüğü (%27 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının SPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait örneklerin ortalama SPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamasının da SPÇ üzerine etkili olduğu çizelge 4.53'de görülmektedir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumruların SPÇ üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Başlangıçta %7.90-8.74 arasında değişen SPÇ miktarları depolama sonunda %5.93-6.16 düzeyine düşmüştür ($P<0.01$). Depolama süresinin başında ÜÇE'li (%8.74) ve BHT'li (%8.73) kıymaların diğer gruplara göre SPÇ miktarlarının yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$). Depolama süresi sonunda uygulamaların SPÇ miktarları karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiki olarak farklılık olmadığı saptanmıştır ($P>0.01$).

Uzayan depolama süresine bağlı olarak MPC'nün azaldığı, başlangıçta %16.87 olan MPC'nün soğukta depolamanın 6. ayında %5.58 düzeyine azaldığı (%67 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının MPC üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz kontrol grubuna ait uskumruların ortalama MPC'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, diğer uygulamaları arasında ise BHT'nin daha etili olduğu belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balıklarının MPC üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonunun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 3). Depolamanın başında kıyma örneklerin %15.78-17.85 arasında değişen MPC miktarlarının depolama süresi sonunda % 3.85-6.93 aralığına düştüğü görülmektedir. Depolamanın başında K (%17.85) grubu örneklerin MPC

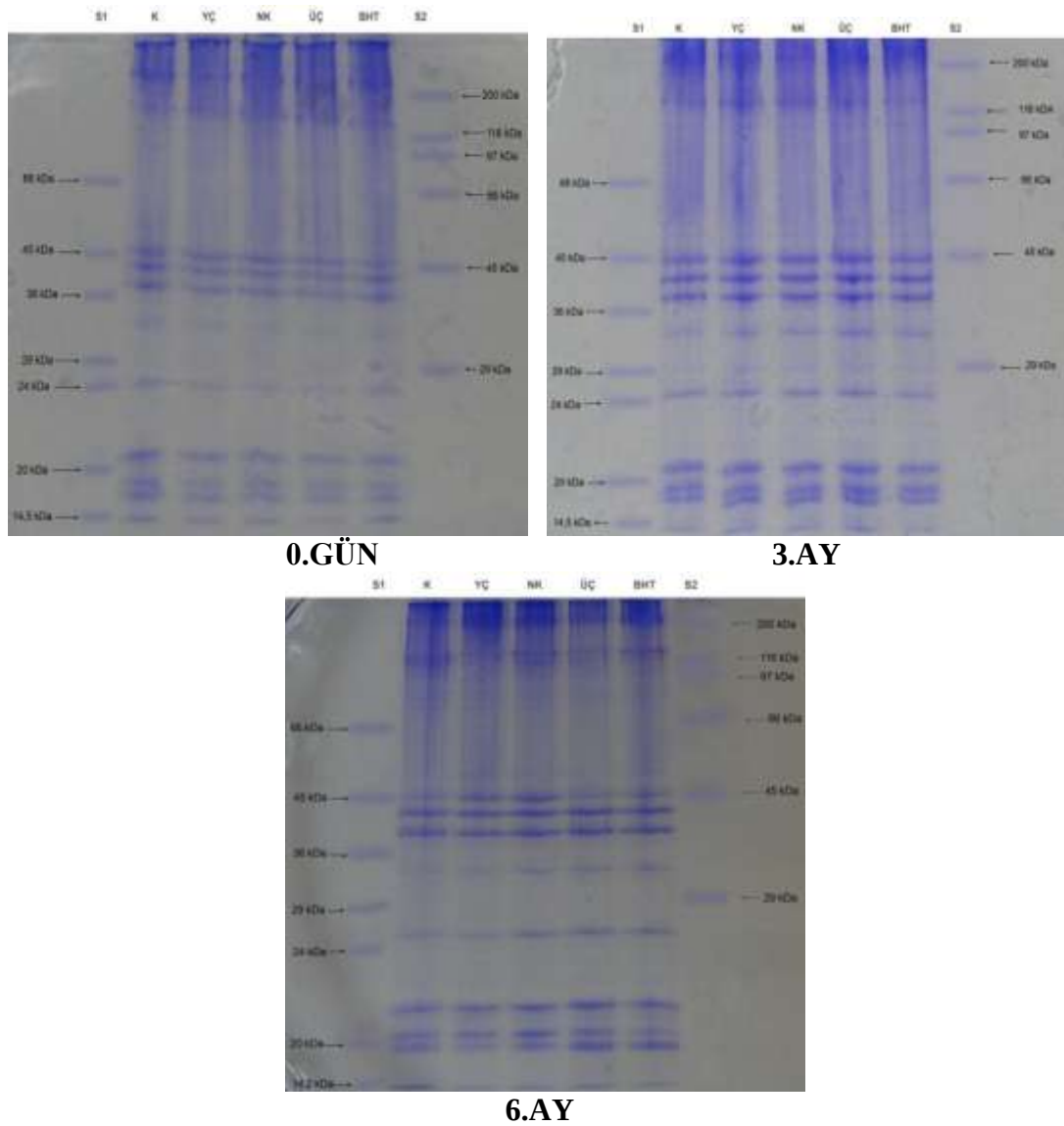
miktarı diğer gruplara göre yüksek, ÜÇE (%15.78) ve NKE (%16.02) içeren örneklerin ise düşüktür. Depolama süresi sonunda BHT (%6.93) içeren örneklerin en yüksek MPC'ne sahip olduğu, bu grubu sırasıyla NKE (%6.69), ÜÇE (%5.32), YÇE (%5.12) ve K (%3.85) örneklerin izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, depolama süresinin uzamasına bağlı olarak miyofibrilar protein çözünürlüğünün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de NKE'nin MPC'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, uskumru kıymasında belirlenen toplam protein çözünürlüğünün büyük oranda miyofibrilar proteinlerden kaynaklandığını, uzayan depolama süresine bağlı olarak sarkoplazmik ve miyofibrilar proteinlerin etkilendiğini göstermektedir. Depolama süresince MPC'nde önemli miktarda azalma tespit edilmiştir. Sarkoplazmik proteinler ise miyofibrilar proteinlere kıyasla donmuş depolama prosesinden daha az etkilenmiştir.

Dondurularak depolanan balıklarda proteinlerin ekstrakte edilebilirlikleri agregasyon hakkında bilgi verir (Badii ve Howell 2002). Donmuş depolama süresince kas proteinlerinin tuzda veya SDS çözeltililerindeki çözünürlükleri azalır. Medina vd. (2009) tarafından, -10°C 'de depolanan kıyma istavrit kaslarının proteinlerinin ekstrakte edilebilirliklerinin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Sanchez-Alonso ve Borderias (2008) tarafından yapılan çalışmada, kıyma istavrit kaslarına ilave edilen üzüm lifinin protein agregasyonunu engelleyemediği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmayla toplam protein çözünürlüğünün düşük oranda lif ilave edildiğinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, üzüm lifinin yapısında bulunan yüksek yoğunluklu tanenlerden kaynaklandığı, formülasyona ilave edilen lifin yapısında bulunan bu tanenlerin çözünmeyen tanen-protein komplekslerine dönüşerek protein çözünürlüğünde azalmayı sınırlandırdığı düşünülmektedir. Ayrıca, tanenlerin, yapısındaki fenolik hidroksil grupları ile proteinlerin karboksil gruplarına çoklu hidrojen bağları ile bağlandığı bilinmektedir (Sanchez-Alonso ve Borderias 2008, Van Sumere vd. 1975).

4.5.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroförezü (SDS-PAGE)

Dondurularak depolanan kıyma örneklerin miyofibrilar proteinlerinin SDS-PAGE sonuçları şekil 4.43’de verilmiştir.



Şekil 4.43 Dondurularak depolanan kıyma uskumru balığında depolama süresince belirlenen miyofibriler proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları 0, 3 ve 6. ay sonuçları. Jele 2mg protein/mL örnek tamponundan 20µL yüklenmiştir. S1 66-14,2 kDa, S2 205-36 kDa arası molekül ağırlığına sahip protein standartlarını göstermektedir. K, YÇE, NKE, ÜÇE ve BHT oluşturulan grupları göstermektedir.

Dondurularak depolanan kıyma uskumru balığında depolama süresinin başlangıcında (0. gün) oluşturulan tüm gruplarda 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirgin bir şekilde görülmektedir. K grubuna ait örneklerde depolama süresinin başlangıcında 45-14.2 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları diğer gruplara kıyasla daha koyu bir görüntü vermiştir. Dondurularak depolamanın 3. ayında 0. günde belirgin olmayan 66 kDa molekül ağırlığındaki protein bandı; 6. ayında ise 97 kDa molekül ağırlığındaki protein bandının olduğu görülmektedir. 6. ayda elde edilen görüntü incelendiğinde; NKE, ÜÇE ve BHT içeren gruplarda 36-14.2 kDa aralığındaki bantların YÇE ve K'e kıyasla daha belirgin oldukları görülmektedir. Elde edilen elektroforetogramlarda depolama süresinin uzamasına bağlı olarak, 45-14.2 kDa aralığındaki bant yoğunluklarının arttığı tespit edilmiştir. Diğer protein bantlarının depolama süresince göstermiş oldukları değişimler ise tüm gruplarda benzer olmuştur. Elde edilen sonuçlar, uzayan depolama süresine bağlı olarak proteinlerde meydana gelen oksidatif reaksiyonlar ile denaturasyonun miyofibrillar protein fraksiyonlarında değişimlere neden olduğunu göstermektedir.

4.6 Dondurularak Depolanan Uskumru Filetosuna Ait Sonuçlar

4.6.1 Nem, protein, kül ve yağ miktarları

Farklı antioksidan kaynakları ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları çizelge 4.54'de verilmiştir. Dondurularak depolanan fileto uskumru balığının uzayan depolama süresine bağlı olarak nem miktarı azalmış, protein ve yağ miktarları ise artmıştır ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto ette depolama başlangıcında ve 6. ay sonra belirlenen nem, protein, kül ve yağ miktarları sırasıyla ortalama %76.77 ve %74.36, %15.57 ve %16.77, %7.05 ve %8.48 bulunmuştur. Antioksidan kaynağı ilavesinin uskumru filetolarının nem, protein, kül ve yağ miktarı üzerine etkisinin önemli olmadığı ($P>0.01$), depolama süresinin ise nem, protein ve yağ miktarı üzerine etkisinin önemli olduğu ($P<0.01$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.54 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun nem, protein, kül ve yağ miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
Nem						
0	76.67±0.18 ^{Abc}	76.33±0.00 ^{Ac}	77.27±0.37 ^{Aa}	76.87±0.30 ^{Aab}	76.23±0.33 ^{Abc}	76.77±0.38
6	73.82±0.07 ^{Bb}	74.61±0.00 ^{Ba}	74.68±0.19 ^{Ba}	74.25±0.03 ^{Bab}	74.44±0.13 ^{Ba}	74.36±0.04
Ort.	75.25±1.65	75.47±0.99	75.97±1.51	75.56±1.52	75.58±1.33	
Protein						
0	15.49±0.01	15.75±0.17	15.38±0.04	15.75±0.19	15.47±0.17	15.57±0.19 ^B
6	16.81±0.15	16.80±0.18	17.05±0.31	16.72±0.22	16.47±0.21	16.77±0.25 ^A
Ort.	16.15±0.77	16.27±0.62	16.21±0.98	16.24±0.58	15.97±0.60	
Kül						
0	1.29±0.07	1.32±0.05	1.21±0.14	1.26±0.12	1.17±0.19	1.25±0.11
6	1.19±0.11	1.13±0.01	1.50±0.03	1.40±0.21	1.43±0.08	1.33±0.18
Ort.	1.24±0.09	1.22±0.11	1.36±0.19	1.33±0.16	1.30±0.19	
Yağ						
0	6.94±0.07	6.99±0.03	7.17±0.11	7.04±0.00	7.12±0.08	7.05±0.11 ^B
6	8.81±0.08	8.19±0.20	8.67±0.39	8.36±0.12	8.36±0.01	8.48±0.29 ^A
Ort.	7.88±1.08	7.59±0.70	7.92±0.90	7.70±0.77	7.74±0.72	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir parameter için ilgili satırda (A-B) ve sütunda (a-c) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Chaijan vd. (2004), uskumru kaslarının %17.54 protein, %0.27 lipid, %79.37 su ve %1.32 külden oluştuğunu belirlemişlerdir. Uskumru, göç eden bir balıktır ve bileşimi mevsimler, açlık, yorgunluk gibi durumlardan etkilenmektedir.

4.6.2 pH değeri

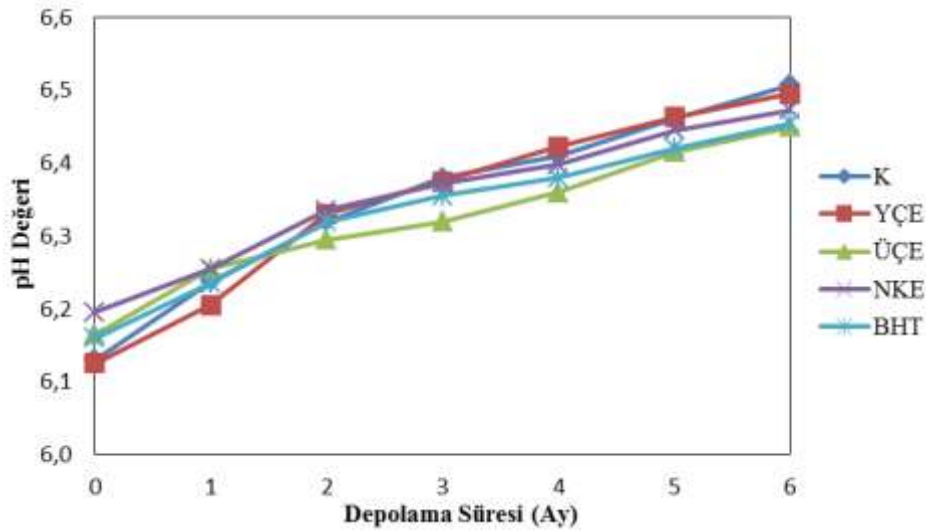
Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen pH değerleri çizelge 4.55’de ve şekil 4.44’de verilmiştir. Fileto ette depolama başlangıcında pH değeri ortalama 6.16, 6 ay sonra ise ortalama 6.48 bulunmuştur. Kontrol örneklerinde ortalama pH değeri 6.35, YÇE’li filetolarda 6.35, ÜÇE’li filetolarda 6.32, NKE’li filetolarda 6.35 ve BHT’li fileto örneklerde ise 6.33’dür.

Çizelge 4.55 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun pH değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort.
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.13±0.01 ^{BCf}	6.13±0.02 ^{Cf}	6.17±0.01 ^{ABf}	6.20±0.02 ^{Ae}	6.16±0.01 ^{ABe}	6.16±0.03
1	6.24±0.01 ^{ABe}	6.21±0.01 ^{Be}	6.26±0.01 ^{Ae}	6.26±0.01 ^{Ad}	6.24±0.01 ^{ABd}	6.24±0.02
2	6.32±0.00 ^{ABd}	6.33±0.01 ^{Ad}	6.30±0.01 ^{Bd}	6.34±0.01 ^{Ac}	6.32±0.01 ^{ABc}	6.32±0.02
3	6.38±0.01 ^{Ac}	6.38±0.01 ^{Ac}	6.32±0.01 ^{Bd}	6.37±0.01 ^{Ab}	6.36±0.01 ^{ABb}	6.36±0.03
4	6.41±0.01 ^{ABb}	6.42±0.01 ^{Ab}	6.36±0.01 ^{Cc}	6.40±0.00 ^{ABCb}	6.38±0.01 ^{BCa}	6.39±0.02
5	6.46±0.01 ^{Aa}	6.46±0.00 ^{Aa}	6.42±0.01 ^{Bb}	6.45±0.01 ^{ABa}	6.42±0.00 ^{Ba}	6.44±0.02
6	6.51±0.02 ^{Aa}	6.50±0.01 ^{Aa}	6.45±0.01 ^{Ba}	6.47±0.00 ^{ABa}	6.46±0.01 ^{Ba}	6.48±0.03
Ort.	6.35±0.13	6.35±0.13	6.32±0.003	6.35±0.03	6.33±0.03	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-f) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.44 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun pH değerindeki değişim

Dondurularak depolanan uskumru filetolarında depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun pH değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (P<0.01, EK 4 Çizelge 4). Her bir uygulamada, depolama süresinin başlangıcında belirlenen pH değerlerinin düşük olduğu, ilerleyen depolama süresine bağlı olarak pH değerinin arttığı ve 6. ayda tespit edilen pH değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.01). Depolama süresinin başlangıcında NKE içeren örneklerin pH değerleri diğer gruplara kıyasla yüksekken (6.20), K ve YÇE'li grubun pH değeri düşüktür (6.13). Donmuş depolanan fileto örneklerde depolama süresinin sonunda K ve YÇE içeren grup arasında fark olmadığı (P>0.01), söz konusu grupların diğerlerine kıyasla daha yüksek pH değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir (P<0.01). Donmuş depolanan ÜÇE ve

BHT içeren fileto örnekler arasında 6 aylık depolama süresi sonunda pH değeri açısından farklılık olmadığı ($P>0.01$) ve bu grupların diğer gruplarla karşılaştırıldıklarında en düşük pH değerlerine sahip oldukları ($P<0.01$) da görülmektedir ($P<0.01$).

pH değerinde depolama süresince gözlenen bu artışın özellikle endojen veya mikrobiyal enzimler tarafından oluşturulan amonyak ve trimetil amin gibi volatil bazlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

4.6.3 Renk

Örneklerin yüzey renkleri ile oksidasyon arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla renk ölçümü yapılmış olup, farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen L^* , a^* , b^* , C ve h° değerleri çizelge 4.56'da ve Şekil 4.45'de verilmiştir. Dondurularak depolanan uskumru filetolarının L^* değerlerinin depolama süresince düzenli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Fileto ette depolama başlangıcında L^* değeri ortalama 44.23 ve 6. ayda 46.05 bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının L^* değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. ÜÇE uygulanan uskumru filetolarının depolama süresince belirlenen ortalama L^* değerlerinin diğer uygulamalardan düşük (42.89) olduğu, bu grubu sırasıyla NKE (44.04), YÇE (44.45), BHT (45.35) ve K (45.62) grubunun izlediği tespit edilmiştir.

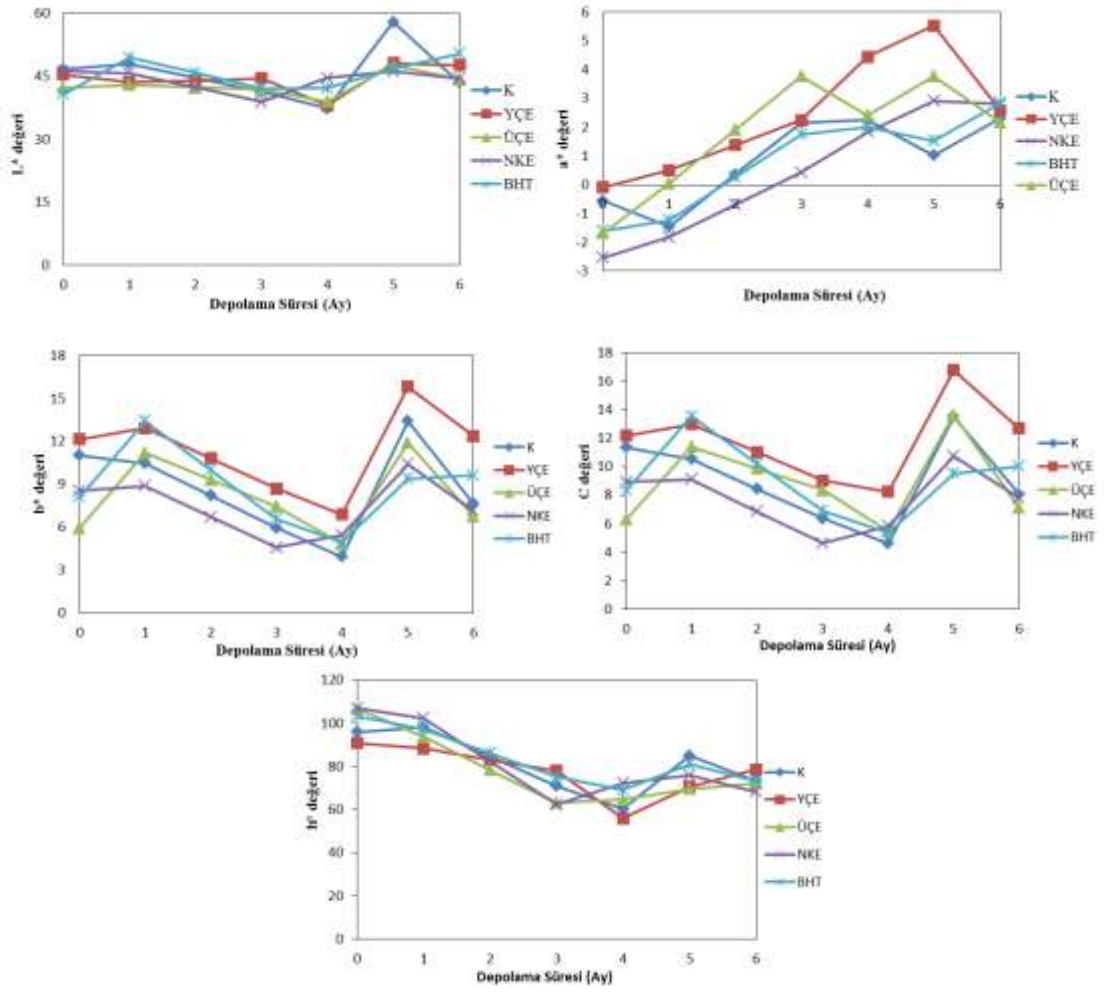
Donmuş depolanan fileto örneklerde depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun L^* değeri açısından istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresinin başında oluşturulan tüm grupların L^* değerleri arasında herhangi bir farklılık olmadığı ($P>0.05$), depolama süresi sonunda ise, BHT (50.42) içeren grubun parlaklık değerinin en yüksek, K grubunun (43.49) en düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). 6. ay sonunda belirlenen L^* değerlerine bakıldığında ise YÇE (47.64), ÜÇE (44.29) ve NKE (44.43) içeren gruplar arasında önemli bir fark olmadığı da tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.56 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun L*, a*, b*, C ve h° değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
L*						
0	46.67±0.75 ^{Ab}	45.35±2.18 ^{Aa}	42.25±1.58 ^{Aab}	46.13±2.36 ^{Aa}	40.73±2.79 ^{Ab}	44.23±2.29
1	48.01±5.17 ^{Ab}	43.51±1.61 ^{Aab}	42.97±2.15 ^{Aab}	45.69±0.79 ^{Aab}	49.44±6.61 ^{Aa}	45.92±3.96
2	44.63±0.00 ^{Ab}	44.01±0.00 ^{Aab}	42.38±0.00 ^{Aab}	42.30±0.00 ^{Aab}	45.77±0.00 ^{Aab}	43.82±1.41
3	41.26±0.99 ^{Abc}	44.51±1.57 ^{Aab}	41.78±3.07 ^{Aab}	38.91±2.26 ^{Ab}	42.09±8.05 ^{Ab}	41.71±3.57
4	37.31±5.81 ^{Bc}	38.03±4.09 ^{ABb}	38.99±0.33 ^{ABb}	44.63±1.30 ^{Aab}	42.17±1.37 ^{ABb}	40.22±3.80
5	57.95±4.96 ^{Aa}	48.10±1.34 ^{Ba}	47.53±2.79 ^{Ba}	46.19±2.73 ^{Ba}	46.84±4.59 ^{Bab}	49.32±5.30
6	43.49±1.24 ^{Bbc}	47.64±3.98 ^{ABa}	44.29±0.68 ^{ABab}	44.43±1.44 ^{ABab}	50.42±2.87 ^{Aa}	46.05±3.27
Ort.	45.62±6.75	44.45±3.70	42.89±2.86	44.04±2.85	45.35±4.97	
a*						
0	-0.55±3.49	-0.10±0.75	-1.68±1.33	-2.54±0.76	-1.61±0.67	-1.30±1.60 ^c
1	-1.46±0.31	0.51±0.06	0.05±2.83	-1.82±0.63	-1.23±1.15	-0.79±1.42 ^c
2	0.35±0.00	1.37±0.00	1.91±0.00	-0.70±0.00	0.26±0.00	0.64±0.96 ^b
3	2.15±0.89	2.24±2.36	3.77±0.03	0.43±0.38	1.75±0.99	2.07±1.45 ^{ab}
4	2.26±0.85	4.44±1.67	2.41±0.93	1.83±1.29	1.99±1.07	2.59±1.34 ^a
5	1.03±0.97	5.53±0.80	3.77±0.74	2.92±1.03	1.52±0.26	2.95±1.81 ^a
6	2.30±0.10	2.59±1.67	2.17±0.01	2.80±1.38	2.84±0.40	2.54±0.79 ^a
Ort.	0.87±1.79 ^{BC}	2.37±2.19 ^A	1.77±0.57 ^{AB}	0.42±2.21 ^C	0.79±1.72 ^{BC}	
b*						
0	11.00±3.53	12.13±0.84	5.95±1.05	8.53±0.32	8.10±3.52	9.14±2.88 ^{bc}
1	10.44±1.14	12.93±1.86	11.19±5.38	8.86±1.13	13.41±6.12	11.37±3.33 ^{ab}
2	8.20±0.00	10.81±0.00	9.31±0.00	6.72±0.00	9.99±0.00	9.01±1.51 ^{bc}
3	5.95±1.98	8.70±4.54	7.43±0.37	4.57±0.89	6.57±1.40	6.64±2.28 ^{cd}
4	3.92±1.57	6.87±3.93	4.82±0.24	5.46±0.66	4.92±1.13	5.20±1.80 ^d
5	13.40±5.16	15.79±0.80	11.88±0.47	10.40±1.68	9.37±2.12	12.17±3.09 ^a
6	7.65±1.73	12.35±0.15	6.75±0.29	7.14±1.55	9.60±1.06	8.70±2.35 ^{bc}
Ort.	8.65±3.66 ^B	11.37±3.32 ^A	8.19±2.99 ^B	7.38±2.10 ^B	8.85±3.36 ^B	
C						
0	11.35±3.28	12.19±0.89	6.28±0.64	8.93±0.08	8.34±3.28	9.42±2.75 ^{bc}
1	10.55±1.18	13.01±1.90	11.42±5.29	9.10±0.96	13.54±5.95	11.52±3.26 ^{ab}
2	8.45±0.00	11.02±0.00	9.88±0.00	6.86±0.00	10.22±0.00	9.29±1.55 ^{bc}
3	6.35±2.18	9.04±4.96	8.35±0.31	4.62±0.94	6.91±1.04	7.05±2.48 ^{cd}
4	4.60±1.81	8.24±4.22	5.46±0.67	5.82±1.02	5.37±1.46	5.90±2.11 ^d
5	13.51±5.01	16.79±0.50	13.64±0.91	10.74±1.80	9.51±2.11	12.84±3.30 ^a
6	8.07±1.67	12.68±0.19	7.11±0.29	7.79±0.91	10.02±0.90	9.14±2.25 ^{bc}
Ort.	8.98±3.51 ^B	11.85±3.32 ^A	8.88±3.21 ^B	7.69±2.15 ^B	9.13±3.25 ^B	
h°						
0	95.80±19.5	90.81±3.28	106.60±14.4	106.77±5.45	103.30±10.14	100.65±11.22 ^a
1	98.02±0.93	88.18±0.20	93.60±16.10	102.22±5.50	97.14±8.19	95.83±8.03 ^a
2	84.47±0.00	83.03±0.00	78.35±0.00	82.26±0.00	86.06±0.00	82.83±2.73 ^b
3	70.92±0.94	77.89±8.48	63.09±1.30	62.30±27.80	74.99±10.37	69.84±12.22 ^{cd}
4	60.17±0.93	55.85±5.98	64.66±7.33	72.27±10.04	69.05±5.87	64.40±7.99 ^d
5	84.83±5.81	70.52±3.17	69.57±2.72	75.67±1.31	80.72±0.37	76.26±6.63 ^{bc}
6	73.19±4.77	78.41±7.81	72.27±0.38	68.12±13.50	73.19±3.83	73.04±6.57 ^{bcd}
Ort.	81.05±14.42	77.81±11.99	78.31±16.78	81.37±18.79	83.49±13.26	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (a*, b*, C ve h° için P<0.01; L* için P<0.05).



