

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SOĞUKTA ve DONDURULARAK DEPOLANAN KÖFTE KALİTESİNE
MAVİYEMİŞ EKSTRAKTININ ETKİSİ**

Fatma IŞIKCI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2014**

Her hakkı saklıdır

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.

04.12.2014

Fatma IŞIKCI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SOĞUKTA ve DONDURULARAK DEPOLANAN KÖFTE KALİTESİNE MAVİYEMİŞ EKSTRAKTININ ETKİSİ

Fatma IŞIKCI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Maviyemiş ekstraktının (MYE) antioksidan ve antimikrobiyel etkisi, soğukta ve dondurularak depolanan köfte etlerde incelenmiştir. Maviyemiş meyvesinden elde edilen sulu ekstrakt, liyofilize edilerek konsantre edilmiş ve köfte formülasyonuna %0.5 (MYE1) ve %1 (MYE2) düzeylerinde ilave edilmiştir. MYE içeren köftelerin kalite özellikleri, %0.01 BHT içeren ve herhangi bir antioksidan içermeyen kontrol köfteler ile karşılaştırılmıştır.

MYE %0.125'den %1'e değişen konsantrasyonlarda *E.coli*O157, *E. coli*, *S. Enteritidis* and *P. Fluorescens*'e karşı antimikrobiyel aktivite göstermiş, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, ve bazı laktik asit bakterilerine karşı ise etki göstermemiştir. Soğuk depolamada MYE1 ve MYE2 toplam aerob mezofil, toplam aerob psikrotrof ve Enterobacteriaceae sayılarını önemli düzeyde ($P<0.01$) baskılamıştır. Enterobacteriaceae sayısı MYE1 içeren örneklerde 2.23'ten 3.23 $\log_{10}$ KOB/g'e, MYE2 örneklerinde 1.71'den 3.17 $\log_{10}$ KOB/g'ye artarken kontrol örneklerde 2.45'den 4.70 $\log_{10}$ KOB/g'ye artmıştır. TBARM değeri 8. günde BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde sırasıyla 0.60, 0.71 ve 0.83 iken kontrolde 1.19 mg malondialdehit/kg olmuştur. MYE1 ve MYE2 ilavesi 6 gün boyunca peroksit oluşumunu önemli düzeyde ($P<0.01$) azaltmıştır. Duyusal değerlendirme sonucu %0.5 ve %1 MYE içeren örneklerin 4°C'de 10 gün boyunca kabul edilebilir olduğunu göstermiştir.

Dondurarak 6 ay depolama sırasında, konsantrasyondan bağımsız MYE ilavesi köftelerin a* değerinde çok az değişime neden olurken, kontrol ve BHT'li örneklerde önemli değişim ($P<0.01$) gözlenmiştir. MYE ve BHT ilavesi köftelerde peroksit ve TBARM değerlerini önemli düzeyde ($P<0.01$) azaltırken, antioksidan kaynakları arasında önemli bir fark ($P>0.01$) bulunmamıştır. MYE ve BHT ilavesi, 6 ay depolama sırasında köftelerin ransit koku, kötü koku ve genel beğeni puanlarını olumsuz etkilememiştir.

Aralık 2014, 116 sayfa

Anahtar Kelimeler: Maviyemiş Ekstraktı, antioksidan aktivite, antimikrobiyel aktivite, köfte, soğukta depolama, dondurarak depolama, mikrobiyel ve oksidatif kalite

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF BLUEBERRY EXTRACT ON MEATBALL QUALITY DURING COLD AND FROZEN STORAGE

Fatma İŞIKCI

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

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

The antioxidant and antimicrobial effect of blueberry extract (BE) was investigated in meatballs during refrigerated and frozen storage. Concentrated lyophilised water extract of blueberry was incorporated into meatball formulation at 0.5% (BE1), and 1% (BE2) concentrations and quality features of meatballs were compared with the groups that includes 0.01% BHT and control (without any antioxidant).

BE had a good antimicrobial activity against *E.coli*O157, *E. coli*, *S. Enteritidis* and *P. fluorescens* at the concentrations from 0.125 to 1%. No inhibitory effect of BE observed against *S. aureus*, *L. monocytogenes* and some lactic acid bacteria. During refrigerated storage BE1 and BE2 significantly ($P<0.01$) suppressed aerobic plate, psychrotrophic and Enterobacteriaceae counts than control and BHT samples. When compared to control, BE1 and BE2 significantly ($P<0.01$) reduced the numbers of Enterobacteriaceae from 2.23 to 3.23 $\log_{10}$ CFU/g in BE1, from 1.71 to 3.17 $\log_{10}$ CFU/g in BE2 while it was increased from 2.45 to 4.70 $\log_{10}$ CFU/g in control. TBARS values were significantly ($P<0.01$) reduced from 1.19 in control to 0.60, 0.71 and 0.83 mg malondialdehyde per kg samples in BHT, BE1 and BE2 at day 8, respectively. BE1 and BE2 samples significantly ($P<0.01$) had lower peroxide value (PV) during 6 days of storage. Sensory evaluation revealed that meatballs with 0.5 and 1% BE was acceptable up to 10 days of refrigerated storage at 4°C.

During 6 months of frozen storage the a^* values of BE-treated meatballs changed slightly, in comparison with significant changes in the control and BHT samples. PV and TBARS values significantly ($P<0.01$) reduced by BE and BHT addition while no significant differences ($P>0.01$) observed between antioxidant sources. Sensory scores showed that BE and BHT addition did not affect rancid odor, off-odor and general acceptability of meatballs during 6 months of frozen storage.

December 2014, 116 pages

Key Words: Blueberry extract, antioxidant activity, antimicrobial activity, meatball, cold storage, frozen storage, microbial and oxidative quality

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca tüm bilgisi, deneyimi ve sabrı ile yanımda olan, desteğini ve tecrübelerini benden esirgemeyen, çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayla SOYER'e (Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), tüm mikrobiyolojik analizler boyunca bilgi ve birikimini benden esirgemeyen Dr. Şeref TAĞI'ya, analizlerimde laboratuvar olanaklarından yararlandığım Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a, renk cihazı için Sayın Prof. Dr. Nevzat ARTIK'a, istatistik analizlerimi yapan Dr. Berna ÖZALP ÖZEN'e, her zaman olduğu gibi bu çalışma süresince de desteği ve pozitif enerjisiyle yanımda olan Berat Yaver HAÇAT'a teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi, bu zorlu çalışmada da desteğini, ilgisini benden esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 12B4343009 no.' lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Fatma IŞIKCI

Ankara, Aralık 2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Et materyali	20
3.1.2 Maviyemiş	20
3.1.3 Baharat ve diğer katkı maddeleri	20
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Maviyemiş ekstraktının elde edilmesi	20
3.2.2 Maviyemiş ekstraktında yapılan analiz yöntemleri	21
3.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı	21
3.2.2.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi)	21
3.2.2.3 Antimikrobiyel aktivite.....	22
3.2.2.3.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri	22
3.2.2.3.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması	23
3.2.2.3.3 Antimikrobiyel aktivite.....	23
3.2.3 Köfte üretimi.....	25
3.2.4 Köftede yapılan analiz yöntemleri.....	27

3.2.4.1 Nem miktarı.....	27
3.2.4.2 Protein miktarı	27
3.2.4.3 Yağ miktarı.....	27
3.2.4.4 Kül miktarı	28
3.2.4.5 Mikrobiyolojik