Şekil 4.45 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun L, a*, b*, C ve h° değerlerindeki değişim

Elde edilen sonuçlar antioksidan kaynağının uskumru filetolarının L* değeri üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Bu durumun ilave edilen bitkisel materyalin kendi renginden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. L* değerinde depolama süresince meydana gelen değişimin ise, oksidatif değişimler sonucunda balık etinin yapısında meydana gelen renk değişimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının a* değerleri incelendiğinde, depolama süresine bağlı olarak kırmızılık değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Fileto ette depolama başlangıcında a* değeri ortalama -1.30, 6 ay sonra 2.54 bulunmuştur. NKE içeren örneklerinin depolanmaları süresince belirlenen ortalama a* değerlerinin diğer uygulamalardan düşük (0.42) olduğu, NKE uygulanan balıkları sırasıyla BHT (0.79),

kontrol (0.87), ÜÇE (1.77) ve YÇE (2.37) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan fileto örneklerde depolama süresi ve uygulamanın a^* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Uzayan depolama süresine bağlı olarak a^* değerinin arttığı, antioksidan uygulamasının da a^* değeri üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($P>0.01$). Donmuş depolanan fileto örneklerde YÇE uygulamasının diğer uygulamalardan daha yüksek kırmızılık değeri verdiği belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolamanın başında YÇE ile muamele edilen grubun -1.30 olarak belirlenen a^* değeri 6 aylık depolama süresi sonunda 2.54'e ulaşmıştır ($P<0.01$).

Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının b^* değerleri incelendiğinde, sarılık değerlerinin uzayan depolama süresine bağlı olarak düzenli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Fileto ette depolama başlangıcında b^* değeri ortalama 9.14, 6 ay sonra ise ortalama 8.70 bulunmuştur. Genel olarak YÇE içeren balıkların balıkların sarılık değerlerinin (11.37) diğer gruplardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan fileto balıklarda depolama süresi ve uygulamanın b^* değeri üzerine istatistiki olarak etkili olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresince belirlenen sarılık değerlerinde ise düzenli bir değişim olmadığı, 4. ayda sarılık değerinin en düşük (5.20), 5. ayda ise en yüksek (12.17) düzeye ulaştığı belirlenmiştir ($P<0.01$). Bitkisel ekstrakt ilavesinin fileto uskumrulara sarılık değeri üzerine etkili olduğu, YÇE (11.37) içeren grubun diğerlerine göre daha yüksek b^* değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar YÇE'nin sarılık değeri üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Uygulanan ekstraktlar arasındaki farklılıkların değişen pH değerlerine bağlı olarak antioksidan etkinliğinin farklılaşması ve okside olan miyogloblin düzeyinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının C değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı olarak C değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı, ancak yapılan uygulamalar arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Fileto ette depolama başlangıcında C değeri ortalama 9.42, 6 ay sonra ise ortalama 9.14 bulunmuştur. Genel

olarak YÇE uygulanan balıkların renk yoğunluğu değerlerinin (11.85) diğer gruplardan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dondurularak depolanan uskumru filetolarında C değeri üzerine depolama süresi ve uygulamanın etkisinin önemlidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Donmuş depolanan fileto balıklarda tüm depolama süreci dikkate alındığında YÇE (11.85) içeren balıkların diğer gruplara kıyasla en yüksek renk yoğunluğu değerine sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0.01$). K (8.98), ÜÇE (8.88), NKE (7.69) ve BHT (9.13) içeren gruplar arasında ise C değeri açısından herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Elde edilen sonuçlar YÇE'nin renk yoğunluğu üzerine etkili olduğunu göstermektedir.

Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının h° değerleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine ve antioksidan uygulamasına bağlı olarak h° değerlerinde düzenli bir değişim olmadığı görülmektedir. Fileto uskumruda depolama başlangıcında h° değeri ortalama 100.65, 6 ay sonra ise ortalama 73.04 bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının etkisi incelendiğinde BHT ile muamele edilen balıkların renk açısı değerinin diğer uygulamalardan yüksek (83.49), YÇE'nin ise düşük (77.81) olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistik değerlendirme sonucunda, donmuş depolanan fileto uskumru balıklarında depolama süresinin renk açısı değeri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresince h° değerlerinin düzenli olarak değişmediği, depolamanın 5. ayına kadar azaldığı daha sonra ise tekrar arttığı tespit edilmiştir.

4.6.4 Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) yükü

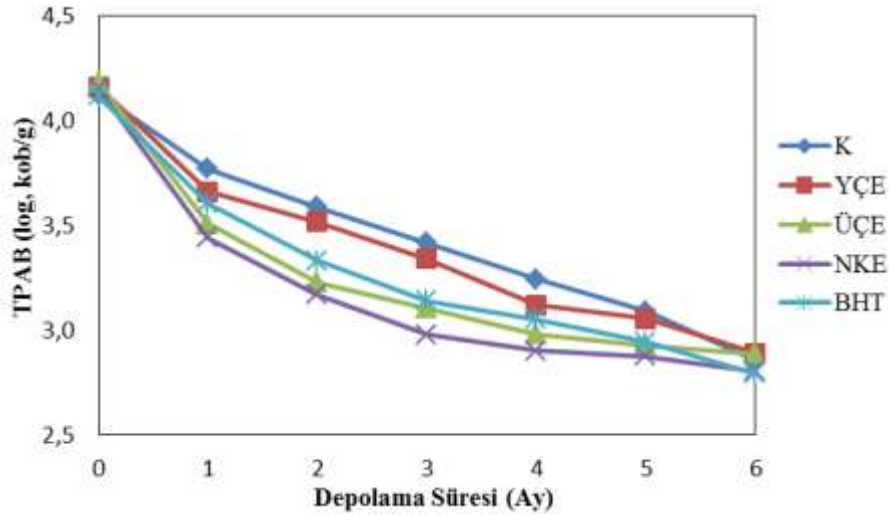
Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen TAPB sayıları ($\log_{10}$ KOB/g et) çizelge 4.57'de ve şekil 4.46'da görülmektedir. Dondurularak depolanan fileto uskumruların TAPB yükleri incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı düzenli bir azalma olduğu görülmektedir. Fileto uskumruda depolama başlangıcında TAPB sayısı ortalama 4.15, 6 ay sonra ise ortalama 2.85 bulunmuştur.

Çizelge 4.57 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam aerob psikrofil bakteri sayısına ($\log_{10}$ KOB/g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort.
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	4.13±0.05 ^{Aa}	4.16±0.03 ^{Aa}	4.18±0.02 ^{Aa}	4.15±0.00 ^{Aa}	4.12±0.02 ^{Aa}	4.15±0.03
1	3.77±0.03 ^{Ab}	3.66±0.03 ^{Bb}	3.51±0.09 ^{Cb}	3.44±0.01 ^{Cb}	3.61±0.07 ^{Bb}	3.60±0.13
2	3.59±0.02 ^{Ac}	3.52±0.02 ^{Ac}	3.23±0.04 ^{Cc}	3.17±0.01 ^{Cc}	3.33±0.04 ^{Bc}	3.37±0.17
3	3.42±0.02 ^{Ad}	3.34±0.01 ^{Ad}	3.11±0.00 ^{Bd}	2.98±0.03 ^{Cd}	3.14±0.01 ^{Bd}	3.20±0.17
4	3.24±0.01 ^{Ae}	3.12±0.01 ^{Be}	2.98±0.01 ^{CDe}	2.90±0.06 ^{Dde}	3.05±0.00 ^{BCe}	3.06±0.13
5	3.09±0.01 ^{Af}	3.05±0.05 ^{Ae}	2.93±0.00 ^{Bef}	2.87±0.04 ^{Bef}	2.94±0.00 ^{Bf}	2.98±0.09
6	2.85±0.00 ^{ABCg}	2.89±0.01 ^{Af}	2.88±0.01 ^{ABf}	2.81±0.02 ^{BCf}	2.79±0.01 ^{Cg}	2.85±0.04
Ort.	3.44±0.41	3.39±0.42	3.26±0.44	3.19±0.46	3.28±0.44	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.46 Dondurularak depolanan uskumru filetolarının toplam aerob psikrofil bakteri sayısındaki değişim

Dondurularak depolanan fileto uskumrularda TAPB sayısı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto halde dondurularak depolanan örneklerde depolamanın başlangıcında 4.12-4.18 arasında değişen TAPB yükü, 6 aylık depolama süresi sonunda 2.79-2.89 düzeylerine düşmüştür. Başlangıçta oluşturulan gruplar arasında önemli bir farklılık gözlenmezken, 1. aydan itibaren antioksidanların etkilerini göstererek TAPB yükünü etkiledikleri belirlenmiştir. Depolamanın 1. ve 2. aylarında ÜÇE ve NKE; 3. ve 4. aylarında NKE; 5. ayında ise ÜÇE, NKE ve BHT'nin TAPB yükünü sınırladığı tespit

edilmiştir. 6. ay sonunda YÇE (2.89) içeren balıkların en yüksek, BHT (2.79) ile muamele edilen grubun ise en düşük TAPB yüküne sahip olduğu belirlenmiştir. TAPB sonuçları dikkate alındığında, dondurularak depolama süresince TAPB yükünün etkili bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir ($P<0.01$).

Uljas ve Ingham (1999), dondurma işlemi sırasında buz kristallerinin bakterilerin hücre zarlarına zarar vermesinden dolayı, dondurarak depolamada psikrofilik bakteri sayısının azaldığını belirlemişlerdir. Balıkta gıda güvenliği açısından izin verilen maksimum mikrobiyal yük $7.0 \log_{10} \text{KOB/g}$ 'dır (Anonymous 1986). Bu açıdan bakıldığında, yapılan tüm uygulamaların ve dondurularak depolama işleminin gıda güvenliği açısından etkili bir yöntem olduğu da görülmektedir.

4.6.5 Heme demir miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen heme demir miktarları mg/100 g et olarak çizelge 4.58'de ve şekil 4.47'de görülmektedir. Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının demir miktarları incelendiğinde, uzayan depolama süresine bağlı önce bir azalma, daha sonra ise tekrar bir artış olduğu görülmektedir. Uskumru filetolarında depolama başlangıcında heme demir miktarı ortalama 6.59 mg, 6 ay sonra ise ortalama 2.33 mg bulunmuştur. Antioksidan uygulamasının da balıkların heme demir miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların heme demir miktarının (2.25 mg) diğer gruplardan düşük, BHT ile muamele edilen balıkların (2.90 mg) ise yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Dondurularak depolanan fileto uskumrularında heme demir miktarı depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonuna bağlı olarak değişim göstermiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarından YÇE, ÜÇE, NKE ve BHT uygulanan balıklarda depolama süresinin ilk 5 ayında heme demir içeriğinin önemli düzeyde azaldığı, 6. ayda ise tekrar artış gösterdiği; K grubu balıklarda ise azalmanın 4. aya kadar devam ettiği ve bu aydan

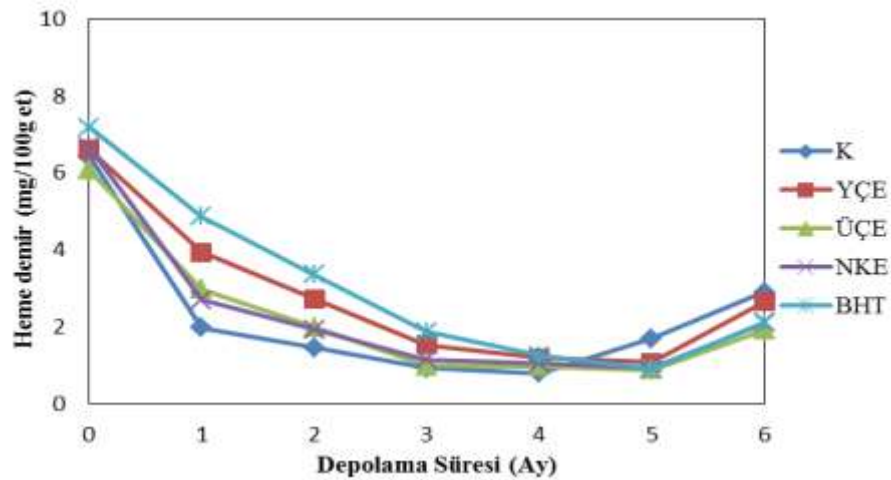
sonra tekrar yükseldiği belirlenmiştir ($P<0.01$). Fileto halde dondurularak depolanan uskumru balıklarında depolama süresinin başında BHT (7.18 mg) uygulanan örneklerin diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek, ÜÇE (6.07 mg) uygulanan balıkların ise en düşük heme demir içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir ($P<0.01$). Yapılan 6 aylık donmuş depolama sonrasında ise K ve YÇE içeren grupların diğer gruplara göre daha yüksek heme demir içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama sonunda belirlenen heme demir miktarlarına bağlı olarak K ile YÇE uygulanan balıklar arasında ve ÜÇE, NKE ile BHT uygulanan gruplar arasında önemli bir farklılık olmadığı da saptanmıştır ($P>0.01$).

Çizelge 4.58 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	6.41±0.28 ^{Ba}	6.61±0.12 ^{Ba}	6.07±0.05 ^{Ca}	6.66±0.14 ^{Ba}	7.18±0.15 ^{Aa}	6.59±0.40
1	1.97±0.03 ^{Dc}	3.92±0.13 ^{Bb}	2.97±0.03 ^{Cb}	2.70±0.09 ^{Cb}	4.86±0.17 ^{Ab}	3.29±1.06
2	1.10±0.11 ^{Bd}	1.97±0.02 ^{Ad}	1.95±0.04 ^{Ac}	1.87±0.02 ^{Ac}	2.16±0.09 ^{Ac}	1.81±0.39
3	0.92±0.00 ^{Cde}	1.52±0.01 ^{Be}	0.98±0.00 ^{Cd}	1.15±0.02 ^{Cd}	1.86±0.05 ^{Ac}	1.29±0.38
4	0.78±0.08 ^{Be}	1.18±0.04 ^{Af}	0.97±0.03 ^{ABd}	1.04±0.00 ^{ABd}	1.25±0.00 ^{Ad}	1.04±0.17
5	1.69±0.05 ^{Ac}	1.07±0.02 ^{Bf}	0.88±0.02 ^{Bd}	0.93±0.03 ^{Bd}	0.90±0.02 ^{Be}	1.09±0.32
6	2.90±0.04 ^{Ab}	2.65±0.02 ^{Ac}	1.91±0.24 ^{Bc}	2.08±0.14 ^{Bc}	2.12±0.34 ^{Bc}	2.33±0.42
Ort.	2.25±1.90	2.70±1.91	2.25±1.78	2.35±1.93	2.90±2.19	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-f) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.47 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun heme demir miktarındaki değişim

Fisher ve Deng (1977) tarafından yapılan bir araştırmada, yayın balığı filetolarında 0.72 mg/100g et düzeyinde heme demir bulunduğu ve balıklardaki toplam demirin %25-44'nün heme demir olduğu ortaya konmuştur. Lue vd. (1981), uskumrunun tüketilebilir kısımlarında 1.2 mg/100g düzeyinde demir bulunduğunu tespit etmiştir. Gomez-Basauri ve Regenstein (1992a,b), uskumru filetolarının toplam demir miktarının 0.7-0.9 mg/100g düzeyinde olduğunu ve toplam demirin % 46-65'inin heme demir olduğunu göstermişlerdir. Chaijan vd. (2005) sardalya kaslarında 3.36 mg/100g kas, uskumru kaslarında 4.68 mg/100g düzeyinde heme demir olduğunu tespit etmişlerdir. Benjakul ve Bauer (2001) dondurma ve çözündürme işlemlerinin etin heme demir içeriğini azalttığını belirlemişlerdir.

Serbest radikal yakalama aktivitesinin yanı sıra, üzüm flavonoidleri metalleri kelatlayarak metaller tarafından katalizlenen lipid oksidasyonunu önlerler (Pazos vd. 2006). Bu durum özellikle kasa birlikte kanın da homojenize edildiği kıyma balık etinde oldukça önemlidir. Çünkü kanın yapısında bulunan hemoglobinin balık kaslarında meydana gelen lipid oksidasyonunda en güçlü endojen katalisttir (Richards vd. 2002). Hemoglobinin katalize ettiği lipid oksidasyonu için pH değeri oldukça önemlidir. pH değerinin 6.5'in altında olması durumunda hemoglobin pro-oksidatif etki gösterir. Uskumru gibi pelajik balıkların sahip oldukları düşük post mortem pH değerleri hemoglobinin deoksijenasyonuna neden olur (Sanchez-Alonso vd. 2008). Richards ve Hultin (2000), pH değerinin 7.2'den 6.0'ya düşmesi durumunda heme proteinlerin oksidasyonuna bağlı olarak ransidite ve TBARM miktarındaki artışı gösteren lag fazın kısaldığını belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada, dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının tüm depolama süresince pH değerleri 6.01-6.51 arasında değişim göstermiştir. Bu pH değerine bağlı olarak da balık kaslarındaki hemoglobinin pro-oksidatif etki gösterebileceği; uzayan depolama süresine bağlı olarak lipidlerde ve proteinlerde meydana gelen oksidatif reaksiyonların katalizlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

4.6.6 Toplam volatil baz nitrojeni (TVB-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen TVB-N miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.59'da ve şekil 4.48'de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak uskumru filetolarının TVB-N miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 22.06 mg düzeyinde olan TVB-N miktarının yapılan 6 aylık donmuş depolama sonrasında 33.72 mg düzeyine yükseldiği belirlenmiştir. Antioksidan uygulamasının da balıkların TVB-N miktarları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak antioksidan uygulanmayan balıkların TVB-N miktarının (29.17 mg) diğer gruplardan yüksek, BHT ile muamele edilen balıkların (25.17 mg) ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.59 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

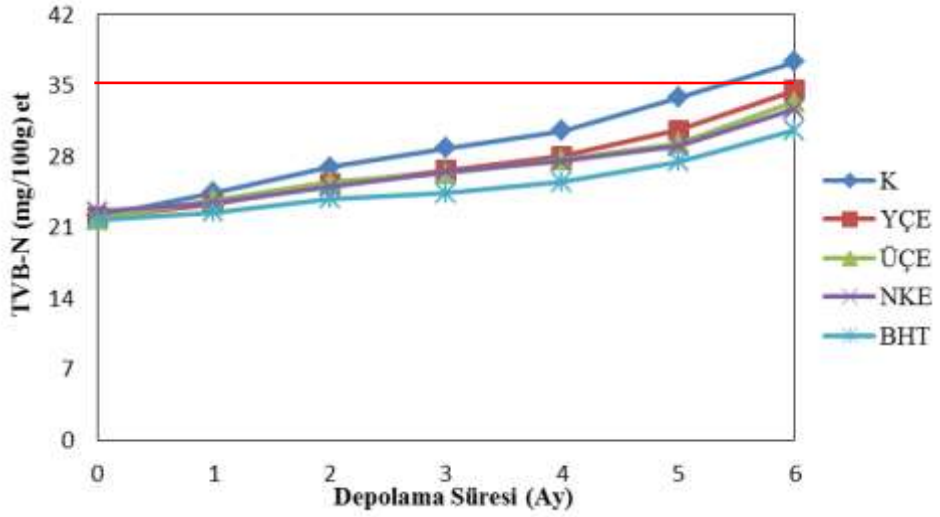
Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
0	22.13±0.35 ^{Ag}	22.02±0.95 ^{Ag}	21.88±0.09 ^{Ag}	22.57±0.40 ^{Ag}	21.70±0.28 ^{Ae}	22.06±0.49
1	24.48±0.08 ^{Af}	23.28±0.20 ^{BCf}	23.74±0.33 ^{ABf}	23.49±0.56 ^{Bf}	22.54±0.17 ^{Ce}	23.51±0.70
2	26.96±0.04 ^{Ae}	25.34±0.02 ^{Be}	25.50±0.01 ^{Be}	25.04±0.30 ^{Be}	23.84±0.21 ^{Cd}	25.34±1.06
3	28.87±0.02 ^{Ad}	26.64±0.10 ^{Bd}	26.38±0.22 ^{Bd}	26.55±0.54 ^{Bd}	24.43±0.28 ^{Cd}	26.57±1.50
4	30.58±0.17 ^{Ac}	28.08±0.05 ^{Bc}	27.69±0.26 ^{Bc}	27.54±0.18 ^{Bc}	25.53±0.55 ^{Cc}	27.88±1.72
5	33.82±0.17 ^{Ab}	30.59±0.21 ^{Bb}	29.36±0.30 ^{Cb}	29.02±0.01 ^{Cb}	27.54±0.46 ^{Db}	30.07±2.24
6	37.37±0.25 ^{Aa}	34.55±0.06 ^{Ba}	33.39±0.31 ^{Ca}	32.70±0.20 ^{Da}	30.58±0.52 ^{Ea}	33.72±2.37
Ort.	29.17±5.08	27.21±4.17	26.85±3.65	26.70±3.34	25.17±2.96	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında TVB-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 4). Uzayan depolama süresine bağlı olarak örneklerin TVB-N miktarında artış olduğu görülmektedir. Fileto halde dondurularak depolanan uskumru balığında depolama süresinin başında 21.70-22.57 mg arasında değişen TVB-N miktarı 6 aylık depolama süresi sonunda 30.58-37.37 mg düzeyine yükselmiştir. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında herhangi bir farklılık olmadığı (P>0.01), antioksidanların depolamanın ilk ayından itibaren etkilerini göstererek TVB-N oluşumunu sınırlandırdıkları belirlenmiştir. BHT uygulanan örneklerin depolamanın 1.

ayından itibaren belirlenen TVB-N miktarlarının diğer uygulamalardan düşük olduğu Çizelge 4.59’da görülmektedir ($P<0.01$). Depolama süresi sonunda ise K grubu (37.37 mg) balıkların en yüksek TVB-N miktarına sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (34.55 mg), ÜÇE (33.39 mg), NKE (32.70 mg) ve BHT (30.58 mg) ile muamele edilen balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).



Şekil 4.48 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam volatil baz nitrojeni miktarındaki değişim

TVB-N miktarının 35-40 mg/100 g et düzeylerine ulaşması durumunda balığın bozulduğu kabul edilirse; yapmış olduğumuz çalışmada, donmuş depolama esnasında bu sınırın aşılmadığı, 6 aylık depolama sonrasında balığın TVB-N değeri açısından tüketime uygun olduğu belirlenmiştir.

4.6.7 Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen TMA-N miktarları, mg/100 g et olarak çizelge 4.60’da ve şekil 4.49’da görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak balıkların TMA-N miktarlarının arttığı ve yapılan farklı uygulamalar arasındaki ise farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcında 0.46 mg düzeyinde olan TMA-N miktarının yapılan 6 aylık donmuş depolama sonrasında 2.51 mg düzeyine yükseldiği belirlenmiştir.

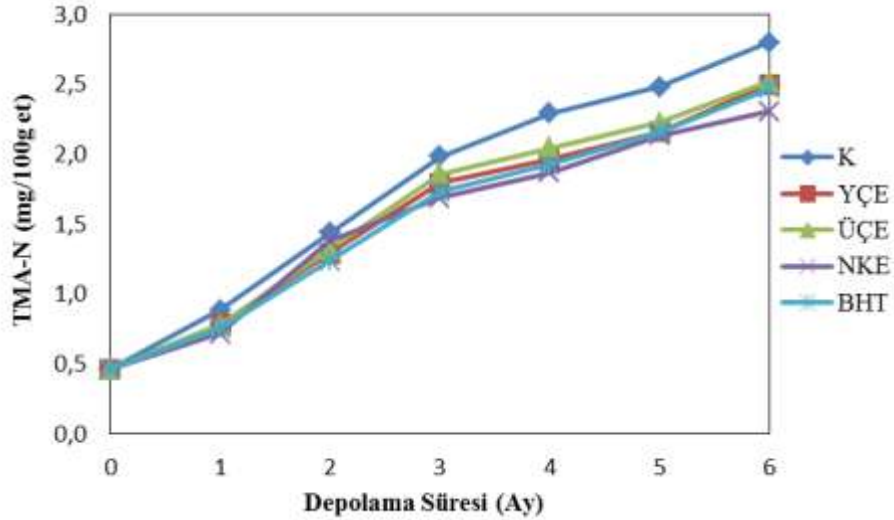
Depolama süresince K grubuna ait uskumruların TMA-N miktarlarının diğer gruplardan yüksek, BHT uygulanan balıkların ise düşük olduğu çizelge 4.60’da görülmektedir.

Çizelge 4.60 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarına (mg/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort.
	Kontrol	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	0.46±0.01 ^{Ag}	0.46±0.01 ^{Ag}	0.46±0.01 ^{Ag}	0.46±0.01 ^{Ag}	0.46±0.01 ^{Ag}	0.46±0.01
1	0.89±0.01 ^{Af}	0.79±0.02 ^{Bf}	0.78±0.00 ^{Bf}	0.72±0.02 ^{Cf}	0.56±0.01 ^{De}	0.75±0.11
2	1.67±0.01 ^{Ae}	1.40±0.01 ^{Be}	1.33±0.02 ^{Be}	1.38±0.02 ^{Be}	1.16±0.00 ^{Cd}	1.39±0.17
3	1.98±0.02 ^{Ad}	1.79±0.01 ^{Bd}	1.86±0.02 ^{Bd}	1.69±0.01 ^{Cd}	1.57±0.01 ^{Dc}	1.78±0.05
4	2.29±0.00 ^{Ac}	1.96±0.03 ^{Cc}	2.04±0.06 ^{Bc}	1.86±0.01 ^{Dc}	1.63±0.01 ^{Ec}	1.96±0.07
5	2.48±0.01 ^{Ab}	2.16±0.03 ^{Cb}	2.22±0.01 ^{Bb}	2.13±0.04 ^{Cb}	1.88±0.03 ^{Db}	2.17±0.21
6	3.16±0.01 ^{Aa}	2.50±0.02 ^{Ba}	2.52±0.01 ^{Ba}	2.31±0.03 ^{Ca}	2.05±0.06 ^{Da}	2.51±0.39
Ort.	1.85±0.90	1.58±0.71	1.60±0.74	1.51±0.67	1.33±0.60	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.49 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun trimetilamin nitrojeni miktarındaki değişim

Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında TMA-N miktarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir (P<0.01, EK 4 Çizelge 4). Başlangıçta 0.46 mg olan uskumru filetolarının TMA-N miktarı depolama sonunda 2.05-3.16 mg seviyesine ulaşmıştır. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında herhangi bir farklılık olmadığı (P>0.01),

antioksidanların depolamanın ilk ayından itibaren etkilerini göstererek TMA-N oluşumunu sınırlandırdıkları belirlenmiştir. Depolama süresinin sonunda belirlenen TMA-N miktarına göre, K grubuna ait balıkların TMA-N, diğerlerine göre yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). K grubunu (3.16 mg) sırasıyla ÜÇE (2.52 mg), YÇE (2.50 mg), NKE (2.31 mg) ve BHT (2.05 mg) ile muamele edilen balıklar izlemiştir ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar, 6 ay süre ile dondurularak depolanan fileto uskumruların TMA-N açısından tüketime uygun olduklarını göstermektedir.

4.6.8 Duyusal değerlendirme

Hazırlanan fileto uskumrular donmuş depolama süresince çiğ olarak duyusal analize tabi tutulmuş, duyusal analizde örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Koku özelliği; taze balık, ransit, yağı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden değerlendirilmiştir. Fileto halde dondurularak depolanan balıkların duyusal analiz sonuçları çizelge 4.61’de verilmiştir. Dondurularak depolanan fileto uskumrularda depolama süresince belirlenen duyusal puanlarda meydana gelen değişimler ise şekil 4.50’de görülmektedir.

Farklı bitkisel ekstrakt kaynakları uygulanan uskumru filetolarında duyusal değerlendirmesi yapılan özellikler açısından depolama süresi ve uygulamanın etkili olduğu belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların taze balık, ransit, yağı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden aldıkları puanlar azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise antioksidan ilavesiz K grubuna ait balıkların taze balık, ransit, yağı ve boya kokusu açısından diğer gruplardan daha düşük; kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu yönünden ise daha yüksek duyusal puanlar aldığı görülmektedir. Taze balık, ransit, yağı ve boya koku özellikleri açısından BHT uygulanan balıkların diğer uygulamalardan daha yüksek puanlar aldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.61 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun duyuşsal analiz sonuçlarına farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

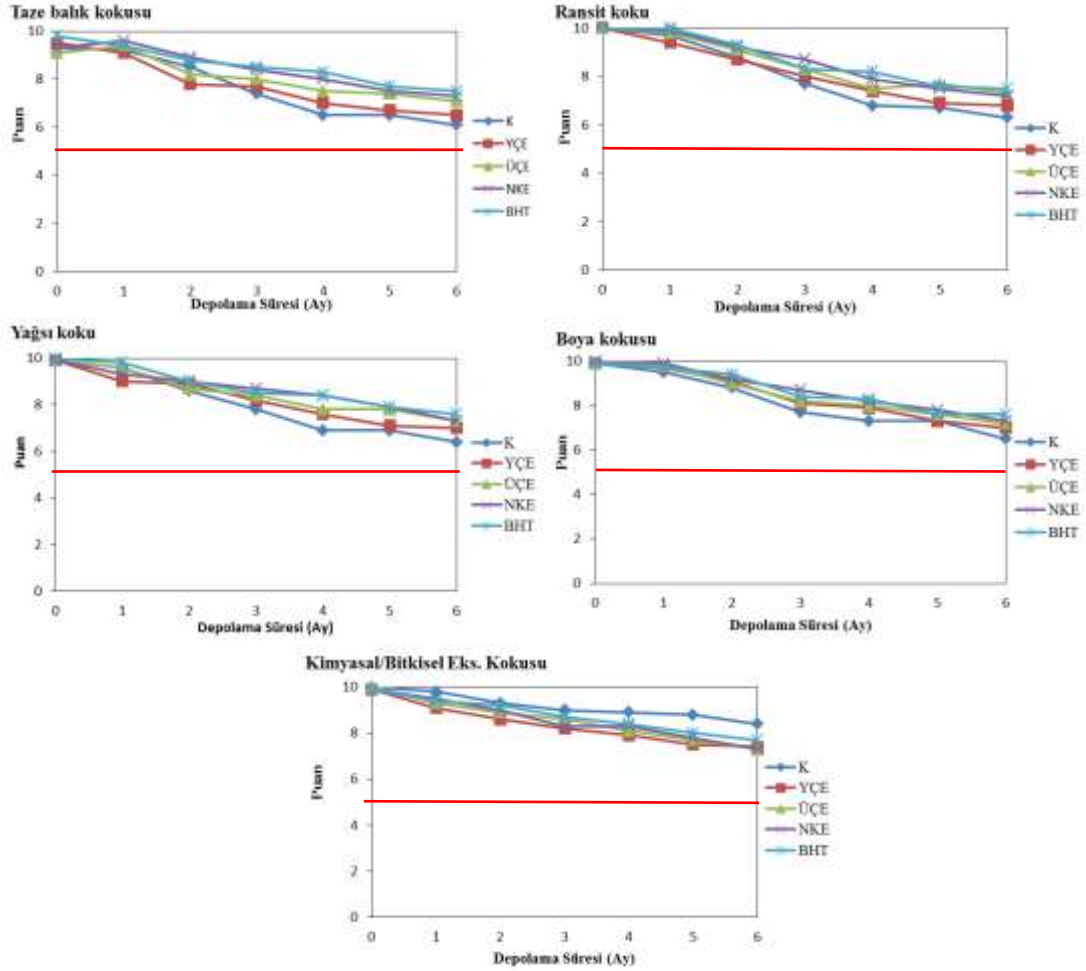
	Uyg.	Süre (ay)							
		0	1	2	3	4	5	6	Ort
Taze balık kokusu	K	9.3 ^{ABa}	9.2 ^{Aa}	8.5 ^{ABb}	7.4 ^{Bc}	6.5 ^{Dd}	6.5 ^{Bd}	6.1 ^{Cd}	7.6 ^C
	YÇE	9.5 ^{ABa}	9.1 ^{Aa}	7.8 ^{Cb}	7.7 ^{Bb}	7.0 ^{CDc}	6.7 ^{Bc}	6.5 ^{BCc}	7.8 ^C
	ÜÇE	9.1 ^{Ba}	9.4 ^{Aa}	8.2 ^{BCb}	8.0 ^{ABbc}	7.5 ^{BCcd}	7.4 ^{Ac}	7.1 ^{ABd}	8.1 ^B
	NKE	9.3 ^{ABab}	9.6 ^{Aa}	8.9 ^{Abc}	8.4 ^{Ac}	8.0 ^{ABde}	7.5 ^{Aef}	7.3 ^{Af}	8.4 ^A
	BHT	9.8 ^{Aa}	9.4 ^{Aab}	8.8 ^{ABbc}	8.5 ^{Ac}	8.3 ^{Ac}	7.7 ^{Ade}	7.5 ^{Ae}	8.6 ^A
	Ort	9.4 ^a	9.3 ^a	8.4 ^b	8.0 ^c	7.5 ^d	7.2 ^e	6.9 ^e	
Ransit koku	K	10.0 ^{Aa}	9.7 ^{ABa}	8.8 ^{BCb}	7.7 ^{Cc}	6.8 ^{Dd}	6.7 ^{Bde}	6.3 ^{Ce}	8.0 ^B
	YÇE	10.0 ^{Aa}	9.4 ^{Bb}	8.7 ^{Cc}	8.0 ^{BCd}	7.4 ^{Ce}	6.9 ^{Bf}	6.8 ^{Bf}	8.2 ^B
	ÜÇE	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{ABa}	9.1 ^{ABCb}	8.3 ^{ABc}	7.5 ^{BCd}	7.7 ^{Ad}	7.3 ^{Ad}	8.5 ^A
	NKE	10.0 ^{Aa}	9.9 ^{Aa}	9.2 ^{ABb}	8.7 ^{Ac}	7.9 ^{ABd}	7.5 ^{Ade}	7.2 ^{ABe}	8.6 ^A
	BHT	10.0 ^{Aa}	10.0 ^{Aa}	9.3 ^{Ab}	8.3 ^{ABc}	8.2 ^{Ac}	7.6 ^{Ad}	7.5 ^{Ad}	8.7 ^A
	Ort	10.0 ^a	9.8 ^a	9.0 ^b	8.2 ^c	7.6 ^d	7.3 ^e	7.0 ^e	
Yağsı koku	K	9.9 ^{Aa}	9.6 ^{ABa}	8.6 ^{Ab}	7.8 ^{Bc}	6.9 ^{Cd}	6.9 ^{Bd}	6.4 ^{Bd}	8.0 ^C
	YÇE	9.9 ^{Aa}	9.0 ^{Bb}	8.9 ^{Ab}	8.2 ^{ABc}	7.6 ^{Bcd}	7.1 ^{Bd}	7.0 ^{ABd}	8.2 ^C
	ÜÇE	9.9 ^{Aa}	9.6 ^{ABa}	8.7 ^{Ab}	8.4 ^{ABbc}	7.8 ^{ABcd}	7.8 ^{Ac}	7.3 ^{Ad}	8.5 ^B
	NKE	9.9 ^{Aa}	9.3 ^{ABab}	9.0 ^{Ab}	8.7 ^{Ab}	8.4 ^{Ac}	7.9 ^{Ac}	7.3 ^{Ac}	8.6 ^{AB}
	BHT	10.0 ^{Aa}	9.8 ^{Aa}	9.0 ^{Ab}	8.5 ^{Abc}	8.4 ^{Abc}	7.9 ^{Ac}	7.6 ^{Ad}	8.7 ^A
	Ort	9.9 ^a	9.5 ^b	8.8 ^c	8.3 ^d	7.8 ^e	7.5 ^f	7.1 ^g	
Boya kokusu	K	9.9	9.5	8.8	7.7	7.3	7.3	6.5	8.1 ^C
	YÇE	9.9	9.7	9.1	8.1	7.9	7.3	7.0	8.4 ^B
	ÜÇE	9.9	9.8	9.0	8.2	8.0	7.6	7.2	8.5 ^{AB}
	NKE	10.0	9.9	9.2	8.7	8.2	7.8	7.3	8.7 ^A
	BHT	9.9	9.7	9.4	8.4	8.3	7.6	7.6	8.7 ^A
	Ort	9.9 ^a	9.7 ^a	9.1 ^b	8.2 ^c	7.9 ^d	7.5 ^e	7.1 ^f	
Kimyasal/ Bitkisel ekstrakt kokusu	K	10.0	9.8	9.3	9.0	8.9	8.8	8.4	9.2 ^A
	YÇE	9.9	9.1	8.6	8.2	7.9	7.5	7.4	8.4 ^C
	ÜÇE	10.0	9.3	8.9	8.6	8.1	7.7	7.3	8.6 ^{BC}
	NKE	9.9	9.5	9.0	8.3	8.3	7.8	7.3	8.6 ^{BC}
	BHT	9.9	9.4	9.2	8.7	8.4	8.0	7.7	8.8 ^B
	Ort	9.9 ^a	9.4 ^b	9.0 ^c	8.6 ^d	8.3 ^d	8.0 ^e	7.6 ^f	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (a-e) (Taze balık kokusu ve yağsı koku için $P<0.01$; Ransit koku için $P<0.05$) ve her bir sütunda (A-D) (Taze balık kokusu ve yağsı koku için $P<0.01$; Ransit koku için $P<0.05$) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında taze balık kokusu, ransit koku ve yağsı koku özelliklerinde meydana gelen değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonu önemlidir ($P<0.01$, $P<0.05$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresince taze balık kokusu özelliği açısından NKE ve BHT uygulamaları ile K ve YÇE uygulaması arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Ransit koku özelliği açısından K ve YÇE uygulaması ile ÜÇE, NKE ve BHT uygulamaları arasında farklılık yoktur ($P>0.01$). Yağsı koku özelliği açısından K ve YÇE uygulanan balıklar arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.01$). Boya kokusu özelliği incelendiğinde ise en

düşük duyusal puanı K grubu balıkların aldığı tespit edilmiştir ($P>0.01$). Kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu açısından ise antioksidan ilave edilmeyen uskumruların daha yüksek puanlar aldığı belirlenmiştir ($P<0.01$).



Şekil 4.50 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun duyusal puanlarındaki değişim

Depolama süresince taze balık kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda taze balık kokusunun algılandığı belirlenmiştir. Depolama süresinin başında ÜÇE uygulanan filetolar en düşük, BHT uygulanan uskumrular ise en yüksek duyusal puana sahiptir ($P<0.01$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan taze balık kokusu azalmıştır. Donmuş depolamanın 6. ayında ise taze balık kokusu açısından BHT uygulanan uskumruların en yüksek puanı aldığı görülmektedir ($P<0.01$).

Depolama süresince ransit koku yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, depolamanın başlangıcında oluşturulan tüm gruplarda ransit kokunun algılanmadığı ve gruplar arasında farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan ransit koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolamanın 6. ayında K grubuna ait balıklarda belirlenen ransit koku puanları diğer uygulamalardan düşük; BHT uygulanan balıklarda ise yüksektir ($P<0.05$).

Depolama başlangıcında yağsı koku hiç algılanmadığından tüm gruplara verilen puan ortalamaları 9.90-10.00 arasında değişmiştir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak panelistler tarafından algılanan yağsı koku artmış ve buna bağlı olarak panelistler tarafından verilen puanlar azalmıştır. Depolama süresince yağsı kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, antioksidan içermeyen K grubuna ait balıkların depolamanın 6. ayında diğer uygulamalardan daha düşük puan ortalamasına sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Oksidasyonun düzeyini belirlemek üzere boya kokusu yönünden değerlendirme yapılmıştır. Depolama başlangıcında boya kokusu, yapılan hiçbir uygulamada algılanmadığı için tüm gruplara verilen puan ortalamaları 9.9-10.0 arasında değişmiştir. İlerleyen depolama süresine ve artan oksidatif reaksiyonlara bağlı olarak boya kokusunun arttığı belirlenmiştir. Depolama süresince boya kokusu yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde, antioksidan içermeyen K grubuna ait balıkların depolamanın 6. ayında aldığı puanların diğer uygulamalardan düşük olduğu belirlenmiştir.

Depolama başlangıcında antioksidan uygulanan ve uygulanmayan uskumrulara kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu algılanmamış, ancak ilerleyen depolama süresine bağlı olarak kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu hissedilmiştir. Depolama süresine bağlı olarak kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusunda çok az değişim meydana gelmiş olup, depolamanın 6. ayında kontrol grubunun en yüksek puanı almış olduğu saptanmıştır.

Dondurularak depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise, taze balık, ransit, yağsı ve boya koku özellikleri yönünden K grubu balıklara daha düşük puanlar verildiği belirlenmiştir. Bu durum antioksidan ilavesinin balıklarda istenmeyen ransit koku oluşumunu azaltması ile açıklanabilir.

4.6.9 Lipid oksidasyonunun izlenmesi

4.6.9.1 Peroksit değeri (PD)

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen PD sonuçları, meqO₂/kg lipid olarak çizelge 4.62’de ve şekil 4.51’de görülmektedir. K, YÇE ve ÜÇE uygulanan uskumru filetolarının PD sonuçlarının depolamanın 4. ayına kadar arttığı, daha sonra tekrar azaldığı tespit edilmiştir. NKE ve BHT uygulanan uskumru filetolarında ise PD depolama süresince artış göstermiştir. Depolama süresinin başlangıcında 1.07 meq olarak belirlenen PD, 4. ayda 13.63 meq düzeyine ulaşmış, 6. ayda ise 8.42 meq düzeyine azalmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, BHT uygulanan uskumru filetolarının PD’lerinin düşük (5.58 meq), antioksidan uygulanmayan K grubu balıkların PD düzeylerinin yüksek (11.94 meq) olduğu belirlenmiştir.

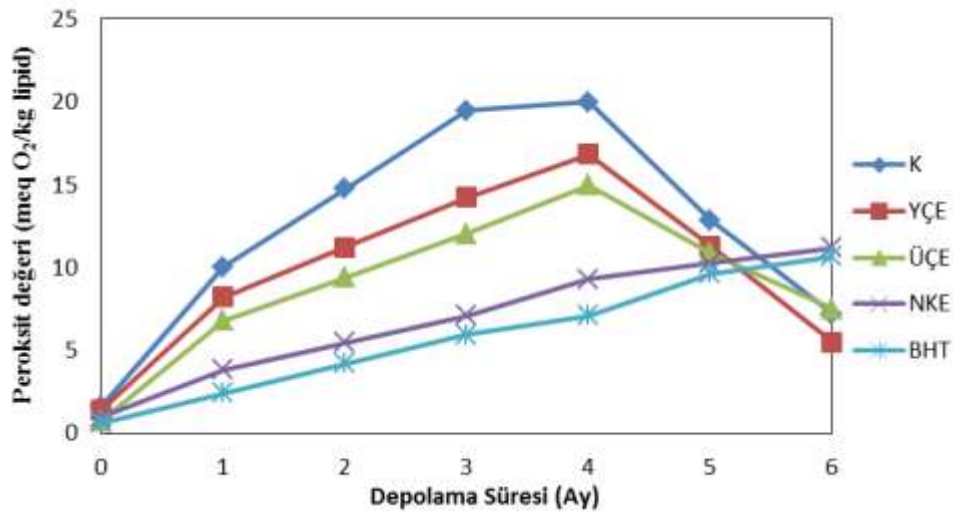
Çizelge 4.62 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun peroksit değerine (meq O₂/kg lipid) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	1.62±0.30 ^{Ae}	1.40±0.07 ^{Af}	0.76±0.09 ^{Ad}	0.96±0.24 ^{Ae}	0.63±0.12 ^{Ad}	1.07±0.43
1	10.02±0.94 ^{Ac}	8.21±0.54 ^{Bd}	6.81±0.32 ^{Bc}	3.84±0.12 ^{Cd}	2.42±0.32 ^{Cc}	6.26±2.96
2	12.44±0.56 ^{Ab}	6.73±0.02 ^{Bde}	7.14±0.12 ^{Bc}	6.21±0.14 ^{Bc}	2.70±0.61 ^{Cc}	7.04±3.31
3	19.45±0.46 ^{Aa}	14.23±0.14 ^{Bb}	12.02±2.83 ^{Cb}	7.08±0.04 ^{Dc}	5.96±0.20 ^{Db}	11.75±5.27
4	19.99±0.54 ^{Aa}	16.83±0.54 ^{Ba}	14.97±0.48 ^{Ca}	9.29±0.75 ^{Db}	7.08±0.06 ^{Eb}	13.63±5.05
5	12.87±0.42 ^{Ab}	11.30±0.18 ^{ABc}	10.89±0.28 ^{Bb}	10.25±0.43 ^{Bab}	9.61±0.09 ^{Ba}	10.98±1.18
6	7.23±0.27 ^{Bd}	5.52±0.51 ^{Ce}	7.50±0.19 ^{Bc}	11.19±0.24 ^{Aa}	10.65±0.26 ^{Aa}	8.42±2.29
Ort.	11.94±6.27	9.17±5.11	8.59±4.47	6.97±3.53	5.58±3.67	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-B) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Dondurularak depolanan uskumru filetosunun peroksit değerlerindeki değişimlere depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresinin ilk 4 ayında K, YÇE ve ÜÇE içeren balıklarda PD artmış, 4. aydan sonra ise hızla azalmıştır. NKE ve BHT uygulanan fileto uskumru örneklerinde ise depolama süresince PD'nin arttığı gözlenmiştir. Depolama süresinin başında 1.62 meq olan K örneklerin PD, 4 ayda 19.99 meq'a yükselmiş ve 6. ayın sonunda ise 7.23 meq değerine ulaşmıştır. Depolama süresinin başında 1.40 meq olan YÇE içeren balıkların PD, 4 ayda 16.83 meq'a yükselmiş ve 6. ayın sonunda ise 5.52 meq değerine ulaşmıştır. Depolama süresinin başında 0.76 meq olan ÜÇE içeren balıkların PD, 4 ayda 14.97 meq'a yükselmiş ve 6. ayın sonunda ise 7.50 meq değerine ulaşmıştır. Depolama süresinin başında 0.96 meq olan NKE içeren balıkların PD, 6 ayda 11.19 meq'a yükselmiştir. Depolama süresinin başında 0.63 meq olan BHT ile muamele edilen balıkların PD, 6. ayın sonunda 10.65 meq'a yükselmiştir.



Şekil 4.51 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun peroksit değerindeki değişim

Dondurularak depolanan fileto balıklarda depolama süresinin başında uygulamalar arasında herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). İlerleyen depolama süresince antioksidanlar farklı düzeylerde etki göstererek PD oluşumunu etkilemişlerdir. Antioksidan uygulanan örneklerin PD'leri, K örneğine göre daha yavaş artmıştır.

Aubourg vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada dondurulmuş olarak depolanan istavrit filetoları ve balıklarında sitrik asit ve askorbik asitin lipid stabilitesi üzerine etkileri araştırılmış olup, uzayan depolama süresinin PD'ni arttırdığı belirlenmiştir. Fileto örneklerin başlangıçta 1.3 meq O₂/kg lipid olarak belirlenen PD'lerinin -20°C'de 6 ay süre ile yapılan donmuş depolama sonrasında 23.8-49.0 meq O₂/kg lipid düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir. Balık örneklerinin başlangıçta 2.21 meq olarak belirlenen PD'lerinin -20°C'de 9 ay süre ile yapılan donmuş depolama sonrasında 6.5-12.9 meq düzeyine yükseldiği gösterilmiştir. Sitrik asit ve askorbik asitin oksidasyonu önlemede etkili oldukları belirlenmiştir (Aubourg vd. 2004). Sanchez-Alonso ve Borderias (2008) tarafından yapılan çalışmada, -20°C'de depolanan kıyma istavrit kaslarında PD'nin 90. güne kadar arttığı, daha sonra ise hızla azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum peroksil radikallerinin stabil olmadıklarını göstermektedir. Kırmızı üzüm lifini içeren örneklerin PD sonuçlarının kontrol örneğine göre daha yavaş arttığı gözlenmiştir (Sanchez-Alonso ve Borderias 2008). Alghazeer vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada 26 hafta süre ile -10°C ve -80°C'de depolanan yeşil çay antioksidanlarını içeren ve içermeyen Atlantik uskumru balığında lipid peroksidasyonu incelenmiştir. Yapılan çalışmada tüm örneklerde PD'nin 16. haftaya kadar hızla arttığı, daha sonra ise azaldığı görülmüştür. En yüksek artış yeşil çay içermeyen -10°C'de depolanan örneklerde, en düşük artış ise -80°C'de depolanan yeşil çay ilavesiz örneklerde gözlenmiştir. 500 ppm konsantrasyonda uygulanan yeşil çayın 250 ppm'e göre daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durum düşük konsantrasyonda kullanılan yeşil çay ekstraktının oksidasyona karşı daha etkili olduğunu göstermektedir. Benzer durumlar daha önce yapılan çalışmalarda da gösterilmiş olup, yüksek konsantrasyonda uygulanan yeşil çayın prooksidant etkisi olduğu belirlenmiştir (Honglian ve Etsuo 2001, Alghazeer vd. 2008).

Hidroperoksitler gibi birincil lipid peroksidasyon ürünleri stabil değildirler ve aldehitler gibi çeşitli ikincil reaksiyon ürünlerine dönüşerek gıdanın ransit tat kazanmasına neden olurlar. Balıkların yakalandıkları mevsim özelliklerinin farklı olması, kaslarında bulunan yağ miktarlarının dolayısıyla da yapılarında başlangıçta bulunan oksidasyon ürünlerinin (hidroperoksitler) farklı konsantrasyonda olmasına neden olur. Lipidlerdeki birincil oksidasyon ürünlerinin başlangıç konsantrasyonları sistemdeki değişimleri engellemek amacıyla ilave edilen antioksidanın etkinliğini önemli ölçüde azaltır. Bu tip reaksiyon

ürünleri reaksiyon zincirini başlatarak lipid oksidasyonunu hızlandırır ve depolama süresinin kısalmasına neden olurlar (Yanishlieva 1973). Bu nedenle antioksidanların gıda maddesine erken ilave edilmesi oksidasyona karşı maksimum koruma sağlanması açısından önemlidir. Fenolik antioksidanların büyük ölçüde değişime uğramamış yağa ilave edilmesi durumunda indüksiyon periyodunu etkili bir şekilde uzattıkları belirlenmiştir. Ancak, zaten bozulmaya başlamış olan yağların ileri derecede bozulmasını engellemede yeterli değildirler (Mabrouk ve Dugan 1961). Peroksit değeri balık yağı gibi yüksek oranda doymamış yağ asidi içeren örneklerde oksidasyonun izlenmesi için yeterli değildir. Bu durum, peroksitlerin başlangıçta oluşan, stabil olmayan reaksiyon ürünleri olmaları ve hızla ikincil reaksiyon ürünlerine dönüşmeleri ile alakalıdır. Bu nedenle peroksit değeri diğer analiz sonuçları ile birlikte verildiğinde anlam kazanır.

4.5.9.2 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen TBARM miktarları, mg malondialdehit/kg olarak çizelge 4.63’de ve şekil 4.52’de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak TBARM miktarlarının arttığı, başlangıçta 2.20 mg düzeyinde olan TBARM miktarının donmuş depolamanın 6. ayında 7.04 mg düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TBARM miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama TBARM miktarının oluşturulan diğer gruplardan çok daha yüksek olduğu Çizelge 4.63’de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT’nin daha etkili olduğu bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan fileto uskumruların TBARM miktarlarındaki değişime depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun etkili olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 4). Donmuş depolanan fileto balıklarda depolama süresinin başında 1.84-2.46 mg düzeyinde olan TBARM miktarları 6 aylık depolama süresi sonunda 4.33-12.26 düzeyine yükselmiştir. Depolama süresinin başında en yüksek TBARM miktarına YÇE uygulanan örneklerin, en düşük TBARM miktarına ise

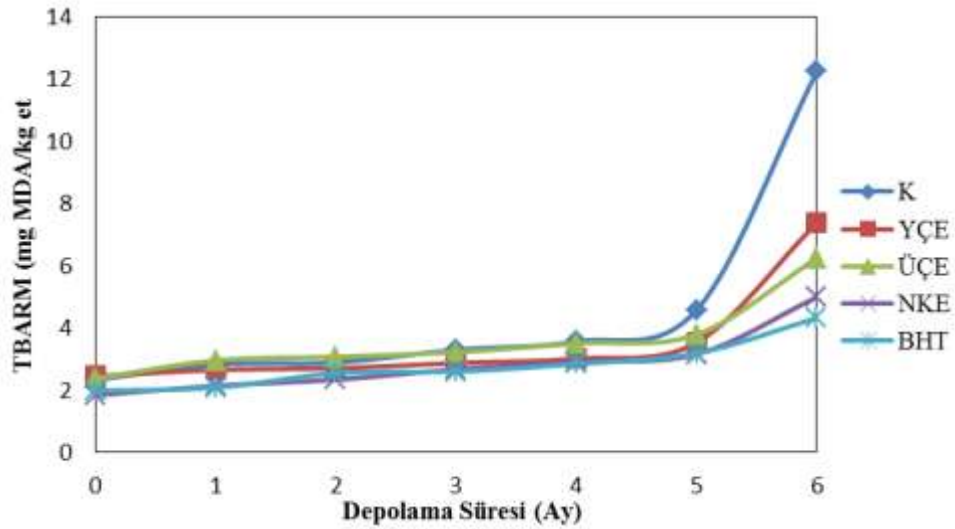
NKE'li örneklerin sahip olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda BHT (4.33 mg) ile muamele edilen balıkların diğerlerine göre daha düşük TBARM miktarına sahip olduğu, bu grubu sırasıyla NKE (5.00 mg), ÜÇE (6.25 mg), YÇE (7.38 mg) ve K grubu (12.26 mg) balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin başında ve sonunda belirlenen TBARM miktarlarına göre ÜÇE, NKE ve BHT uygulamalarının oksidasyonu sınırlandırdığı, YÇE'nin ise prooksidan etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.63 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarına (mg MDA/100 g et) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					Ort.
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	
0	2.34±0.26 ^{ABe}	2.46±0.27 ^{Ad}	2.38±0.02 ^{ABd}	1.84±0.08 ^{Bd}	1.99±0.05 ^{ABe}	2.20±0.29
1	2.83±0.04 ^{Ade}	2.66±0.37 ^{Ac}	2.96±0.47 ^{Ac}	2.15±0.02 ^{Bd}	2.09±0.01 ^{Bde}	2.54±0.43
2	2.90±0.01 ^{Ad}	2.71±0.04 ^{ABcd}	3.08±0.14 ^{Ac}	2.34±0.05 ^{Bcd}	2.55±0.08 ^{ABcd}	2.72±0.28
3	3.30±0.04 ^{Ac}	2.88±0.04 ^{ABcd}	3.22±0.05 ^{Ac}	2.67±0.06 ^{Bbc}	2.61±0.03 ^{Bcd}	2.94±0.30
4	3.57±0.04 ^{Ac}	3.01±0.05 ^{BCc}	3.51±0.13 ^{ABbc}	2.92±0.15 ^{Cb}	2.85±0.07 ^{Cbc}	3.17±0.33
5	4.59±0.25 ^{Ab}	3.54±0.02 ^{BCb}	3.79±0.02 ^{Bb}	3.16±0.15 ^{Cb}	3.19±0.01 ^{Cb}	3.65±0.56
6	12.26±0.45 ^{Aa}	7.38±0.31 ^{Ba}	6.25±0.43 ^{Ca}	5.00±0.12 ^{Da}	4.33±0.17 ^{Ea}	7.04±2.97
Ort.	4.54±3.34	3.52±1.68	3.60±1.22	2.87±1.00	2.80±0.76	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-e) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.52 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarındaki değişim

7-8 mg MDA/kg düzeyindeki TBA değerinin kabul edilebilir tazelik limitinin üst sınırı

olduğu Schormuller (1969) tarafından bildirmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler, 6 aylık donmuş depolama sonrasında antioksidan uygulanan uskumru filetolarının hala tazeliklerini koruduklarını göstermektedir. Benzer şekilde yapılan çalışmalar, farklı yöntemlerle uygulanan sentetik ya da doğal antioksidanların lipid oksidasyonunun engellenmesinde etkili olduğunu ortaya koymuştur (Tang vd. 2002, Aubourg vd. 2004, Alghazer vd. 2008, Sanchez-Alonso vd. 2008, Sanchez-Alonso ve Borderias 2008, Yerlikaya ve Gökoğlu 2010).

4.6.9.3 *para*-Anisidin değeri (*p*-Ad)

Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda donmuş depolama sırasında belirlenen *p*-Ad sonuçları Çizelge 4.64’ de ve Şekil 4.53’ de görülmektedir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak *p*-Ad düzeylerinin arttığı, başlangıçta 2.29 olan düzeyin donmuş depolamanın 6. ayında 42.82 düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının *p*-Ad üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama *p*-Ad düzeylerinin oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu Çizelge 4.64’de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT’nin daha etkili olduğu, bunu sırasıyla NKE, ÜÇE ve YÇE uygulamalarının izlediği belirlenmiştir.

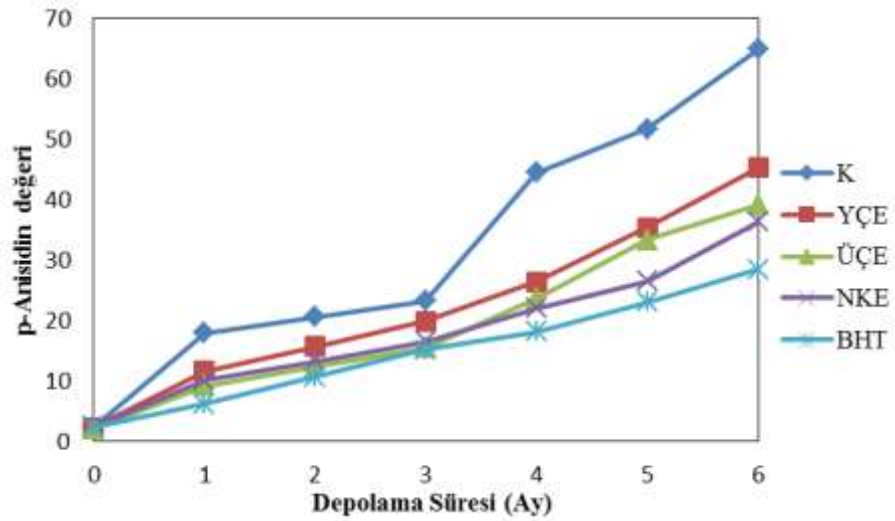
Çizelge 4.64 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun *p*-Anisidin değerine farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort
0	2.29±0.02 ^{Af}	2.27±0.05 ^{Af}	2.06±0.09 ^{Af}	2.42±0.22 ^{Ag}	2.42±0.05 ^{Ag}	2.29±0.16
1	17.92±1.10 ^{Ae}	11.55±1.48 ^{Be}	9.15±0.41 ^{Be}	10.04±1.15 ^{Bf}	6.21±0.05 ^{Cf}	10.98±4.16
2	19.16±0.46 ^{Ae}	18.24±0.16 ^{Ad}	13.05±0.18 ^{Bd}	13.12±0.44 ^{Be}	9.93±0.51 ^{Ce}	14.70±3.67
3	23.19±0.43 ^{Ad}	19.87±2.15 ^{Bd}	15.46±1.04 ^{Cd}	6.49±0.97 ^{Cd}	15.18±0.56 ^{Cd}	18.04±3.35
4	44.50±0.72 ^{Ac}	26.43±0.79 ^{Bc}	23.68±0.67 ^{Cc}	22.03±1.19 ^{Cc}	18.16±0.31 ^{Dc}	26.96±9.69
5	51.70±3.41 ^{Ab}	35.34±0.17 ^{Bb}	33.33±0.62 ^{Bb}	26.45±0.40 ^{Cb}	23.07±0.75 ^{Db}	33.98±10.52
6	64.92±1.36 ^{Aa}	45.26±0.74 ^{Ba}	39.20±1.69 ^{Ca}	36.29±0.81 ^{Da}	28.43±0.33 ^{Ea}	42.82±13.00
Ort.	31.95±21.34	22.71±13.90	19.42±12.82	18.12±10.79	14.77±8.92	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-E) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Dondurularak depolanan uskumru filetolarının *p*-Ad sonuçlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun etkilidir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto halde dondurularak depolanan uskumru balıklarının *p*-Ad düzeylerinin depolama süresince arttığı belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin başında oluşturulan grupların *p*-Ad sonuçlarının 2.06-2.42 arasında değiştiği ve 0. gün analiz sonuçları incelendiğinde uygulamalar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.01$). Antioksidan kaynakları depolamanın 1. ayından itibaren etkilerini göstererek *p*-Ad oluşumunu sınırlandırmışlardır. Depolama süresince BHT'nin diğer uygulamalardan daha etkili olduğu çizelge 4.64'de görülmektedir ($P<0.01$). 6 aylık donmuş depolamadan sonra *p*-Ad 28.43-64.92 arasına yükselmiştir. Depolama süresi sonunda K (64.92) örneklerin en yüksek *p*-Ad düzeyine ulaştığı, bunu sırasıyla YÇE (45.26), ÜÇE (39.20), NKE (36.29) ve BHT (28.43) uygulanan balıkların izlediği belirlenmiştir ($P<0.01$).



Şekil 4.53 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun *p*-Anisidin değerindeki değişim

Dondurularak depolanan palamut filetolarında yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstraktlarının etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, palamut filetolarının başlangıç *p*-Ad düzeyi 0.40 olarak belirlenmiştir (Yerlikaya ve Gökoğlu 2010). *p*-Ad, aldehit bileşiklerinin miktarına ve yapısına bağlıdır. *p*-Ad analizinde oluşan rengin yoğunluğu di-doymamış aldehitler varlığında mono-doymamış aldehitlere göre daha yüksektir. Lipid oksidasyonunun birincil reaksiyon ürünlerinin (hidroperoksitler), ikincil reaksiyon ürünlerine (karboniller)

dönüşmesi ile *p*-Ad artar. Bu durum lipid oksidasyonunun ileri düzeyde olduğunu gösterir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak lipidlerde meydana gelen değişimlerin *p*-Ad' nin artmasına neden olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise sentetik antioksidan kaynağının diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiştir.

4.6.9.4 Yağ asitleri dağılımı

Dondurularak depolanan uskumru filetolarının depolama süresince belirlenen yağ asidi dağılımları sırasıyla çizelge 4.65' de verilmiştir.

Çizelge 4.65 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%)

Yağ asidi	Çıkış zamanı (dakika)	Uygulama	Süre (ay)		
			0	3	6
Miristik asit (C14:0)	4.40	K	1.67	2.19	2.97
		YÇE	2.25	2.32	3.00
		ÜÇE	1.34	1.85	2.18
		NKE	1.61	1.94	2.24
		BHT	1.65	2.32	2.91
Palmitik asit (C16:0)	6.37	K	23.96	24.93	26.10
		YÇE	23.02	25.95	27.43
		ÜÇE	24.26	24.99	26.07
		NKE	24.28	25.67	26.28
		BHT	23.74	25.45	26.41
Palmitoleik asit (C16:1)	6.75	K	4.16	4.60	5.36
		YÇE	3.70	4.56	4.85
		ÜÇE	2.87	3.54	4.23
		NKE	2.87	3.40	4.44
		BHT	2.49	3.32	4.69
Stearik asit (C18:0)	10.03	K	6.40	7.61	8.38
		YÇE	6.46	7.52	8.32
		ÜÇE	6.65	7.49	8.90
		NKE	6.64	7.72	8.87
		BHT	6.68	7.53	8.09
Oleik asit (C18:1 n-9)	10.77	K	25.60	26.67	28.86
		YÇE	25.21	26.50	28.31
		ÜÇE	25.58	26.91	29.81
		NKE	25.37	27.26	28.95
		BHT	25.47	26.96	28.38
Linoleik asit (C18:2 n-9)	12.16	K	1.09	1.21	1.47
		YÇE	1.35	1.91	1.82
		ÜÇE	1.38	1.82	1.91
		NKE	1.21	1.41	1.66
		BHT	1.28	1.49	1.83

Çizelge 4.65 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda depolama süresince belirlenen yağ asitleri dağılımı (%) (devam)

Eikosaenoik asit (C20:1)	18.04	K	1.89	2.44	2.81
		YÇE	1.93	2.47	3.03
		ÜÇE	1.69	2.35	3.22
		NKE	1.06	1.80	2.75
		BHT	1.64	2.47	3.47
Eikosatrienoik asit (C20:3)	23.82	K	2.20	2.30	1.98
		YÇE	2.01	2.33	2.80
		ÜÇE	1.60	2.10	2.77
		NKE	1.80	2.32	2.96
		BHT	1.89	2.19	2.99
Eikosapentaenoik asit (C20:5)	28.75	K	5.12	4.29	3.94
		YÇE	5.53	4.43	3.36
		ÜÇE	5.66	4.24	3.69
		NKE	5.67	4.65	3.77
		BHT	5.77	4.65	3.65
Dokosapentaenoik asit (DPA) (C22:5 n-3)	51.84	K	1.41	1.72	1.97
		YÇE	1.15	1.76	1.92
		ÜÇE	1.16	1.19	1.45
		NKE	1.42	1.46	1.70
		BHT	1.22	1.64	1.81
Dokosaheksaenoik asit (DHA) (C22:6 n-3)	56.52	K	26.49	22.02	19.19
		YÇE	27.40	20.25	15.18
		ÜÇE	27.80	23.53	15.78
		NKE	28.08	22.38	16.38
		BHT	28.19	21.99	15.79
DYA	-	K	32.04	34.74	37.44
		YÇE	31.73	35.79	38.75
		ÜÇE	32.24	34.33	37.15
		NKE	32.53	35.32	37.38
		BHT	32.07	35.30	37.41
TDYA	-	K	31.65	33.72	37.02
		YÇE	30.84	33.54	36.19
		ÜÇE	30.14	32.80	37.25
		NKE	29.29	32.46	36.15
		BHT	29.60	32.74	36.53
ÇDYA	-	K	36.31	31.54	25.54
		YÇE	37.44	30.68	25.06
		ÜÇE	37.62	32.88	25.60
		NKE	38.18	32.22	26.47
		BHT	38.34	31.95	26.06

DYA: Doymuş yağ asitleri toplamı, TDYA: Tekli doymamış yağ asitleri toplamı, ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri toplamı.

Yapılan bu çalışmada, uskumru filetolarının palmitik asit, oleik asit ve dokosaheksaenoik asit yağ asitlerini yüksek oranda içerdiği belirlenmiştir. Dondurularak depolanan uskumru filetolarının depolanması süresince miristik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, eikosaenoik asit, eikosatrienoik asit ve dokosapentaenoik asit miktarı artmış; eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asit miktarı azalmıştır. Çoklu doymamışlık gösteren eikosapentaenoik asit ve

dokosahekzaenoik asit miktarlarındaki azalma diğerlerinden daha fazla olmuştur. Genel olarak dondurularak depolanan uskumru filetolarının çoklu doymamış yağ asidi miktarlarının azaldığı, tekli doymamış yağ asidi ve doymuş yağ asidi miktarlarının ise arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar araştırmada kullanılan uskumru filetolarının yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin depolama süresince meydana gelen oksidatif reaksiyonlardan önemli düzeyde etkilendiğini göstermektedir.

Pazos vd. (2005a) tarafından yapılan çalışmada, -10°C’ de yapılan donmuş depolamanın 10. haftasından sonra uskumru kaslarındaki n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin önemli düzeyde azaldığı, üzüm fenolikleri ve propil gallat ile muamele edilen balıklarda ise n-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin uzun süre korunduğunu tespit edilmiştir.

4.6.10 Protein oksidasyonunun izlenmesi

4.6.10.1 Toplam karbonil miktarı

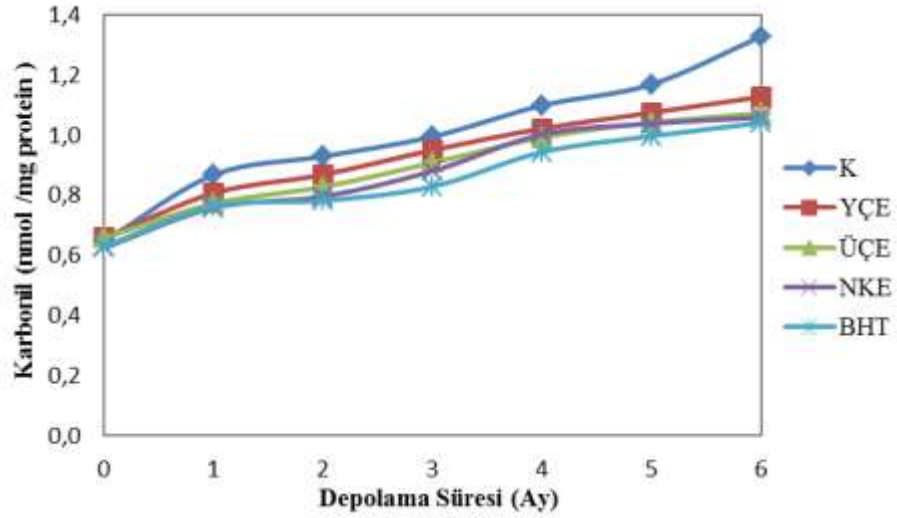
Farklı bitkisel ekstratlar ilave edilen uskumru filetosunda dondurularak depolama sırasında belirlenen toplam karbonil miktarları, nmol/mg protein olarak çizelge 4.66’da ve şekil 4.54’de görülmektedir.

Çizelge 4.66 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
0	0.65±0.03 ^{Af}	0.66±0.01 ^{Ae}	0.66±0.02 ^{Ae}	0.63±0.03 ^{Ad}	0.63±0.03 ^{Ad}	0.64±0.02
1	0.87±0.02 ^{Ae}	0.81±0.00 ^{ABd}	0.77±0.01 ^{Bd}	0.76±0.01 ^{Bc}	0.76±0.01 ^{Bc}	0.79±0.04
2	0.93±0.02 ^{Ae}	0.87±0.02 ^{ABd}	0.83±0.01 ^{BCd}	0.80±0.02 ^{BCc}	0.78±0.03 ^{Cc}	0.84±0.06
3	1.00±0.02 ^{Ad}	0.95±0.02 ^{ABc}	0.91±0.00 ^{Bc}	0.88±0.01 ^{BCb}	0.83±0.02 ^{Cc}	0.91±0.06
4	1.10±0.02 ^{Ac}	1.02±0.00 ^{Bb}	0.99±0.00 ^{BCb}	1.00±0.00 ^{BCa}	0.94±0.02 ^{Cb}	1.01±0.05
5	1.17±0.00 ^{Ab}	1.07±0.01 ^{Bab}	1.04±0.01 ^{BCab}	1.04±0.05 ^{BCa}	1.00±0.00 ^{Cab}	1.06±0.06
6	1.33±0.05 ^{Aa}	1.13±0.08 ^{Ba}	1.07±0.01 ^{BCa}	1.06±0.03 ^{BCa}	1.04±0.00 ^{Ca}	1.13±0.12
Ort.	1.01±0.21	0.93±0.16	0.90±0.15	0.88±0.16	0.86±0.14	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-C) ve her bir sütunda (a-f) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.54 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun karbonil miktarındaki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak karbonil miktarı artmış, başlangıçta 0.64 nmol olan karbonil miktarı donmuş depolamanın 6. ayında 1.13 nmol düzeyine ulaşmıştır. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının karbonil miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama karbonil miktarının diğer gruplardan daha yüksek olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan uskumru filetosunda karbonil miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonunun etkili olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto halde dondurularak depolanan balıklarda depolama süresinin başında 0.63-0.66 nmol düzeylerinde olduğu belirlenen toplam karbonil miktarları depolama süresi sonunda 1.04-1.33 nmol düzeylerine yükselmiştir. Depolama süresinin başında uygulamalar arasında farklılık söz konusu değilken ($P > 0.01$), depolama süresi sonunda BHT (1.04 nmol) içeren balıkların diğer uygulamalara kıyasla daha düşük toplam karbonil miktarlarına sahip oldukları belirlenmiştir ($P < 0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, bitkisel antioksidan kaynağı uygulamalarının (YÇE, NKE ve ÜÇE) ise oksidasyonu geciktirmede benzer düzeylerde etkili olduklarını göstermektedir.

4.6.10.2 Toplam sülfidril miktarı

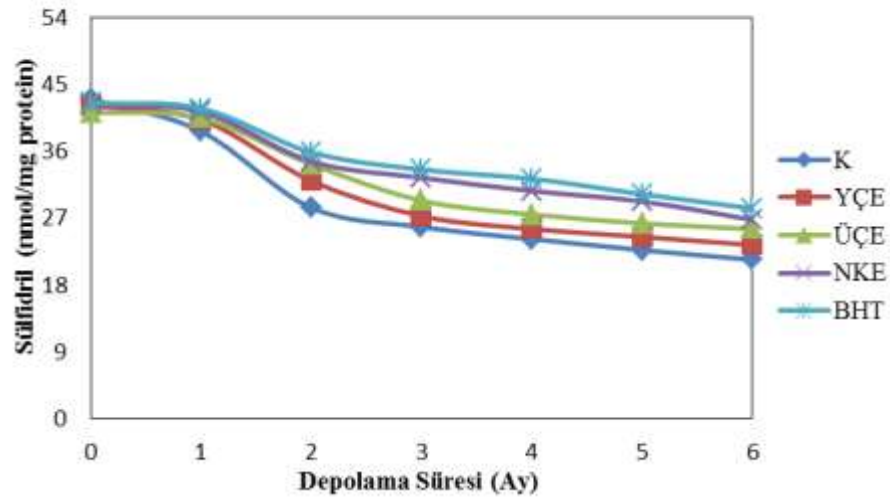
Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru filetosunda dondurularak depolama sırasında belirlenen toplam sülfidril miktarları, nmol/mg protein olarak çizelge 4.67’de ve şekil4.55’de görülmektedir.

Çizelge 4.67 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun sülfidril miktarına (nmol/mg protein) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (ay)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
0	43.10±0.46 ^{Aa}	42.22±0.11 ^{ABa}	41.27±0.29 ^{Ba}	42.35±0.40 ^{ABa}	42.53±0.30 ^{ABa}	42.29±0.67
1	38.71±1.63 ^{Bb}	40.27±0.63 ^{Ab}	40.51±1.37 ^{Aa}	41.35±0.31 ^{Aa}	41.80±0.01 ^{Aa}	40.53±1.35
2	28.42±0.64 ^{Dc}	32.04±0.19 ^{Cc}	34.26±0.62 ^{Bb}	34.66±0.77 ^{ABb}	35.88±0.36 ^{Ab}	33.05±2.80
3	25.82±0.88 ^{Dd}	27.29±0.03 ^{Cd}	29.38±0.45 ^{Bc}	32.45±0.29 ^{Ac}	33.55±0.17 ^{Ac}	29.70±3.12
4	24.19±0.31 ^{De}	25.56±0.47 ^{De}	27.51±0.01 ^{Cd}	30.68±0.26 ^{Bd}	32.32±0.39 ^{Ac}	28.05±3.23
5	22.71±0.66 ^{Df}	24.49±0.35 ^{Cef}	26.31±0.23 ^{Bde}	29.26±0.57 ^{Ad}	30.24±0.29 ^{Ad}	26.60±3.00
6	21.42±0.13 ^{Df}	23.40±0.18 ^{Cf}	25.56±0.10 ^{Be}	26.79±0.03 ^{Be}	28.31±0.25 ^{Ae}	25.09±2.58
Ort.	29.19±8.09	30.75±7.41	32.12±6.39	33.93±5.72	34.95±5.27	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-d) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.55 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda sülfidril miktarındaki değişim

Uzayan depolama süresine bağlı olarak sülfidril miktarının azaldığı, başlangıçta 42.29 nmol olan sülfidril miktarının donmuş depolamanın 6. ayında 25.09 nmol düzeyine

ulaştığı belirlenmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının sülfidril miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama sülfidril miktarının oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu Çizelge 4.67’de görülmektedir. Antioksidan uygulamaları arasında ise BHT’nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Dondurularak depolanan uskumru filetolarının toplam sülfidril miktarlarındaki değişim üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksyonun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto halde dondurularak depolanan balıkların depolama süresinin başında 41.27-43.10 nmol düzeylerinde olan toplam sülfidril içeriklerinin depolama sonunda 21.42-28.31 nmol aralığına düştüğü belirlenmiştir. Uzayan depolama süresine bağlı olarak tüm grupların toplam sülfidril miktarları azalmıştır ($P<0.01$). Depolama süresinin başında K grubuna ait balıkların en yüksek, ÜÇE içeren balıkların ise en düşük sülfidril miktarlarına sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresi sonunda en yüksek sülfidril içeriğine BHT içeren uskumruların, en düşük sülfidril içeriğine ise K grubu balıkların sahip oldukları görülmüştür ($P<0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun meydana geldiğini, antioksidan uygulamasının özellikle BHT ve NKE’nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir.

4.6.10.3 Protein çözünürlüğü

Farklı antioksidan kaynakları ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama sırasında belirlenen toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) sonuçları çizelge 4.68’de görülmektedir. TPÇ’de, SPÇ’de ve MPÇ’de donmuş depolama süresince belirlenen değişimler ise şekil 4.56’da verilmiştir.

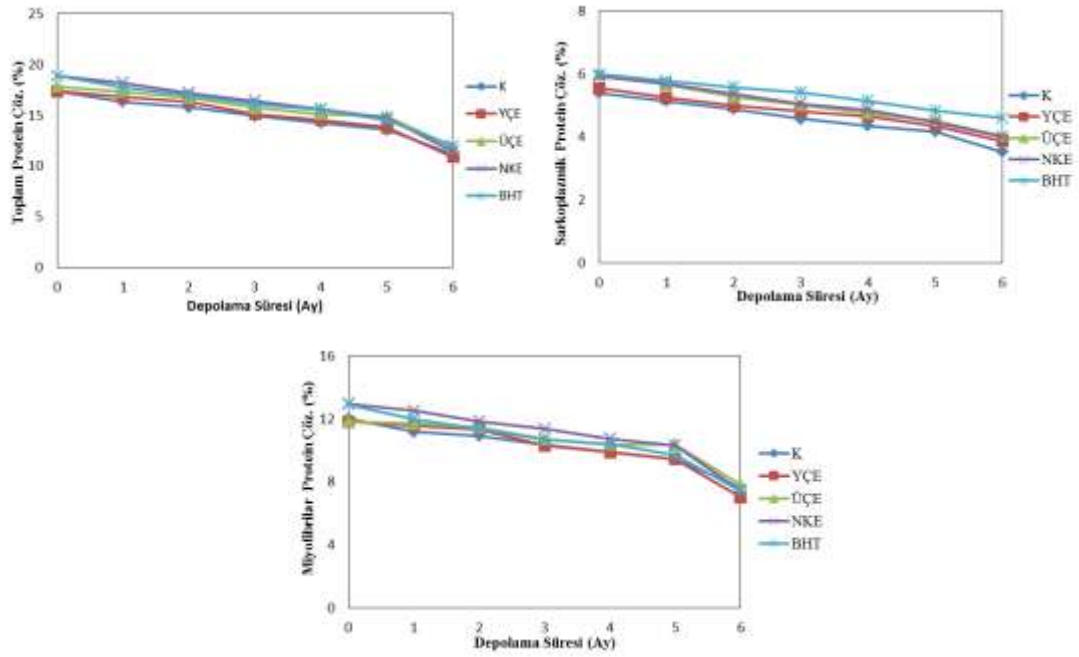
Çizelge 4.68 Dondurularak depolanan uskumru filetosunun toplam protein çözünürlüğü (TPÇ), sarkoplazmik protein çözünürlüğü (SPÇ) ve miyofibrilar protein çözünürlüğü (MPÇ) miktarlarına (%) farklı antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	YÇE	ÜÇE	NKE	BHT	Ort.
TPÇ						
0	17.40±0.52 ^{Ba}	17.37±0.24 ^{Ba}	17.84±0.30 ^{Ba}	18.89±0.07 ^{Aa}	18.89±0.07 ^{Aa}	18.08±0.75
1	16.32±0.02 ^{Cb}	16.80±0.09 ^{Cb}	17.36±0.03 ^{Ba}	18.21±0.14 ^{Ab}	17.76±0.02 ^{ABb}	17.29±0.71
2	15.81±0.04 ^{Cc}	16.33±0.15 ^{Bb}	16.72±0.12 ^{ABb}	17.21±0.05 ^{Ac}	16.95±0.09 ^{Ac}	16.61±0.52
3	14.94±0.14 ^{Cd}	15.12±0.04 ^{Cc}	15.74±0.24 ^{Bc}	16.40±0.02 ^{Ad}	16.08±0.07 ^{ABd}	15.66±0.59
4	14.27±0.25 ^{Be}	14.54±0.02 ^{Bd}	15.11±0.18 ^{Ad}	15.61±0.12 ^{Ae}	15.55±0.04 ^{Ae}	15.01±0.58
5	13.58±0.19 ^{Bf}	13.80±0.06 ^{Be}	14.88±0.28 ^{Ad}	14.78±0.04 ^{Af}	14.52±0.21 ^{Af}	14.31±0.57
6	11.18±0.01 ^{CDg}	10.91±0.05 ^{Df}	11.87±0.14 ^{ABe}	11.46±0.42 ^{BCg}	12.01±0.40 ^{Ag}	11.48±0.48
Ort.	14.79±1.97	14.98±2.11	15.64±1.93	16.08±2.39	15.97±2.18	
SPÇ						
0	5.40±0.08	5.54±0.01	5.99±0.15	5.93±0.05	5.98±0.05	5.77±0.27 ^a
1	5.14±0.01	5.24±0.04	5.66±0.04	5.69±0.07	5.77±0.04	5.50±0.28 ^{ab}
2	4.88±0.03	4.99±0.01	5.27±0.12	5.37±0.00	5.58±0.05	5.22±0.27 ^{bc}
3	4.57±0.07	4.82±0.09	5.01±0.00	5.04±0.03	5.42±0.01	4.97±0.30 ^{cd}
4	4.35±0.46	4.65±0.04	4.74±0.20	4.87±0.08	5.13±0.03	4.75±0.32 ^{de}
5	4.17±0.06	4.35±0.08	4.52±0.05	4.47±0.08	4.83±0.01	4.47±0.23 ^e
6	3.53±0.22	3.88±0.09	4.03±0.09	4.00±0.09	4.59±0.00	4.01±0.37 ^f
Ort.	4.58±0.62 ^C	4.78±0.54 ^{BC}	5.03±0.65 ^{AB}	5.05±0.65 ^{AB}	5.33±0.49 ^A	
MPÇ						
0	12.01±0.44 ^{Ba}	11.83±0.23 ^{Ba}	11.85±0.15 ^{Ba}	12.96±0.12 ^{Aa}	12.90±0.12 ^{Aa}	12.31±0.57
1	11.19±0.00 ^{Cb}	11.56±0.05 ^{BCa}	11.70±0.00 ^{Ba}	12.52±0.07 ^{Aa}	11.99±0.02 ^{Bb}	11.79±0.47
2	10.93±0.02 ^{Bb}	11.34±0.15 ^{ABa}	11.45±0.24 ^{Aa}	11.84±0.05 ^{Ab}	11.37±0.15 ^{ABc}	11.39±0.33
3	10.37±0.07 ^{Bc}	10.30±0.05 ^{Bb}	10.73±0.24 ^{Bb}	11.36±0.05 ^{Ac}	10.66±0.08 ^{Bd}	10.68±0.40
4	9.91±0.21 ^{Bc}	9.89±0.02 ^{Bbc}	10.36±0.01 ^{ABb}	10.74±0.04 ^{Ad}	10.41±0.07 ^{Ad}	10.26±0.35
5	9.41±0.25 ^{Bd}	9.45±0.14 ^{Bc}	10.36±0.24 ^{Ab}	10.32±0.04 ^{Ad}	9.69±0.20 ^{Be}	9.85±0.46
6	7.65±0.21 ^{Ae}	7.04±0.04 ^{Bd}	7.84±0.23 ^{Ac}	7.47±0.32 ^{ABe}	7.41±0.40 ^{ABf}	7.48±0.35
Ort.	10.21±1.37	10.20±1.59	10.61±1.32	11.03±1.76	10.63±1.71	

Sonuçlar iki tekerrür ortalaması ± standart sapması olarak verilmiştir.

Her bir satırda (A-D) ve her bir sütunda (a-g) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak TPÇ'nün azaldığı, başlangıçta %18.08 olan TPÇ miktarının donmuş depolamanın 6. ayında %11.48 düzeyine düştüğü (%37 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının TPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama TPÇ'nün diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamaları arasında ise NKE'nin daha etkili olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.56 Dondurularak depolanan uskumru filetosunda toplam, sarkoplazmik ve miyofibrilar protein çözünürlüğündeki değişim

Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının toplam protein çözünürlüğü üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, EK 4 Çizelge 4). Fileto halde dondurularak depolanan uskumrulara depolamanın başında %17.37-18.89 olarak belirlenen TPC düzeylerinin 6 ay sonunda %10.91-12.01 düzeylerine düştüğü tespit edilmiştir. Depolamanın başında NKE (%18.89) ve BHT (% 18.89) içeren grupların TPC değerlerinin diğer gruplardan yüksek; K (%17.40), YÇE (%17.37) ve ÜÇE (%17.84) uygulanan balıkların ise düşük olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$). Depolama sonrasında ise BHT (%12.01) uygulanan balıkların en yüksek TPC'ne sahip olduğu, bunu sırasıyla ÜÇE (%11.87), NKE (%11.46), K (%11.18) ve YÇE (%10.91) grubuna ait balıkların izledikleri belirlenmiştir ($P < 0.01$). Elde edilen sonuçlar depolama süresinin uzamasına bağlı olarak toplam protein çözünürlüğünün azaldığını, antioksidan uygulamasının özellikle de BHT'nin TPC'nün azalmasını engellemede etkili olduğunu göstermektedir.

Depolama süresine bağlı SPÇ'nün azaldığı, başlangıçta %5.77 olan miktarın donmuş depolamanın 6. ayında %4.01 düzeyine düştüğü (%31 azalma) belirlenmiştir. Yapılan

uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının SPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. Antioksidan ilavesiz K grubuna ait uskumruların ortalama SPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha düşük olduğu, antioksidan uygulamasının da SPÇ üzerine etkili olduğu çizelge 4.68'de görülmektedir.

Fileto halde dondurularak depolanan balıkların SPÇ değerleri üzerine depolama süresi ve uygulamanın etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). İlerleyen depolama süresine bağlı olarak SPÇ değerinin azaldığı saptanmıştır ($P<0.01$). Depolama süresi dikkate alınmaksızın gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde BHT (%5.33), NKE (%5.05) ve ÜÇE (%5.03) uygulamalarının benzer etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Uzayan depolama süresine bağlı olarak MPÇ azaldığı, başlangıçta %12.31 olan MPÇ'nün soğukta depolamanın 6. ayında %7.48 düzeyine düştüğü (%39 azalma) belirlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasındaki farklılıklar incelendiğinde ise, antioksidan uygulamasının MPÇ üzerine etkili olduğu görülmektedir. NKE uygulanmış balıklara ait ortalama MPÇ'nün oluşturulan diğer gruplardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

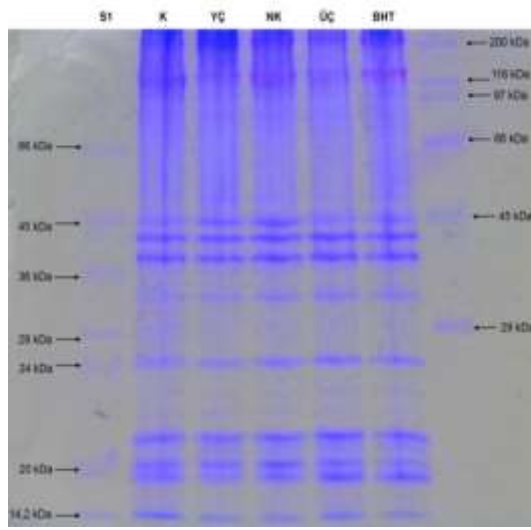
Dondurularak depolanan fileto uskumru balıklarının MPÇ üzerine depolama süresi, uygulama ve depolama süresi x uygulama interaksiyonun önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$, EK 4 Çizelge 4). Depolama süresinin başında fileto uskumruların MPÇ sonuçları %11.83-12.96 arasında değişirken, depolama sonunda % 7.04-7.84 düzeylerine düşmüştür. Depolama süresinin başında NKE (%12.96) ve BHT (%12.90) uygulanan balıklar arasında herhangi bir farklılık olmadığı ve bu grupların diğerlerine göre daha yüksek MPÇ değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Depolama süresinin sonunda NKE (%7.47), BHT (%7.41) ve YÇE (%7.04) uygulanan balıklar arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P<0.01$).

Elde edilen sonuçlar, uskumru filetosunda belirlenen toplam protein çözünürlüğünün büyük oranda miyofibrilar proteinlerden kaynaklandığını, uzayan depolama süresine bağlı olarak da en çok miyofibrilar proteinlerin etkilendiğini göstermektedir. Depolama

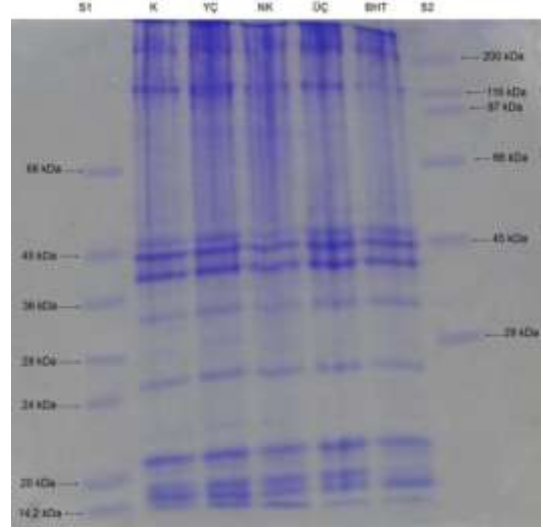
süresince miyofibrilar protein çözünürlüğünde önemli miktarda azalma tespit edilmiştir. Sarkoplazmik protein çözünürlüğü ise miyofibrilar proteinlere kıyasla donmuş depolama prosesinden daha az etkilenmiştir.

4.6.10.4 Miyofibrilar proteinlerde meydana gelen değişmeler: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

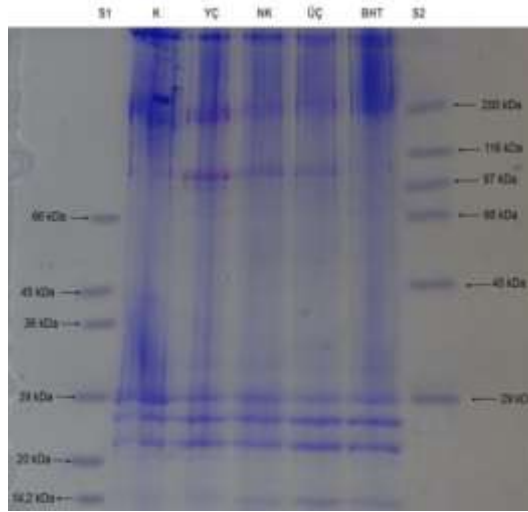
SDS-PAGE tekniği ile dondurularak depolanan uskumru kıymasında depolama süresince miyofibrilar proteinlerinde meydana gelen değişmeler belirlenmiştir. Dondurularak depolanan fileto balıkların miyofibrilar proteinlerinin SDS-PAGE sonuçları şekil 4.57’de verilmiştir. Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında depolama süresinin başlangıcında (0. gün) oluşturulan tüm gruplarda 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantları belirgin bir şekilde görülmektedir. YÇE ve NKE içeren gruplarda 45 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının depolama süresinin başlangıcında diğer gruplara kıyasla daha yoğun olduğu belirlenmiştir. Dondurularak depolamanın 3. ayında BHT uygulanan fileto balıklardan 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bandının; NKE içeren balıkların ise 45-14.2 kDa aralığındaki protein bantlarının diğer gruplardan daha az yoğun olduğu görülmektedir. 6. ayda elde edilen elektroforetogram incelendiğinde 200 ve 116 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının yoğunluklarının azaldığı, 45-36 kDa molekül ağırlığındaki protein bantlarının kaybolduğu ve 29-20 kDa aralığındaki bantların ise yoğunluklarının arttığı görülmektedir. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak, 200, 116 ve 45-36 kDa aralığındaki bant yoğunluklarının azaldığı, 29-20 kDa aralığındaki bant yoğunluklarının arttığı tespit edilmiştir. Diğer protein bantlarının depolama süresince göstermiş oldukları değişmeler ise tüm gruplarda benzer olmuştur. Elde edilen sonuçlar, depolama süresince meydana gelen protein oksidasyonu ve denaturasyonuna bağlı olarak miyofibrilar protein fraksiyonlarında değişimlerin olduğunu göstermektedir.



0.GÜN



3.AY



6.AY

Şekil 4.57 Dondurularak depolanan fileto uskumru balığında depolama süresince belirlenen miyofibriler proteinlerin SDS-PAGE elektroforetogramları

0.gün, 3.ay, 6.ay. Jele 2mg protein/mL örnek tamponundan 20µL yüklenmiştir. S1 66-14.2 kDa, S2 205-36 kDa arası molekül ağırlığına sahip protein standartlarını göstermektedir. K, YÇ, NK, ÜÇ ve BHT oluşturulan grupları göstermektedir.

5. SONUÇ

Araştırmada elde edilen başlıca sonuçlar maddeler halinde sunulmuştur.

Bitkisel Ekstraktlarla İlgili Sonuçlar

1. Bitkisel ekstraktlarda yapılan analizler sonucunda nar kabuğu ekstraktının, üzüm çekirdeği ekstraktı ve yeşil çay ekstraktından daha yüksek miktarda fenolik madde içerdiği ve buna bağlı olarak da daha yüksek oranda antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yeşil çay ekstraktında fenolik madde olarak yalnızca kateşin; nar kabuğu ekstraktında punikalın, α -punikalajin, β -punikalajin ve elajik asit; üzüm çekirdeği ekstraktında ise kateşin, epikateşin, gallik asit ve prosiyanidin B1 olmak üzere 4 farklı fenolik madde tanımlanmıştır. Yeşil çay ekstraktının metallerle kelat oluşturma aktivitesinin nar kabuğu ekstraktı ve üzüm çekirdeği ekstraktından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

2. Yeşil çay ekstraktının *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktı *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili iken *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Üzüm çekirdeği ekstraktının *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus*'a karşı değişik düzeylerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktı, üzüm çekirdeği ekstraktına kıyasla *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* (*S. Enteritidis*), *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı daha etkilidir.

3. Hem kıyma hem de fileto balık etine yeşil çay ekstraktının, nar kabuğu ekstraktı ve üzüm çekirdeği ekstraktından daha yüksek oranda adsorbe olduğu belirlenmiştir.

- Yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesine bağlı olarak meyve suyu üretiminde atık olarak ortaya çıkan nar kabuklarının et ürünlerinin kalitelerinin korunmasında doğal katkı maddesi olarak kullanımı önerilmektedir.

Soğukta Depolanan Uskumru Kıyması ve Filetosu ile İlgili Sonuçlar

4. Bitkisel ve kimyasal antioksidan ilavesi kıyma ve fileto uskumruda mikrobiyal çoğalmayı geciktirmiştir. Antioksidan kaynakları içerisinde NKE içeren örnekler, soğukta depolama sırasında en düşük mikrobiyal yüke sahip olmuşlardır. Bu durum, NKE'nin antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olmasıyla açıklanmıştır. Antioksidan kaynağı ilavesi, soğukta depolama ile artan TVB-N, TMA-N miktarlarını baskılamıştır. Soğukta depolanan kıyma K örneklerinin 7. günde TVB-N miktarı bozulma sınırında yer alırken (bozulma sınırı 35-40 mg/100 g et) YÇE'li, ÜÇE'li, NKE'li ve BHT'li örnekler kabul sınırlarında kalmıştır. Fileto halde soğukta depolanan örneklerin ise depolamanın 7. gününde bozulmuş olduğu tespit edilmiştir. Antioksidanlı örneklerin TVB-N miktarlarının düşük olması, bu ekstraktların antimikrobiyal etkileri ile açıklanmıştır. Soğukta depolanan kıyma ve fileto örneklerde belirlenen TVB-N miktarı ve TAPB sayısı arasında (kıyma örneklerde $r=0.890$, $P<0.05$; fileto örneklerde $r=0.957$, $P<0.05$) ve TMA-N miktarı ile TAPB sayısı arasında (kıyma örneklerde $r=0.882$, $P<0.05$; fileto örneklerde $r=0.961$, $P<0.01$) önemli korelasyonlar belirlenmiştir.

5. Bitkisel ekstrakt ilavesi ve depolama süresi renk değerleri üzerine etkilidir. Antioksidan uygulamalarının kıyma ve fileto uskumru balıklarının renklerini etkiledikleri ve örneklerde meydana gelen oksidatif reaksiyonları sınırlandırarak renk değişimini sınırlandırdıkları belirlenmiştir.

6. Soğukta depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden giderek azalan puanlar aldıkları belirlenmiştir. Antioksidan ilavesinin, oksidasyonu ve istenmeyen koku oluşumunu azalttığı belirlenmiştir.

7. Lipid hidroperoksitleri ve malonaldehit miktarları ile *p*-anisidin değerleri BHT ve NKE uygulamalarının oksidasyonu geciktirmede daha etkili olduğunu göstermektedir. Depolama süresince tüm uygulamalarda çoklu doymamış yağ asitlerinde azalma, tekli doymamış ve doymuş yağ asitlerinin miktarlarında artış görülmüştür. Benzer şekilde, karbonil ve sülfidril miktarları da BHT ve NKE'nin oksidasyonu geciktirmede etkili olduğunu göstermektedir. Depolama süresince protein çözünürlüğü azalmıştır. Depolama süresine bağlı olarak miyofibrilar protein fraksiyonlarında değişimler olduğunu, yüksek molekül ağırlığına sahip protein fraksiyonlarının azaldığını göstermektedir. Soğukta depolanan fileto örneklerde karbonil miktarı ile TBARM miktarı arasındaki korelasyonun önemli olduğu ($r=0.982$, $P<0.01$) belirlenmiştir. Yani lipid ve protein oksidasyonu aynı anda ve hızda meydana gelmektedir.

- Soğukta depolanan örneklerde antioksidan uygulaması, lipid ve protein oksidasyonunu azaltmıştır. Bitkisel antioksidan kaynakları arasında NKE lipid ve protein oksidasyonunu azaltmada diğerlerinden daha etkilidir. YÇE uygulandığı şekli ile antioksidan etkiye sahip değildir. Soğukta depolanan kıyma ve fileto K örneklerin depolama ömürleri 7 günle sınırlı olup, antioksidan uygulamasının ise örneklerin depolama ömrünü 7 günden daha fazla uzattığı belirlenmiştir.

Dondurularak Depolanan Uskumru Kıyması ve Filetosu ile İlgili Sonuçlar

8. Donmuş depolama ve antioksidan uygulaması mikrobiyal çoğalmayı yavaşlatmıştır. TAPB sayısını azaltmada en etkili kaynağın NKE olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, NKE'nin yüksek antimikrobiyal aktivitesi ile açıklanmıştır. Antioksidan kaynağı ilavesi, donmuş depolama ile artan TVB-N, TMA-N miktarlarını baskılamıştır. 6 aylık donmuş depolama sonrasında balıklar TVB-N miktarı açısından “tüketime uygun”, TMA-N miktarı açısından ise “iyi” niteliktedir. Dondurularak depolanan kıyma örneklerde TMA-N miktarı ile TAPB sayısı arasında önemli düzeyde korelasyon ($r=0.892$; $P<0.05$) olduğu da belirlenmiştir.

9. Bitkisel ekstrakt ilavesinin ve depolama süresinin renk değerleri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Antioksidan uygulamalarının kıyma ve fileto uskumru balıklarının

renklerini etkiledikleri ve örneklerde oksidatif reaksiyonları ve renk değişimini sınırlandırdıkları belirlenmiştir.

10. Dondurularak depolama süresince tüm grupların taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden puanları giderek azalmıştır. Antioksidan ilavesi balıkların koku özelliklerini olumlu etkilemekte, ransit ve istenmeyen koku oluşumunu azaltmaktadır.

11. Lipid hidroperoksitleri, malonaldehit, *p*-Anisidin değerleri, karbonil ve sülfidril sonuçlarına göre BHT ve NKE uygulamaları oksidasyonu geciktirmede daha etkilidir. Depolama süresince tüm uygulamalarda çoklu doymamış yağ asitlerinde azalma, tekli doymamış ve doymuş yağ asitlerinin miktarlarında artış olduğu görülmüştür. Depolama süresince protein çözünürlüğü giderek azalmıştır. Elde edilen elektrogramlar, depolama süresine bağlı olarak miyofibrillar protein fraksiyonlarında değişimler olduğunu, yüksek molekül ağırlığına sahip protein fraksiyonlarının azaldığını göstermektedir. Özellikle dondurularak depolanan fileto örneklerde, lipid oksidasyonu ile protein oksidasyonu arasında önemli düzeyde korelasyon olduğuda belirlenmiştir. (Karbonil miktarı ile TBARM miktarı arasında ($r=0.956$; $P<0.05$), sülfidril miktarı ile TBARM miktarı arasında ($r=0.945$; $P<0.05$) önemli düzeyde korelasyon vardır.)

- Dondurularak depolanan örneklerde dondurma işlemi ve antioksidan uygulaması mikrobiyal çoğalmayı engellemiştir. TAPB sayısını azaltmada en etkili kaynak NKE' dir. Dondurarak depolamada lipid ve protein oksidasyonu üzerine tüm antioksidan kaynakları değişen düzeylerde etkilidir. Lipid oksidasyonunu azaltmada NKE ve BHT etkilidir. Protein oksidasyonunu azaltmada karbonil miktarında açısından tüm antioksidan kaynaklarının, sülfidril ve protein çözünürlüğü değerleri açısından ise NKE' nin ve BHT' nin etkili olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, soğukta ve dondurarak depolamada lipid oksidasyonu kadar protein oksidasyonunun da önemli olduğu ve antioksidan kaynaklarının her iki tip oksidasyonu

geciktirmede değişik düzeylerde etkili oldukları belirlenmiştir. Antioksidan kaynaklarının etkinliğini antioksidan kaynağının tipi, hazırlanış şekli, antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin düzeyi gibi faktörler belirlemektedir.

Çalışmada, soğukta depolamada kısa bir raf ömrüne sahip uskumru kıymasının ve filetosunun depolama ömrünü artırmada ve donmuş depolamada kalitenin daha uzun süre korunmasında tüketilebilen bitkisel kaynakların ve yan ürünlerin doğal gıda katkı maddesi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu kaynaklar arasında NKE, diğerlerinden daha iyi sonuçlar vermiştir. Kullanılan bitkisel kaynaklardaki etken antioksidan ve antimikrobiyal bileşenler ne kadar konsantre edilir ve gıdalara ilave edilirse soğukta ve dondurarak depolamada kalite özelliklerini korumada etkileri de daha fazla olacaktır. Elde edilen veriler, daha sonra yapılacak bilimsel çalışmalarda kaynak olarak kullanılabilmesi bakımından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Afanas'ev, I.B., Dorozhko, A.I., Brodskii, A V., Kostyuk, V. and Potapovitch, A.I. 1989. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, 38, 1763–1769.
- Ahmad, J.I. 1996. Free radicals and health: is vitamin E the answer? *Food Science and Technology*, 10(3): 147–152.
- Ahmad, I. and Beg, A.Z. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 113–133.
- Ahn, D.U., Jo, C., Du, M., Olson, D.G. and Nam, K.C. 2000. Quality characteristics of pork patties irradiated and stored in different packaging and storage conditions. *Meat Science*, 56, 203–209
- Ahn, J., Grun, I.U. and Mustapha, A. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *Journal of Food Protection*, 67, 48–55.
- Ahn, J., Grün, I.U. and Mustapha, A. 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24, 7-14.
- Alaiz, M. and Giron, J. 1994. Reaction of N-(carbobenzyloxy)-L-histidine with (E)-2-octenal. *Chemistry and Physics of Lipids*, 71, 245-248.
- Alanis, A.D., Calzada, F., Cervantes, J.A., Torres, J. and Ceballos, J.M. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicines for the treatment of gastrointestinal disorder. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 153-157.
- Alasnier, C., Meynier, A., Viau, M. and Gandemer, G. 2000. Hydrolytic and oxidative changes in the lipids of chicken breast and thigh muscles during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 65(1); 9-14.
- Alghazeer, R., Saeed, S. and Howell, N.K. 2008. Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber scombrus*) in the presence and absence of instant green tea. *Food Chemistry*, 108, 801-810.
- Alonso, A.M., Guille'n, D.A., Barroso, C.G., Puertas, B. and Garcí'a, A. 2002. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 5832–5836.

- Altuğ, T. 2006. Gıda Katkı Maddeleri. Ege Üniversitesi, İzmir.
- Al-Zoreky, N.S. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. International Journal of Food Microbiology, 134, 244-248.
- Amarowicz, R. and Shahidi, F. 1995. Antioxidant activity of green tea catechins in a B-carotene-linoleate model system. Journal of Food Lipids, 2, 47-56.
- Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry, 84, 551-562.
- Andreasen, M.F., Landbo, A.K., Christensen, L.P., Hansen, A. and Meyer, A.S. 2001. Antioxidant effects of phenolic rye (*Secale cereale* L.) extracts, monomeric hydroxycinnamates, and ferulic acid dehydrodimers on human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 4090-4096.
- Anonim. 2011. Türkiye İstatistik Kurumu. Erşim tarihi: 20.07.2012 <http://www.tuik.gov.tr>.
- Anonymous. 1986. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Williams and Wilkins. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Eds, Baltimore.
- Anonymous, 1987. IUPAC 1987. Standard methods for analysis of oils, fats and derivates, 7th edition, Blackwell Scientific, Oxford. IUPAC method No.2301.
- Anonymous, 1989. Determination of the p-anisidine value (p-Av). In C. Paquet, & A. Hautfenne (Eds.), Standard methods for the analysis of oils, fats and derivates (7th ed.). (pp. 143-144) Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications. Method number 2.504.
- Anonymous. 1998. Bacteriological Analytical Manuall, 8th edn, A.O.A.C. International, Gaithersburg, MD.
- Anonymous, 2000. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Williams, S., Ed., Arlington, VA.
- Anonymous. 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/fishery/statistics>.
- Anonymous, 2010. IPARD 2010. IPARD programı. http://www.tarim.gov.tr/E_kutuphane,IpardProgrami.html
- Anwar, F., Naseer, R., Bhanger, M.I., Ashraf, S., Talpur, F.N. and Aladededune, F.A. 2008. Physicochemical characteristics of citrus seeds and oils from Pakistan. Journal of American Oil Chemists' Socation, 85, 321-330.

- Apaydın, E. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antioksidan aktivitedeki değişimler. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P. and Bast, A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 787-791.
- Asghar, A., Gray, J.I., Buckley, A.M., Pearson, A.M. and Booren, A.M. 1988. Perspectives on warmed-over-flavor. *Food Technology*, 42(6); 102-108.
- Aubourg, S.P., Pe'rez-Alonso, F. and Gallardo, J.M. 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*trachurus trachurus*) by citric acid and ascorbic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 232–240.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkava, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. and Fuhrman, B. 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modification to LDL and platelet aggregation: studies in human and in atherosclerotic apolipoprotein deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1062–1076.
- Aviram, M. and Dornfeld, L. 2001. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*, 158, 195–198.
- Bailey, M.E. 1998. Inhibition of warmed-over flavor, with emphasis on Maillard reaction products. *Journal of Food Technology*, 42(6); 123–126.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M., Garrido, M.D. and Price, A. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77, 626–633.
- Barlow, S.M. 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: *Food Antioxidants*, ed: Herdsen, B.J.F., London and New York, NY: Elsevier Applied Sciences, Pp: 253.
- Baydar, N.G., Özkan, G. and Sagdic, O. 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15, 335–339.
- Baysal, A. 1997. Beslenme. Hatipoğlu Yayınevi. Ankara. 494s.
- Berlett, B.S. and Stadtman, E.R. 1997. Protein oxidation in aging disease and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(33); 20313-20316.

- Bligh, E. and Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Boland, F.E. and Paige, D.D. 1971. Collaborative study of a method for the determination of trimethylamine nitrogen in fish. *Journal of AOAC International*, 54(3); 725-727.
- Boyd, L.C., Green, D.P., Giesbrecht, F.B., and King, M.F. 1993. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tertbutylhydroquinone and rosemary extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 87–93.
- Boyer, R.F. and McCleary, C.J. 1987. Superoxide ion as a primary reductant in ascorbate-mediated ferritin ion release. *Free radical and Biological Medicine*, 3, 389-395.
- Bozkurt, H. 2006. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and Thymbra spicata oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 73, 442–450.
- Braga, L., Shupp, J., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J., Carmo, L., Chartone-Souza, E. and Nascimento, A. 2005. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 335–339.
- Brannan, R.G. 2008. Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *Food Chemistry*, 73, 36–38.
- Britt, C., Gomma, E.A., Gray, J.I., and Booren, A.M. 1998. Influence of cherry tissue on lipid oxidation and heterocyclic aromatic amine formation in ground beef patties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4891–4897.
- Buettner, G.R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 300, 535-543.
- Buettner, G.R. and Jurkiewicz, B.A. 1996. Catalytic metals, ascorbate and free radicals: Combination to avoid. *Radical Research*, 145(5); 532–541.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E. 2004. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*, 69(1): 67-72.
- Chen, Z.Y. and Chan, P.T. 1996. Antioxidative activity of green tea catechins in canola oil. *Chemistry and Physics of Lipids*, 82, 163–172.
- Chen, Z.Y., Chan, P.T., Ma, H.M., Fung, K.P. and Wang, J. 1996. Antioxidative effect of ethanol green tea extracts on oxidation of canola oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 375–380.

- Chowdhury, S.K., Eshraghi, J., Wolfe, H., Forde, D., Hiavac, A.G. and Johnston, D. 1995. Mass spectrometric identification of amino acid transformations during oxidation of peptides and proteins: modifications of methionine and tyrosine. *Analytical Chemistry*, 67, 390-398.
- Conner, D.E. and Beuchat, L.R. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, 49, 429-434.
- Constantinides P. 1981. Overview of studies on regression of atherosclerosis. *Artery*, 9:1, 30-43.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- Crawford, D.L., Law, D.K., Babbitt, J.K. and McGill, L.A. 1979. Comparative stability and desirability of frozen Pacific hake filet and minced flesh blocks. *Journal of Food Science*, 44, 363-367.
- Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 174-181.
- Davidson, P.M. and Naidu, A.S. 2000. Phyto-phenols. In: Naidu, A.S. (Ed.), *Natural Food Antimicrobial Systems*. Boca Raton, FL, USA, CRC Press LLC pp, pp. 265-294.
- Davies, M.J. 2005. The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1703, 93-109.
- Decker, E.A. and Hultin, H.O. 1992. Lipidoxidation in muscle foods via redox iron. In: *Lipid Oxidation in Food*. St. Angelo, A.J. (Ed.), pp. 33-54, ACS Symposium Series 500, American Chemical Society, Washington, DC.
- Decker, E.A., Xiong, Y.L., Calvert, J.T. and Crum, A.D. 1993. Blanchard, S.P., Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 186-189.
- Decker, E.A. and Mei, L. 1996. Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods. In *Proceedings of the 49th Reciprocal Meat Conference*, Savoy, IL: American Meat Science Association, pp. 64 – 72.
- Decker, E.A. and Xu, Z.M. 1998. Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technology*, 52, 54-59.
- Deng, J.C., Matthews, R.F., Watson, C.M. 1977. Effect of chemical and physical treatments on rancidity development of frozen mullet (*Mugil cephalus*) fillets. *Journal of Food Science*, 42, 344-347.

- Devatkal, S.K., Narsaiah, K. and Borah, A. 2010. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties, *Meat Science*, 85, 155-159.
- Doorn, J.A. and Petersen, D.R. 2002. Covalent modification of amino acid nucleophiles by the lipid peroxidation products 4-hydroxy-2-nonenal and 4-oxo-2-nonenal. *Chemical Research in Toxicology*, 15, 1445-1450.
- Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70.
- Escribano-Bailo'n, M.T., Guerra, M.T., Rivas-Gonzalo, J.C. and Santos-Buelga, C. 1995. Proanthocyanidins in skins from different grape varieties, *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 200, 201–224.
- Eymard, S., Baron, C.P. and Jacobsen, C. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chemistry*, 114, 57–65.
- Fagbenro, O. and Jauncey, K. 1994. Chemical and nutritional quality of fermented fish silage containing potato extracts, formalin or ginger extracts. *Food Chemistry*, 50, 383–388.
- Fernández, J., Perez-Alvarez, J.A. and Fernandez-Lopez, J.A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 345–353.
- Farouk, M.M. and Swan, J.E. 1998. Effect of muscle condition before freezing and simulated chemical changes during frozen storage on protein functionality in beef. *Meat Science*, 50, 235-243.
- Fernandez-Lopez, J., Fernandez-Gines, J.M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barbera, E. and Perez-Alvarez, J.A. 2004. Application of functional citrus by products to meat products. *Trends Food Science and Technology*, 15, 176–185.
- Frankel, E.N. 1998. Antioxidants. In *Lipid oxidation*. Dundee, Scotland: The Oily Press.
- Freeman, K. 1992. Frozen seafood. *Meat and Poultry*. March, 14-17.
- Gerrard, A.J. and Brown, K.P. 2002. Protein cross-linking in food: Mechanisms, consequences, applications. *International Congress Series*, 1245, 211–215.
- Ghasemian, A., Mehrabian, S. and Majd, A. 2006. Peel extracts of two Iranian cultivars of pomegranate (*Punica granatum*) have antioxidant and antimutagenic activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9, 1402–1405.
- Gil, M.I., Tomas-Barbera'n, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food*

Chemistry, 48, 4581-4589.

- Gomez-Basauri, J.W. and Regenstein, J.M. 1992a. Vacuum packaging, ascorbic acid and frozen storage effects on heme and non-heme iron content of mackerel. *Journal of Food Science*, 57, 1337-1339.
- Gomez-Basauri, J.V. and Regenstein, J.M. 1992b. Processing and frozen storage effects on the iron content of cod and mackerel. *Journal of Food Science*, 57, 1332-1336.
- Gonza'lez-Parama's, A.M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., Pascual-Teresa, S., and Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 234-238.
- Gorinstein, S., Cvikrova, M., Machackova, I., Haruenkit, R., Park, Y.S., Jung, S.T., Yamamoto, K., Ayala, A.L.M., Katrich, E. and Trakhtenberg, S. 2004. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. *Food Chemistry*, 84, 503-504.
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177, 751-766.
- Goulas, A. and Kontominas, M.G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93, 511-520.
- Gökoğlu, N. and Yerlikaya, P. 2008. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1004-1008.
- Gökoğlu, N., Topuz, O.K. and Yerlikaya, P. 2009. Effects of pomegranate sauce on quality of marinated anchovy during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 113-118.
- Gölükcü, M., Tokgöz, H., ve Kıralan, M. 2008. Ülkemizde yetiştirilen önemli nar (*Punica granatum*) çeşitlerine ait çekirdeklerin bazı özellikleri. *Gıda*, 33(6); 281-290.
- Graham, H.N. 1992. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Preventive Medicine*, 21, 334-350.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. and Jiang, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23, 1719-1726.
- Haard, N.F. 1992. Technological aspects of extending prime quality of seafood: A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1(3/4); 9-27.

- Hagerman, A.E., Riedl, K.M. and Jones, G.A. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1887–1892.
- Harborne, J.B. 1989. General procedures and measurement of total phenolics. In P. M. Dey and J.B. Harborne (Eds.), *Methods in Plant Phenolics*, London: Academic Press, pp:2-9.
- Hassan, H.M.M. and Hassan, N.M.M. 2010. In vitro antioxidant and free radical scavenging activities of red grape seed extracts. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 5(2); 106-115.
- Heftaman, E. and Bennett, S.T. 1966. Identification of estrone in pomegranate seeds. *Phytochemistry*, 5, 1337-1340.
- Hernández-Hernández, E., Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M.E. and Legarreta, G. 2009. Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*, 81, 410–417.
- Ho, C.-T., Ferraro, T., Chen, Q., Rosen, R.T. and Huang, M.-T. 1994. Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer preventive properties. In *Food Phytochemicals for Cancer prevention II-Tea, Spices and Herbs*, ed C.-T. Ho, T. Osawa, M-T. Huang and R. T. Rosen, ACS Symposium Series 547, American Chemical Society, Washington, DC, pp: 2-19.
- Hao, Y.Y., Brackett, R.E. and Doyle, M.P. 1998. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. *J. Food Prot.* 61, 307–312.
- Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. 1989. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: Mechanism, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and Nutrition Research*, 33, 233-241.
- Huang, M.-T., Ho, C.-T., Wang, Z.Y., Ferraro, T., Finnegan- Olive, T., Lou, Y.-R., Mitchell, J. M., Laskin, J.D. and Newmark, H. 1992. Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion on mouse skin. *Carcinogenesis*, 13, 947-954.
- Huang, S.W. and Frankel, E.N. 1997. Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3033–3038.
- Hultin, H.O. 1994. Oxidation of lipids in Seafoods. In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Shahidi, F., Botta, J.R. (Eds.) Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp: 49-74.
- Ikawa, Y. 1998. Use of tea extracts (sanfood) in fish paste products. *New Food Industry*, 40, 33–39.

- Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. and Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chemistry, 73, 285-290.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T. and Sakariah, K.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. Food Research International, 36(2): 17–122.
- Jittrepotch, N., Ushio, H. and Ohshima, T. 2006. Oxidative stabilities of triacylglycerol and phospholipids fractions of cooked Japanese sardine meat during low temperature storage. Food Science, 99, 360-367.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2006. The oxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. Meat Science, 72, 446-456.
- Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. International Journal of Food Science and Technology, 45, 216-222.
- Kanner, J. and Rosenthal, I. 1992. An assessment of lipid oxidation in foods. Pure and Applied Chemistry 64: 1959–1964.
- Kanner, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products; quality implications. Meat Science, 36, 169–189.
- Karel, M., Schaich, K. and Roy, R.B. 1975. Interaction of peroxidizing methyl linoleate with some proteins and amino-acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23, 159-163.
- Kaya, Y., Turan, H., Erkoyuncu, İ., Sönmez, G. 2006. Sıcak Dumanlanmış palamut (*Sarda sarda*, Bloch, 1793) balığının buzdolabı koşullarında muhafazası. Turkish Journal of Fisheries Aquatic Sciences, 23(1/3): 457-460.
- Kelleher, S.D., Buck, E.M., Hultin, H.O., Parkin, K.L., Licciardello, J.J. and Damon, R.A. 1981. Chemical and physical changes in red hake blocks during frozen storage, Journal of Food Science, 47, 65-70.
- Kenar, M. 2009. Aromatik bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların balık filetosu üzerindeki duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Khan, N., Afaq, F., Kweon, M. H., Kim, K. and Mukhtar, H. 2007. Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. Cancer Research, 67, 3475–3482.

- Kikugawa, K., Kato, T. and Hayasaka, A. 1991. Formation of dityrosine and other fluorescent amino acids by reaction of amino acids with lipid hydroperoxides. *Lipids*, 26, 922–929.
- Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chemistry*, 97, 472–479.
- Kramer, R.E. 1985. Antioxidants in clove. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62, 111–113.
- Kulkarni, A.P. and Aradhya, S.M. 2005. Chemical changes and antioksidan activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319–324
- Kussi, T., Nikkila, D.E. and Sarolainen, K. 1975. Formation of malonaldehyde in frozen Baltic herring and its influence on changes in protein. *Zeitschrift fur Lebensmittle-Untersuchung und- Forschung*, 159, 285–290.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680–685.
- Larsen, H.R. 1997. Alpha-lipoic acid: the universal antioxidant. *International Health News*, 12, 51–62.
- Lau, D.W. and King, A.J. 2003. Pre- and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1602–1607.
- Lee, C. M., Trevino, B. and Chaipayat, M. 1996. A simple and rapid solvent extraction method for determining total lipids in fish tissue. *Journal of AOAC International*, 79, 487–492.
- Lee, Y.B., Hargus G.L., Kirkpatrick, J.A., Berner, D.L. and Forsythe, R.H. 1975. Mechanism of lipid oxidation in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Science*, 40, 964–96.
- Leheska, J. M., Boyce, J., Brooks, J. C., Hoover, L. C., Thompson, L. D. and Miller, F. 2006. Sensory attributes and phenolic content of precooked pork breakfast sausage with fruit purees. *Journal of Food Science*, 71, 249–252.
- Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.A.Jr. and Shadomy, H.J. 1985. *Manual of clinical microbiology* (Eds.) 4th Edn. American Society for Microbiology, Washington.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96, 254–260.

- Lindberg Madsen, H. and Bertelsen, G. 1995. Spices as antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 271–278.
- Liu, H. 1970. Catalysts of lipid peroxidation in meats. I. Linoleate peroxidation catalyzed by Metmb or Fe (II)-EDTA. *Journal of Food Science*, 35, 590-595.
- Löliger, J. 1983. Natural antioxidants. In J. C. Allen and R. J. Hamilton (Eds.), *Rancidity in foods*, London, UK: Applied Science Publishers, pp. 89–107.
- Lu, Y. and Foo, Y.L. 1999. The polyphenol constituents of grape pomace. *Food Chemistry*, 65, 1–8.
- Lue, S.S., Jhaveri, S.N., Karakoltsidis, P.A. and Constantinides, S.M. 1981. Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*): seasonal variation in proximate composition and distribution of chemical nutrients. *Journal of Food Science*, 46, 1635–1638.
- Lund, M.N., Lametsch, R., Hviid, M.S., Jensen, O.N. and Skibsted, L.H. 2007. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine *Longissimus dorsi* during chill storage. *Meat Science*, 77, 295–303.
- Lund, M.N., Hviid, M.S., Claudi-Magnussen, C. and Skibsted, L.H. 2008. Effects of dietary soybean oil on lipid and protein oxidation in pork patties during chill storage. *Meat Science*, 79, 727–733.
- Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P. and Estevez, M. 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55, 83-95.
- Luther, M., Parry, J., Moore, J., Meng, J.H., Zhang, Y.F., Cheng, Z.H., Yu, L. 2007. Inhibitory effect of chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their radical scavenging and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, 104, 1065–1073.
- Machado, T., Pinto, A., Pinto, M., Leal, I., Silva, M., Amaral, A., Kuster, R. and Netto dosSantos, K. 2003. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21, 279–284.
- Majsood, S. and Benjakul, S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119, 123-132.
- Mansour, E.H. and Khalil, A.H. 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. *Food Chemistry*, 69(2); 135-141.

- Maskan, M. 2006. Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, 72, 218–224.
- Marti, N., Perz-Vicente, A. and Garcia-Viguera, C. 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 217-221.
- Mazza, G. 1995. Anthocyanins in grapes and grapes products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 341–371.
- McCarrell, E., Gould, S., Fielder, M., Kelly, A., El Sankary, W. and Naughton, D. 2008. Antimicrobial activities of pomegranate rind extracts: enhancement by addition of metal salts and vitamin C. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 8, 64.
- McDonald, R.E. and Hultin, H.O. 1987. Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *Journal of Food Science*, 52, 15-27.
- Medina, I., Satue'-Gracia, M.T., German, J.B. and Frankel, E.N. 1999. Comparison of natural polyphenols antioxidant from extra virgin olive oil with synthetic antioxidants in tuna lipids during thermal oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4873–4879.
- Medina, I., González, M.J., Iglesias, J. and Hedges, N.D. 2009. Effect of hydroxycinnamic acids on lipid oxidation and protein changes as well as water holding capacity in frozen minced horse mackerel white muscle. *Food Chemistry*, 114, 881–888.
- Mielche, M.M. and Bertelsen, G. 1993. Effects of heat treatment on warmed-over flavour in ground beef during aerobic chill-storage. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 197, 8–13.
- Mielnik, M.B., Aaby, K. and Skrede, G. 2003. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat Science*, 65, 1147-1155.
- Mielnik, M.B., Olsen, E., Vogt, V., Adeline, D., and Skrede, G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT Food Science and Technology*, 41, 42-50.
- Miller, N.J. and Rice-Evans, C.A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60, 331-337.
- Miura, Y., Chiba, T., Miura, S., Tomita, I., Umegaki, K., Ikeda, M. and Tomita, T. 2000. Green tea polyphenols (flavan 3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins: an *ex vivo* study in humans. *The Journal of Nutritional*

Biochemistry, 11:216-222.

- Morrissey P.A., Buckley D.J., Sheehy P.J.A. Monahan F. J.1994. Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53:289–295.
- Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S. and Sayeed, S. 2007. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 72, 341–345.
- Nawwar, M.A.M. and Hussein, S.A.M., Merfort, I. 1994. Leaf phenolics of *Punica granatum*. *Phytochemistry*, 37, 1175-1177.
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G.S., Kakuda, Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 48(2):176-181.
- Naveena, B.M, Sen, A.R., Kingsly, R.P., Singh, D.B. and Kondaiah, N. 2008. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1807-1812.
- O’Grady, M.N., Carpenter, R., Lynch, P.B., O’Brien, N.M. and Kerry, J.P. 2008. Addition of grape seed extract and bearberry to porcine diets: Influence on quality attributes of raw and cooked pork. *Meat Science*, 78, 438–446.
- Özalp Özen, B., Eren, M., Pala, A. ve Soyer, A. 2011. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 724–731.
- Özkal, N. and Dinc, S. 1994. Evaluation of the pomegranate (*Punica granatum* L.) peels from the standpoint of pharmacy. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakültesi Dergisi*, 22, 21–29.
- Özkan, G., Sagdic, O., Baydar, N.G. and Karamahmutoglu, Z., 2004. Antibacterial activities and total phenolic contents of grape pomace extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 807-1811.
- Pandey, N.K., Anand, S.K., Mahapatra, C.M. and Verma, S.S. 1990. Effect of repeated freezing and thawing on physico-chemical, microbial and sensory characteristics of frozen chicken. *Indian Journal of Animal Sciences*, 60(12); 1495-1501.
- Pazos, M., Gallardo, J.M., Torres, J.L. and Medina, I. 2005a. Activity of grape polyphenol as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry*, 92, 547–557.
- Pazos, M., Gonza’lez, M.J., Gallardo, J.M. and Torres, J.L. 2005b. Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. *European Food Research and Technology*, 220, 514–519.

- Pazos, M., Lois, S., Torres, J.L. and Medina, I. 2006. Inhibition of hemoglobin- and iron-promoted oxidation in fish microsomes by natural phenolics. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 4417-4423
- Pearson, A.M., Gray, J.L., Wolzak, A.M. and Horenstein, N.A. 1983. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology*, 37(7); 121-129.
- Pokorny, J. 2001. Introduction. *Antioxidants in Food, Practical Applications*. Edited by J. Pokorny, N. Yanislhlieva, and M. Gordon. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England.
- Ramanathan, L. and Das, N.P. 1992. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 17-21.
- Ramesh, N. and Duda, J.L. 2001. Predicting migration of trace amounts of styrene in poly(styrene) below the glass transition temperature. *Food and Chemical Toxicology*, 39(4); 355-360.
- Record, I.R., McNerney, J.K., and Dreosti, I.E. 1996. Black tea, green tea, and tea polyphenols: effects on trace element status in weanling rats. *Biological Trace Element Research*, 53, 27-43.
- Reddy, M., Gupta, S., Jacob, M., Khan, S. and Ferreira, D. 2007. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Medica*, 73, 461-467.
- Reyftmann, J.P., Santus, R., Mazière, J.-C., Morlière, P., Salmon, S., Candide, C., Mazière, C. and Haigle, J. 1990. Sensitivity of tryptophan and related compounds to oxidation induced by lipid autoperoxidation. Application to human serum low- and high-density lipoproteins. *Biochimica Biophysica Acta*, 1042, 159-167.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956.
- Richards, M.P., Kelleher, S.D. and Hultin, H.O. 1998. Effect of washing with or without antioxidants on quality retention of mackerel fillets during refrigerated and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4363-4371.
- Richards, M.P. and Hultin, H.O. 2002. Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 555-564.
- Richards, M.P., Modra, A.M. and Li, R. 2002. Role of deoxyhemoglobin in lipid

oxidation of washed cod muscle mediated by trout, poultry and beef hemoglobins. *Meat Science* 62, 157-163.

- Rojas, M.C. and Brewer, M.S. 2008. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of frozen vacuum packaged beef and pork. *Journal of Food Quality*, 31, 173–185.
- Sánchez-Alonso, I., Jimenez-Escrig, A., Saura-Calixto, F. and Borderias, A.J. 2007. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of Lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*, 101, 372-378.
- Sanchez-Alonso, I. Jimenez-Escrig, A., Saura-Calixto, F. and Borderias, A.J. 2008. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *LWT*, 41, 42-50.
- Sanchez-Alonso, I. and Borderias, A.J. 2008. Technological effect of red grape antioxidant dietary fibre added to minced fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1009-1018.
- Sarma, A.D., Sreelakshmi, Y. and Sharma, R., 1997. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation. *Phytochemistry* 45, 671–674.
- Schaefer, D. M., Liu, Q., Faustman, C. and Yin, M. C. 1995. Supranutritional administration of vitamins E and C improves oxidative stability of beef. *Journal of Nutrition*, 125, 1792–1798.
- Sebranek, J.G. 1996. Poultry and poultry products. In: *Freezing Effects on Food Quality*, ed: Jeremiah, L.E., Marcel Dekker, Inc., New York, pp: 85-106.
- Seeram, N., Lee, R., Hardy, M. and Heber, D. 2005. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and Purification Technology*, 41(1); 49-55.
- Serdaroğlu, M. and Felekoğlu, E. 2005. Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*, 28, 109–120.
- Shahid, I., HaLeeem, S., Akthar, M., Zia-ul-Haq, M., Akbar, J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Research International*, 41, 194–200.
- Shahidi, F., Janita, P.K., and Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67–103.
- Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidants An Overview. In: F. Shaihidi, Editor, *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Illinois, 1–11.

- Shahidi, F. and Alexander, D.M. 1998. Green tea catechins as inhibitors of oxidation of meat lipids. *Journal of Food Lipids*, 5, 125-133.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J. and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary species and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology* 117, 112–119.
- Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2); 421-424.
- Sigfusson, H. and Hultin, H.O. 2002. Partitioning of d-tocopherol in aqueous mixtures of triacylglycerols and isolated muscle membranes. *Journal of American Oil Chemical Society*, 79, 691–697.
- Sikorski, Z.E., Kolakowska, A. and Burt, J.R. 1990. Post-harvest biochemical and microbial changes. In: *Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation*. Sikorski, Z.E. (Ed.), pp 55-75, CRC Press: Boca Raton, FL.
- Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Morthy, V. and Ramassamy, C. 2008. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism and cellular and molecular mechanism. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 4855–4873.
- Singleton, V.L., and Rossi, J.A.Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Smith, D.M. 1987. Functional and biochemical changes in deboned turkey meat due to frozen storage and lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 52, 22–27.
- Soszynski, M. and Bartosz, G. 1997. Decrease in accessible thiols as an index of oxidative damage to membrane-proteins. *Free radical biology and medicine* 23:3, 463-469.
- Souquet, J.-M., Cheynier, V., Brossaud, F. and Moutounet, M. 1996. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43, 509–512.
- Soyer, A. 1995. Dondurulmuş kolyoz (*Scomber japonicus*) balıklarında lipid oksidasyonu üzerine bazı antioksidanların ve vakum paketlemenin etkisi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Soyer, A., and Şahin, M.E. 1999. Effect of glazing and storage time on lipid oxidation of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 575-584.
- Soyer, A. and Hultin, H.O. 2000. Kinetics of oxidation of the lipids and proteins of cod

- sarcoplasmic reticulum. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6); 2127-2134.
- Soyer, A., Özalp, B., Dalmış, Ü. and Bilgin, V. 2010. Effects of freezing temperatures and frozen storage time on lipid and protein oxidation in chicken meats. Food Chemistry, 120, 1025-1030.
- Srinivasan, S. and Hultin, H.O. 1995 Hydroxyl radical modification of fish muscle proteins. Journal of Food Biochemistry, 18, 405-425.
- Stadtman E.R. and Berlett B.S. 1991. Fenton chemistry, Amino acid oxidation. Journal of Biological Chemistry, 266, 17201-17211.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach, New York: Mc.Graw-Hill.
- Sumner, M.D., Elliott-Eller, M., Weidner, G., Daubenmier, J.J., Chew, M.H., Marlin, R., Raisin, C.J. and Ornish, D. 2005. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. American Journal of Cardiology, 96, 810–814.
- Tanaka, T., Nonaka, G.I. and Nishioka, I. 1986. Tannins and related compounds. XL. Revision of the structures of Punicalin and Punicalagin, and isolation and characterization of 2-Galloylpunicalin from the bark of *Punica granatum* L. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 34, 650-655.
- Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheehan, D. and Buckley, D.J. 2002. Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. Food Chemistry, 76(1); 45–51.
- Teissedre, P. L., Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., Peteg, H. and German, B. 1996. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. Journal of the Science of Food and Agriculture, 70, 55–61.
- Torel, J., Cillard, J. and Cillard, P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. Phytochemistry, 25, 383–385.
- Torres, J.L., Varela, B., Garcí'a, M.T., Carilla, J., Matito, C. and Centelles, J.J. 2002. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavomol content, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 7548–7555.
- Tosun, I. ve Karadeniz, B. 2005. Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20, 78–83.
- Turfan, Ö., Yemis, O. ve Özkan, M. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Yüksek lisans tezi (yöntem çalışmasından bir bölüm), Ankara Üniversitesi, Ankara.

- Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1996. Stabilization of seal blubber and menhaden oils with green tea catechins. *Journal of the American Oil Chemical Society*, 73, 1183–1190.
- Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63(3); 335-342.
- Wang, S.M. and Zhao, J.F. 1997. Antioxidant activities of tea polyphenol on edible oils. *Western Cereal and Oil Technology*, 22, 44–46.
- Wu, J.M., Lee, M.H., Ho, C.T. and Chang, S.S. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 59(8); 339–345.
- Xiong, Y.L. 2000. Protein Oxidation and Implications for Muscle Foods Quality. In E.A. Decker, C. Faustman, and C. J. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods*, New York: Wiley, Pp. 85–111.
- Valdimarsson, G. 2005. Challenges for the global seafood industry. *FAO Fisheries Proceedings*, 7, 17–26.
- Varlık, C., Baygar, T., Özden, Ö., Erkan, N., Erkan, N. ve Metin, S. 2000. Soğukta depolanan karideslerin (*Parapenaeus longirostris*, LUCAS 1846) bazı duyusal, fiziksel ve kimyasal parametrelerinin belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 181–185.
- Voravuthikunchai, S., Lortheeranuwat, A., Jeeju, W., Sririrak, T., Phongpaichit, S. and Supawita, T., 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 49–54.
- Voravuthikunchai, S., Sririrak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T. and Honda, T., 2005. Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Health Sciences*, 51, 590–596.
- Yamane, T., Nakatani, H., Kikuoka, N., Matsumoto, H., Iwata, Y., Kitao, Y., Oya, K., and Takahashi, T. 1996. Inhibitory effects and toxicity of green tea polyphenols for gastrointestinal carcinogenesis, *Cancer*, 77, 1662–1667.
- Yerlikaya, P. and Gökoğlu, N. 2010. Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 252–257.
- Yılmaz, Y. and Toledo, R.T, 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 255–260.
- Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J. and Schmidt, G. 2002. Rosemary extracts as inhibitors of

lipid oxidation and colour change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 67, 582-585.

Zakrys, P.I., Hogan, S.A., O'Sullivan, M.G., Allen, P. and Kerry, J.P. 2008. Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 79, 648-655.

EKLER

EK 1. Duyusal Değerlendirme Formu	263
EK 2. Standart Eğriler	265
EK 3. Bitkisel Antioksidan Kaynaklarında Fenoliklere Ait HPLC Kromatogramları.....	267
EK 4. Araştırma verilerinin varyans analiz sonuçları	268
EK 5. Araştırma verilerinin korelasyon analizi sonuçları	284

EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu

DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU (KOKU)

Adı-Soyadı : _____ Tarih : _____

* Şişe kapaklarını açıp, örnekleri koklayarak değerlendirme yapınız ve örnekler arasında su koklayarak, bir önceki örneğin etkisini gideriniz.

Taze balık (deniz yosunu kokusu, 10 çok yoğun 😊, 0 hiç koku yok 😊)

ÖRNEK KODU	DUYUSAL ÖLÇEK										
1 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
2 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
4 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
5 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

Ransit (acılaşma kokusu, 10 hiç koku yok 😊, 0 çok yoğun 😊)

ÖRNEK KODU	DUYUSAL ÖLÇEK										
1 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
2 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
4 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
5 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

Yağsı (10 hiç koku yok 😊, 0 çok yoğun 😊)

ÖRNEK KODU	DUYUSAL ÖLÇEK										
1 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
2 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
4 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
5 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

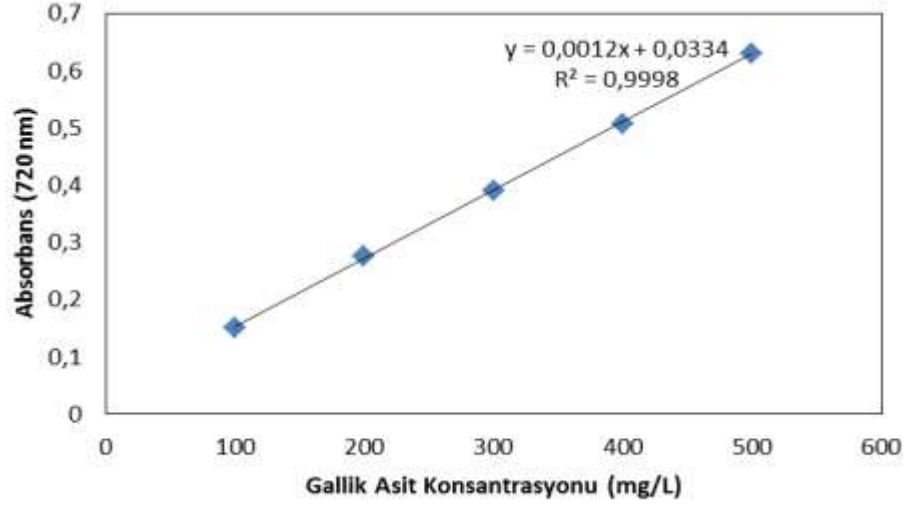
Boya (10 hiç koku yok 😊, 0 çok yoğun 😊)

ÖRNEK KODU	DUYUSAL ÖLÇEK										
1 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
2 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
4 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
5 _____	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

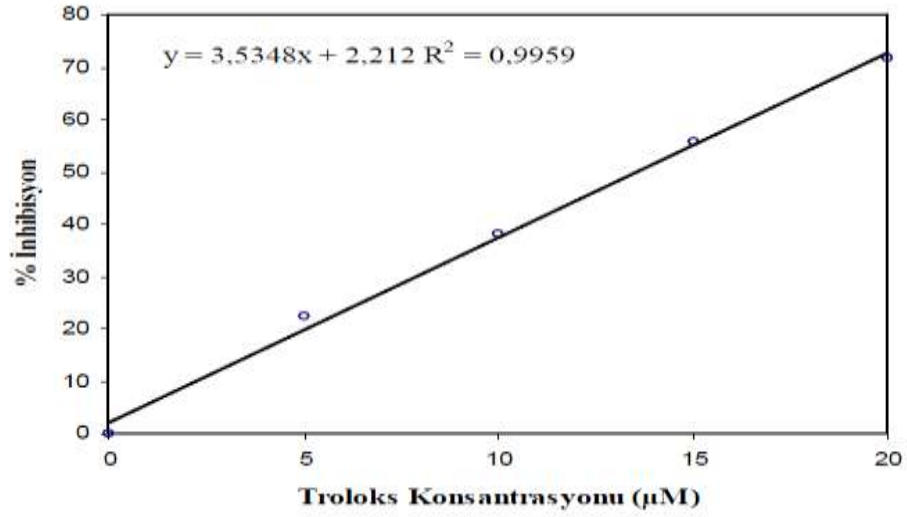
Kimyasal, bitkisel ekstrakt (10 hiç koku yok 😊 , 0 çok yoğun 😊)
ÖRNEK KODU DUYUSAL ÖLÇEK

1 _____	<u>10</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
2 _____	<u>10</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3 _____	<u>10</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
4 _____	<u>10</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
5 _____	<u>10</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

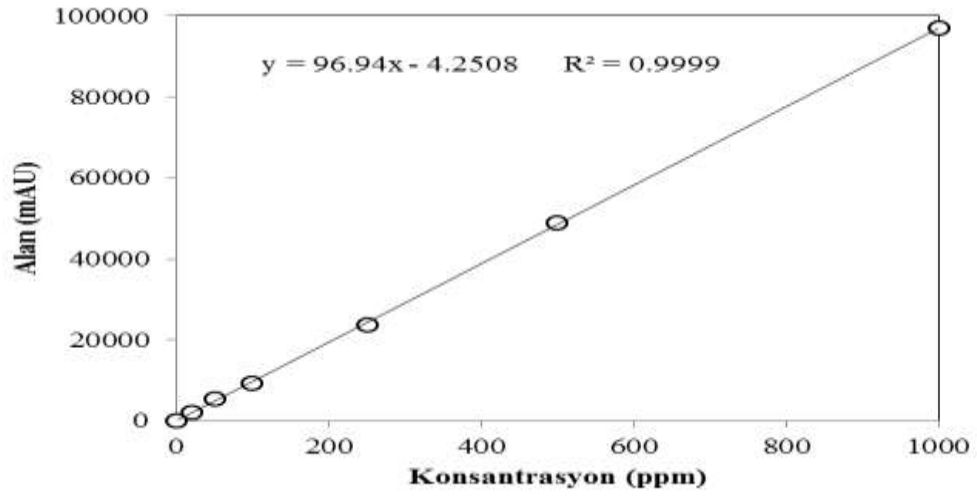
EK 2. Standart Eğriler



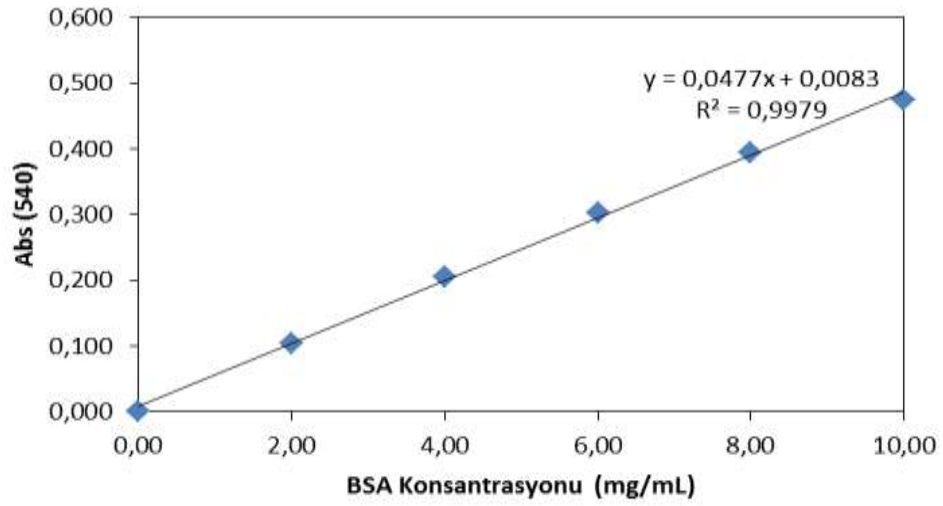
Şekil 1 Gallik asit standart eğrisi (toplam fenolik madde miktarı için)



Şekil 2 Troloks standart eğrisi

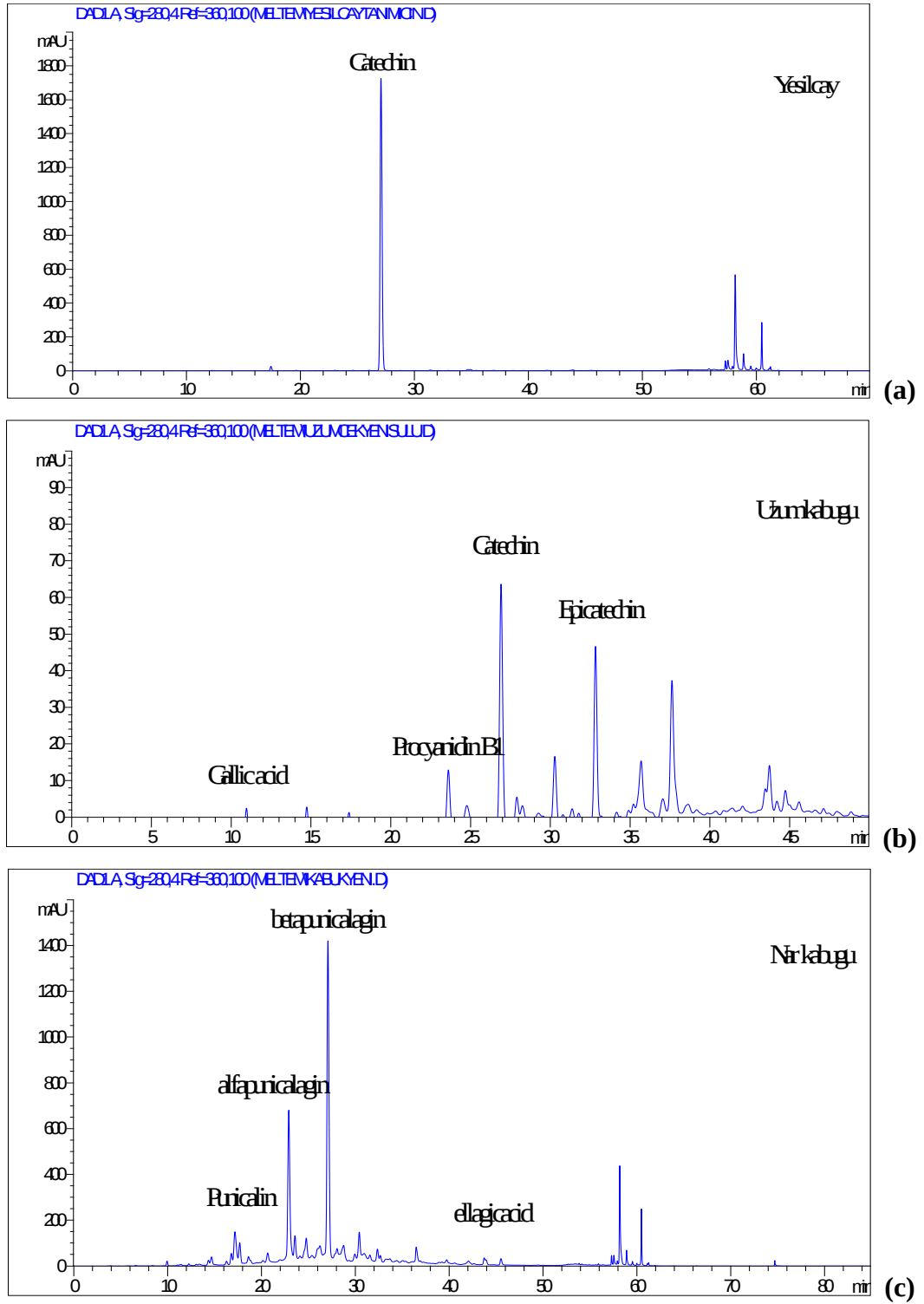


Şekil 3 Gallik asit standart eğrisi (fenolik madde dağılımı için)



Şekil 4 BSA standart eğrisi

EK 3 Bitkisel Antioksidan Kaynaklarında Fenoliklere Ait HPLC Kromatogramları



Şekil 1 Bitkisel antioksidan kaynaklarında fenoliklere ait HPLC kromatogramları
a. Yeşil çay ekstraktı, b. Üzüm çekirdeği ekstraktı, c. Nar kabuğu ekstraktı

EK 4. Araştırma Verilerinin Varyans Analiz Sonuçları

Soğukta Depolanan Uskumru Kıymasına Ait Sonuçlar

Çizelge 1. Soğukta depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları

Nem			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.18595	1.89
Depolama Süresi	1	3.71459	37.81**
Uygulama x Süre	4	0.05933	0.60
Hata	10	0.09825	
Toplam	19		
Protein			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.02913	0.33
Depolama Süresi	1	0.07022	0.70
Uygulama x Süre	4	0.03117	0.35
Hata	10	0.08891	
Toplam	19		
Kül			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.005102	0.99
Depolama Süresi	1	0.055688	10.76**
Uygulama x Süre	4	0.003589	0.69
Hata	10	0.005174	
Toplam	19		
Yağ			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0487	0.40
Depolama Süresi	1	0.0000	0.00
Uygulama x Süre	4	0.0000	0.00
Hata	10	0.1208	
Toplam	19		
pH			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.07983	148.53**
Depolama Süresi	3	1.84674	3435.80**
Uygulama x Süre	12	0.03346	62.26**
Hata	20	0.00054	
Toplam	39		
L*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	32.180	18.43**
Depolama Süresi	3	70.390	40.31**
Uygulama x Süre	12	3.230	1.85
Hata	20	1.746	
Toplam	39		

Çizelge 1. Soğukta depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

a*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	3.7273	77.76**
Depolama Süresi	3	0.4323	9.02**
Uygulama x Süre	12	0.7408	15.46**
Hata	20	0.0479	
Toplam	39		
b*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	11.2002	47.35**
Depolama Süresi	3	0.0757	0.32
Uygulama x Süre	12	1.7044	7.21**
Hata	20	0.2365	
Toplam	39		
C			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	13.1206	72.26**
Depolama Süresi	3	0.0817	0.45
Uygulama x Süre	12	1.2397	6.83**
Hata	20	0.1816	
Toplam	39		
h°			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	50.619	19.62**
Depolama Süresi	3	8.985	3.48*
Uygulama x Süre	12	26.245	10.17**
Hata	20	2.579	
Toplam	39		
TAPB			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	3.4309	727.15**
Depolama Süresi	3	7.9698	1689.14**
Uygulama x Süre	12	0.4389	93.03**
Hata	20	0.0047	
Toplam	39		
Heme demir			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.5712	78.02**
Depolama Süresi	3	48.8166	6667.8**
Uygulama x Süre	12	0.0803	10.97**
Hata	20	0.0073	
Toplam	39		
TVB-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	47.58	346.83**
Depolama Süresi	3	2059.66	15013.34**
Uygulama x Süre	12	13.35	97.30**
Hata	20	0.14	
Toplam	39		

Çizelge 1. Soğukta depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

TMA-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.699	363.24**
Depolama Süresi	3	70.536	9598.27**
Uygulama x Süre	12	0.859	116.92**
Hata	20	0.007	
Toplam	39		
Duyusal puan – taze balık kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	2	53.9093	2527**
Depolama Süresi	4	0.7833	36.72**
Uygulama x Süre	8	0.2043	9.58**
Hata	15	0.0213	
Toplam	29		
Duyusal puan – ransit koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	2	58.1920	3117.43**
Depolama Süresi	4	1.3920	74.57**
Uygulama x Süre	8	0.3570	19.12**
Hata	15	0.0187	
Toplam	29		
Duyusal puan – yağsı koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	2	40.2973	1314.04**
Depolama Süresi	4	1.2387	40.39**
Uygulama x Süre	8	0.2657	8.66**
Hata	15	0.0307	
Toplam	29		
Duyusal puan – boya kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	2	28.8253	900.79**
Depolama Süresi	4	1.6147	50.46**
Uygulama x Süre	8	0.3037	9.49**
Hata	15	0.0320	
Toplam	29		
Duyusal puan – kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama		2.30533	133**
Depolama Süresi		0.5000	28.85**
Uygulama x Süre		0.04200	2.42
Hata		0.01733	
Toplam			
Peroksit değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.292	32.87**
Depolama Süresi	3	488.129	12419.22**
Uygulama x Süre	12	11.442	291.10**
Hata	20	0.039	
Toplam	39		

Çizelge 1. Soğukta depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

TBARM miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	3.4309	727.15**
Depolama Süresi	3	7.9698	1689.14**
Uygulama x Süre	12	0.4389	93.03**
Hata	20	0.0047	
Toplam	39		
p-An değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	82.33	525.13**
Depolama Süresi	3	4699.65	29977.35**
Uygulama x Süre	12	23.07	147.15**
Hata	20	0.16	
Toplam	39		
Karbonil miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.20653	147.07**
Depolama Süresi	3	0.85036	605.53**
Uygulama x Süre	12	0.02994	21.32**
Hata	20	0.00140	
Toplam	39		
Sülfidril miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	57.50	670**
Depolama Süresi	3	895.58	10435.98**
Uygulama x Süre	12	11.23	130.87**
Hata	20	0.09	
Toplam	39		
TPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.8703	38.35**
Depolama Süresi	3	40.5993	1789.06**
Uygulama x Süre	12	0.2084	9.18**
Hata	20	0.0227	
Toplam	39		
SPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0825	4.030
Depolama Süresi	3	7.5513	368.72**
Uygulama x Süre	12	0.0283	1.38
Hata	20	0.0205	
Toplam	39		
MPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.8434	23.83**
Depolama Süresi	3	13.2766	375.07**
Uygulama x Süre	12	0.1826	5.16**
Hata	20	0.0354	
Toplam	39		

*P<0.05, ** P<0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 2. Soğukta depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları

Nem			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.6606	2.52
Depolama Süresi	1	4.9554	18.87**
Uygulama x Süre	4	0.2377	0.91
Hata	10	0.2626	
Toplam	19		
Protein			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0571	0.89
Depolama Süresi	1	8.4876	132.27**
Uygulama x Süre	4	0.0979	1.53
Hata	10	0.0642	
Toplam	19		
Kül			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.001514	0.25
Depolama Süresi	1	0.153325	24.90**
Uygulama x Süre	4	0.002065	0.34
Hata	10	0.006158	
Toplam	19		
Yağ			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.15151	1.89
Depolama Süresi	1	4.40442	54.82**
Uygulama x Süre	4	0.06019	0.75
Hata	10	0.08034	
Toplam	19		
pH			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.17420	60.02**
Depolama Süresi	3	4.53673	1563.04**
Uygulama x Süre	12	0.08879	30.59**
Hata	20	0.00290	
Toplam	39		
L*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	53.129	48.23**
Depolama Süresi	3	169.941	154.26**
Uygulama x Süre	12	7.253	6.58**
Hata	20	1.102	
Toplam	39		
a*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	3.3904	30.66**
Depolama Süresi	3	3.5807	32.38**
Uygulama x Süre	12	3.1664	28.63**
Hata	20	0.1106	
Toplam	39		

Çizelge 2. Soğukta depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

b*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	59.416	292.27**
Depolama Süresi	3	0.594	2.92
Uygulama x Süre	12	13.744	67.61**
Hata	20	0.203	
Toplam	39		
C			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	45.698	176.47**
Depolama Süresi	3	0.476	1.84
Uygulama x Süre	12	14.606	56.410**
Hata	20	0.259	
Toplam	39		
h°			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	377.42	181.16**
Depolama Süresi	3	99.39	47.71**
Uygulama x Süre	12	101.12	48.54**
Hata	20	2.08	
Toplam	39		
TAPB			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.4901	677.77**
Depolama Süresi	3	16.1819	22375.98**
Uygulama x Süre	12	0.0319	44.13**
Hata	20	0.0007	
Toplam	39		
Heme demir			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.4016	90.67**
Depolama Süresi	3	50.7498	11458.63**
Uygulama x Süre	12	0.1039	23.46**
Hata	20	0.0044	
Toplam	39		
TVB-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	202.07	1280.11**
Depolama Süresi	3	4490.00	28443.62**
Uygulama x Süre	12	64.30	407.36**
Hata	20	0.16	
Toplam	39		
TMA-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.199	158.58**
Depolama Süresi	3	74.619	5380.07**
Uygulama x Süre	12	0.831	59.89**
Hata	20	0.014	
Toplam	39		

Çizelge 2. Soğukta depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

Duyusal puan – taze balık kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.893	50.71**
Depolama Süresi	2	93.333	2500.00**
Uygulama x Süre	8	0.493	13.21**
Hata	15	0.037	
Toplam	29		
Duyusal puan – ransit koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.373	49.05**
Depolama Süresi	2	104.889	3746.05**
Uygulama x Süre	8	0.349	12.48**
Hata	15	0.028	
Toplam	29		
duyusal puan – yağsı koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.0547	43.94**
Depolama Süresi	2	51.9693	2165.39**
Uygulama x Süre	8	0.2727	11.36**
Hata	15	0.0240	
Toplam	29		
duyusal puan – boya kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.8553	53.46**
Depolama Süresi	2	45.4453	2840.33**
Uygulama x Süre	8	0.2703	16.90**
Hata	15	0.0160	
Toplam	29		
Duyusal puan – kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.7687	32.03**
Depolama Süresi	2	6.4653	269.39**
Uygulama x Süre	8	0.1337	5.57**
Hata	15	0.0240	
Toplam	29		
Peroksit değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	17.502	459.06**
Depolama Süresi	4	381.322	10001.90**
Uygulama x Süre	16	29.185	765.50**
Hata	25	0.038	
Toplam	49		
TBARM miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	4.7670	553.09**
Depolama Süresi	3	21.1852	2458.01**
Uygulama x Süre	12	0.6229	72.27**
Hata	20	0.0086	
Toplam	39		

Çizelge 2. Soğukta depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

para-Anisidin değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	223.9	300.35**
Depolama Süresi	3	18432.8	24730.26**
Uygulama x Süre	12	63.1	84.65**
Hata	20	0.7	
Toplam	39		
Karbonil miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.58778	391.13**
Depolama Süresi	3	2.41675	1608.19**
Uygulama x Süre	12	0.10424	69.36**
Hata	20	0.00150	
Toplam	39		
Sülfidril miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	65.60	468.10**
Depolama Süresi	3	1397.59	9972.18**
Uygulama x Süre	12	11.26	80.32**
Hata	20	0.14	
Toplam	39		
TPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.820	54.82**
Depolama Süresi	3	65.649	1276.02**
Uygulama x Süre	12	0.791	15.37**
Hata	20	0.051	
Toplam	39		
SPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0301	2.14
Depolama Süresi	3	7.6868	544.78**
Uygulama x Süre	12	0.0605	4.29**
Hata	20	0.0141	
Toplam	39		
MPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.9905	45.84**
Depolama Süresi	3	28.6957	439.87**
Uygulama x Süre	12	0.5601	8.59**
Hata	20	0.0652	
Toplam	39		

*P<0.05, ** P<0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 3. Dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları

Nem			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0255	0.66
Depolama Süresi	1	63.1589	1626.38**
Uygulama x Süre	4	0.1150	2.96
Hata	10	0.0388	
Toplam	19		
Protein			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.055	0.79
Depolama Süresi	1	7.265	5.45*
Uygulama x Süre	4	1.314	0.99
Hata	10	1.333	
Toplam	19		
Kül			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.004241	1.05
Depolama Süresi	1	0.009086	2.25
Uygulama x Süre	4	0.006194	1.53
Hata	10	0.004038	
Toplam	19		
Yağ			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.05342	1.20
Depolama Süresi	1	4.20032	94.37**
Uygulama x Süre	4	0.04633	1.04
Hata	10	0.04451	
Toplam	19		
pH değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.001960	24.94**
Depolama Süresi	6	0.059809	761.20**
Uygulama x Süre	24	0.000299	3.80**
Hata	35	0.000079	
Toplam	69		
L*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	67.57	6.67**
Depolama Süresi	6	164.42	16.24**
Uygulama x Süre	24	8.99	0.89
Hata	35	10.13	
Toplam	69		
a*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	6.7344	17.97**
Depolama Süresi	6	3.7026	9.88**
Uygulama x Süre	24	0.6407	1.71
Hata	35	0.3748	
Toplam	69		

Çizelge 3. Dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

b*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	7.249	3.64*
Depolama Süresi	6	77.237	38.80**
Uygulama x Süre	24	3.932	1.98*
Hata	35	1.991	
Toplam	69		
C			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	7.752	3.99**
Depolama Süresi	6	79.308	40.81**
Uygulama x Süre	24	3.537	1.82
Hata	35	1.943	
Toplam	69		
h°			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	145,58	1,55
Depolama Süresi	6	161,50	1,72
Uygulama x Süre	24	70,75	0,76
Hata	35	93,70	
Toplam	69		
TAPB			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.05816	85.96**
Depolama Süresi	6	1.08823	1608.58**
Uygulama x Süre	24	0.00781	11.54**
Hata	35	0.00068	
Toplam	69		
Heme demir			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.2879	63.79**
Depolama Süresi	6	14.6874	3253.83**
Uygulama x Süre	24	0.1223	27.10**
Hata	35	0.0045	
Toplam	69		
TVB-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	35.332	444.22**
Depolama Süresi	6	235.564	2961.73**
Uygulama x Süre	24	1.059	13.31**
Hata	35	0.080	
Toplam	69		
TMA-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.53086	373.73**
Depolama Süresi	6	3.45723	2433.95**
Uygulama x Süre	24	0.04657	32.79**
Hata	35	0.00142	
Toplam	69		

Çizelge 3. Dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

Duyusal puan – taze balık kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.4025	19.29**
Depolama Süresi	6	8.9108	122.55**
Uygulama x Süre	24	0.1316	1.81
Hata	35	0.0727	
Toplam	69		
Duyusal puan – ransit koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.0020	31.31**
Depolama Süresi	6	14.9945	468.58**
Uygulama x Süre	24	0.0573	1.79
Hata	35	0.0320	
Toplam	69		
Duyusal puan – yağsı koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.1141	93.07**
Depolama Süresi	6	12.7600	561.76**
Uygulama x Süre	24	0.1101	4.85**
Hata	35	0.0227	
Toplam	69		
Duyusal puan – boya kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.8832	65.77**
Depolama Süresi	6	7.8993	588.24**
Uygulama x Süre	24	0.0695	5.17**
Hata	35	0.0134	
Toplam	69		
Duyusal puan – kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.4791	19.73**
Depolama Süresi	6	6.5930	271.48**
Uygulama x Süre	24	0.1387	5.71**
Hata	35	0.0243	
Toplam	69		
Peroksit değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	155.615	2125.21**
Depolama Süresi	6	71.144	971.61**
Uygulama x Süre	24	4.986	68.09**
Hata	35	0.073	
Toplam	69		
TBARM miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	45.890	560.14**
Depolama Süresi	6	79.369	968.78**
Uygulama x Süre	24	4.265	52.06**
Hata	35	0.082	
Toplam	69		

Çizelge 3. Dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

p-An değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	485.4	266.34**
Depolama Süresi	6	5608.3	3077.42**
Uygulama x Süre	24	37.2	20.43**
Hata	35	1.8	
Toplam	69		
Karbonil miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.06807	82.56**
Depolama Süresi	6	1.33189	1615.33**
Uygulama x Süre	24	0.00639	7.74**
Hata	35	0.00082	
Toplam	69		
Sülfidril miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	56.25	198.29**
Depolama Süresi	6	2417.42	8874.26**
Uygulama x Süre	24	4.22	14.88**
Hata	35	0.28	
Toplam	69		
TPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	7.904	240.47**
Depolama Süresi	6	251.684	7656.93**
Uygulama x Süre	24	1.150	34.98**
Hata	35	0.033	
Toplam	69		
SPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.6173	42.70**
Depolama Süresi	6	6.4635	447.07**
Uygulama x Süre	24	0.1324	9.16**
Hata	35	0.0145	
Toplam	69		
MPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	4.362	132.15**
Depolama Süresi	6	178.123	5396.47**
Uygulama x Süre	24	1.495	45.29**
Hata	35	0.033	
Toplam	69		

*P<0.05, ** P<0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4. Dondurularak depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları

Nem			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.2778	6.60**
Depolama Süresi	1	29.1097	691.98**
Uygulama x Süre	4	0.1894	4.50*
Hata	10	0.0421	
Toplam	19		
Protein			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.05787	1.71
Depolama Süresi	1	7.20619	212.88**
Uygulama x Süre	4	0.08541	2.52
Hata	10	0.03385	
Toplam	19		
Kül			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0,01362	0,97
Depolama Süresi	1	0,03302	2,34
Uygulama x Süre	4	0,04720	3,35
Hata	10	0,01409	
Toplam	19		
Yağ			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.0737	2.99
Depolama Süresi	1	10.1755	413.58**
Uygulama x Süre	4	0.0759	3.09
Hata	10	0.0246	
Toplam	19		
pH			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.002241	18.08**
Depolama Süresi	6	0.128437	1036.38**
Uygulama x Süre	24	0.000889	7.17**
Hata	35	0.000124	
Toplam	69		
L*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	16.763	1.79
Depolama Süresi	6	90.538	9.69**
Uygulama x Süre	24	18.054	1.93*
Hata	35	9.343	
Toplam	69		
a*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	9.022	6.56**
Depolama Süresi	6	30.072	21.86**
Uygulama x Süre	24	1.470	1.07
Hata	35	1.376	
Toplam	69		

Çizelge 4. Dondurularak depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

b*			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	31.365	5.85**
Depolama Süresi	6	59.422	11.08**
Uygulama x Süre	24	3.898	0.73
Hata	35	5.361	
Toplam	69		
C			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	32.910	6.17**
Depolama Süresi	6	56.880	10.67**
Uygulama x Süre	24	4.421	0.83
Hata	35	5.331	
Toplam	69		
h°			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	76.96	1.03
Depolama Süresi	6	1821.85	24.49**
Uygulama x Süre	24	65.49	0.88
Hata	35	74.38	
Toplam	69		
TAPB			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.14684	160.77**
Depolama Süresi	6	1.98323	2171.29**
Uygulama x Süre	24	0.01212	13.27**
Hata	35	0.00091	
Toplam	69		
Heme demir			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.2300	100.71**
Depolama Süresi	6	38.9753	3191.34**
Uygulama x Süre	24	0.4865	39.84**
Hata	35	0.0122	
Toplam	69		
TVB-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	28.871	281.97**
Depolama Süresi	6	158.124	1544.29**
Uygulama x Süre	24	1.668	16.29**
Hata	35	0.102	
Toplam	69		
TMA-N			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.4874	989.77**
Depolama Süresi	6	5.6242	11421.19**
Uygulama x Süre	24	0.0343	69.59**
Hata	35	0.0005	
Toplam	69		

Çizelge 4. Dondurularak depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

Duyusal puan – taze balık kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	2.2986	45.20**
Depolama Süresi	6	10.1440	199.46**
Uygulama x Süre	24	0.1759	3.46**
Hata	35	0.0509	
Toplam	69		
Duyusal puan – ransit koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.2980	26.41**
Depolama Süresi	6	14.4970	295.00**
Uygulama x Süre	24	0.1077	2.19*
Hata	35	0.0491	
Toplam	69		
Duyusal puan – yağsı koku			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.2457	24.77**
Depolama Süresi	6	10.6291	211.38**
Uygulama x Süre	24	0.1527	3.04**
Hata	35	0.0503	
Toplam	69		
Duyusal puan – boya kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.7894	17.49**
Depolama Süresi	6	11.8690	262.92**
Uygulama x Süre	24	0.0611	1.35
Hata	35	0.0451	
Toplam	69		
Duyusal puan – kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.2820	31.60**
Depolama Süresi	6	6.7051	165.27**
Uygulama x Süre	24	0.0730	1.80
Hata	35	0.0406	
Toplam	69		
Peroksit değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	81.125	220.23**
Depolama Süresi	6	175.540	476.54**
Uygulama x Süre	24	15.885	43.12**
Hata	35	0.368	
Toplam	69		
TBARM miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	6.9098	201.28**
Depolama Süresi	6	27.0396	787.65**
Uygulama x Süre	24	2.4276	70.71**
Hata	35	0.0343	
Toplam	69		

Çizelge 4. Dondurularak depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerine antioksidan uygulamasının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonuçları (devam)

p-An değeri			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	600.92	606.12**
Depolama Süresi	6	1963.08	1980.07**
Uygulama x Süre	24	54.23	54.70**
Hata	35	0.99	
Toplam	69		
Karbonil miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	0.047214	77.70**
Depolama Süresi	6	0.283127	465.96**
Uygulama x Süre	24	0.002539	4.18**
Hata	35	0.000608	
Toplam	69		
Sülfidril miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	75.952	268.39**
Depolama Süresi	6	462.115	1632.93**
Uygulama x Süre	24	4.157	14.69**
Hata	35	0.283	
Toplam	69		
TPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	4.7320	135.89**
Depolama Süresi	6	48.0915	1381.06**
Uygulama x Süre	24	0.1265	3.63**
Hata	35	0.0348	
Toplam	69		
SPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.15413	94.79**
Depolama Süresi	6	3.68666	302.79**
Uygulama x Süre	24	0.01739	1.43
Hata	35	0.01218	
Toplam	69		
MPÇ miktarı			
Kaynak	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama	4	1.6748	54.63**
Depolama Süresi	6	25.5760	834.24**
Uygulama x Süre	24	0.1523	4.97**
Hata	35	0.0307	
Toplam	69		

*P<0.05, ** P<0.01 düzeyinde önemlidir.

EK 5. Araştırma Verilerinin Korelasyon Analizi Sonuçları

Çizelge 1. Soğukta depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerinin korelasyon analizi sonuçları

Parametre	TPAB	TBARM	TVB-N	TMA-N	Sülfidril
pH Değeri	0.553	-	0.816	0.783	-
TVB-N Miktarı	0.890*	-	-	-	-
TMA-N Miktarı	0.882*	-	0.995**	-	-
PD	-	0.778	-	-	-
Sülfidril Miktarı	-	-0.754	-	-	-
Karbonil Miktarı	-	0.749	-	-	-0.926*

*P<0.05, **p<0.01 seviyesinde önemli.

Çizelge 2. Soğukta depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerinin korelasyon analizi sonuçları

Parametre	TPAB	TBARM	TVB-N	TMA-N	Sülfidril
pH Değeri	0.799	-	0.678	0.812	-
TVB-N Miktarı	0.957*	-	-	-	-
TMA-N Miktarı	0.961**	-	0.931*	-	-
PD	-	0.894*	-	-	-
Sülfidril Miktarı	-	-0.874	-	-	-
Karbonil Miktarı	-	0.982**	-	-	-0.950*

*P<0.05, **p<0.01 seviyesinde önemli.

Çizelge 3. Dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalite özelliklerinin korelasyon analizi sonuçları

Parametre	TPAB	TBARM	TVB-N	TMA-N	Sülfidril
pH Değeri	-0.261	-	-0.311	-0.457	-
TVB-N Miktarı	0.765	-	-	-	-
TMA-N Miktarı	0.892*	-	0.679*	-	-
PD	-	0.804	-	-	-
Sülfidril Miktarı	-	-0.577	-	-	-
Karbonil Miktarı	-	0.690	-	-	-0.972*

*P<0.05 seviyesinde önemli.

Çizelge 4. Dondurularak depolanan uskumru filetosunun kalite özelliklerinin korelasyon analizi sonuçları

Parametre	TPAB	TBARM	TVB-N	TMA-N	Sülfidril
pH Değeri	0.212	-	0.472	0.124	-
TVB-N Miktarı	0.675	-	-	-	-
TMA-N Miktarı	0.764	-	0.857	-	-
PD	-	0.974**	-	-	-
Sülfidril Miktarı	-	-0.945*	-	-	-
Karbonil Miktarı	-	0.956*	-	-	-0.954*

*P<0.05, **p<0.01 seviyesinde önemli.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Berna ÖZALP ÖZEN
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 04.12.1983
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise : Ankara Ayrancı Lisesi (YDA) (1998-2002)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2002-2006)
Yüksek Lisans : Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2006-2008)
Doktora : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2008-2014)

Çalıştığı Kurumlar:

Ahi Evran Üniversitesi Kaman Meslek Yüksekokulu, Kırşehir (2009-2012)
Atatürk Orman Çiftliği Müdürlüğü Mayalandırma Sanatları Müdürlüğü (2012-...)

Yayınları:

SCI Yayınlar

Özalp Özen, B., Eren, M., Pala, A., Özmen, İ and Soyer, A. 2011. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. International Journal of Food Science and Technology, 46, 724-731.

Soyer, A., **Özalp, B.**, Dalmış, Ü., Bilgin, V. 2010. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. Food Chemistry, 120, 1025-1030.

Karakaya, M., Parlat, S.S., Yılmaz, M.T., Yıldırım, İ. and **Özalp, B.** 2009. Growth performance and quality properties of meat from broiler chickens reared under the exposure of different monochromatic light. *British Poultry Science*, 50:1, 76-82

Özalp, B., Karakaya, M. and Yılmaz, M.T. 2009. Functional properties of meat emulsion systems formulated with different concentrations of orange albedo. *Fleischwirtschaft*, 05, 59-63.

Sarıçoban, C., **Özalp, B.**, Yılmaz, M.T., Özen, G., Karakaya, M., Akbulut, M. 2008. Characteristics of meat emulsion systems as influenced by different levels of lemon albedo. *Meat Science*, 80:3, 599-606.

Hakemli Dergiler

Özalp, B. and Karakaya, M. 2009. Determination of some functional and technological properties of octopus (*Octopus vulgaris*, C.), calamary (*Illex coindetti*, V.), mussel (*Mytilus galloprovincialis*, L.) and cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) meats. *Journal of Fisheries Sciences*, 3:4, 275-284.

Özalp, B. ve Karakaya, M. 2009. Isıl İşlem Uygulanmış Et ve Et Ürünlerinde Heterosiklik Aromatik Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkili Faktörler. *Hasad Gıda*, 288, 40-47.

Özalp, B., Karakaya, M. 2008. Et ve ürünlerinde alternatif ambalaj gereci olarak yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Dünya Gıda*, 4, 2-89.

Yetişir, R., Karakaya, M., İlhan, F., Yılmaz, M.T., **Özalp, B.** 2008. Tüketici tercihini etkileyen bazı piliç eti kalite özellikleri üzerine farklı aydınlatma programları ve cinsiyetin etkileri. *Hayvansal Üretim*, 49:1, 20-28.

Bayatlı, Ö., Karakaya, M., **Özalp, B.** 2008. Farklı Tavşan Irklarının Et Ve Karaciğerlerinin Bazı Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi*, 10, 1-13.

Uluslararası Kongreler

Özalp Özen, B., Eren, N.M., Pala, A., Özmen, I.I., Soyer, A. 2010. Effect of plant dietary fibers on lipid oxidation in minced fish muscle during frozen storage. 1st International Congress on Food Technology, 3-6 Kasım 2010, Antalya (Berna Özalp Özen tarafından poster olarak sunulmuştur).

Demir, M.K., **Özalp, B.**, Karakaya, M., Yılmaz, M.T. 2009. Flow properties of tomato soup enriched with wheat germ. 5th International Symposium on Food Rheology and Structure, 15-18 June 2009, Zurich, Switzerland.

Özalp, B., Bayrak, E., Sariçoban, C., Yılmaz, M.T., Karakaya, M., Tiske, S.S. 2008. Pigment and Color Characteristics of Octopus (*Octopus vulgaris*), Calamary (*Illex coindetti*), Mussel(*Mytilus galloprovincialis*) and Cuttlefish(*Sepia officinalis*) Muscles. 1st International Congress of Seafood Technology. 18-21 May. 2008, 36-41, İzmir (Ebru Bayrak tarafından sözlü olarak sunulmuştur).

Yılmaz, M.T., Sariçoban, C., Karakaya, M., **Özalp, B.**, Bayrak, E. 2008. Effects of Antioxidants on Storage Stability, Pigment and Colour Characteristics of Mussel (*Mytilus galloprovincialis* L.) Muscle. 3rd. International Conference of Food Science and Nutrition, 03-05 November 2008, Cairo, Egypt.

Karakaya, M., **Özalp, B.**, Yılmaz, M.T., Demir, M.K. 2008. Physicochemical, Thermal and Rheological Properties of Tomato Soup Prepared With Freeze-dried Percolating Water of Pastırma. 3rd. International Conference of Food Science and Nutrition, 03-05 November 2008, Cairo, Egypt.

Bayrak, E., Sariçoban, C., Karakaya, M., **Özalp, B.**, Yılmaz, M.T. 2008. The Oxidative Stability, Pigment and Colour Characteristics of Octopus (*Octopus vulgaris* C.) Muscle Treated with Different Antioxidants. 3rd International Conference of Food Science and Nutrition, 03-05 November 2008, Cairo, Egypt.

Ulusal Kongreler

Dalmış, Ü., **Özalp, B.** Soyer, A. Hindi but ve göğüs etinde meydana gelen oksidatif değişimlere donma hızı ve donmuş depolama süresinin etkisi 2. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009, Van (Berna Özalp Özen tarafından poster olarak sunulmuştur).

Işıksal, S., **Özalp, B.**, Özkan, M., Soyer, A. Geleneksel et ürünlerinin sorbsiyon izotermmlerine sıcaklığın etkisi 2. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009, Van, 283 (Ayla Soyer tarafından poster olarak sunulmuştur).

Özalp, B., Karakaya, M. Farklı tür kasaplık hayvanlara ait beyin ve dil etlerinin bazı fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 77-80 (Mustafa Karakaya tarafından sözlü olarak sunulmuştur).

Sariçoban, C., Tekin, H., Yılmaz, M.T., **Özalp, B.** Et ürünlerinde tuz içeriğinin düşürülmesi ve önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 581 (Mustafa Tahsin Yılmaz tarafından poster olarak sunulmuştur).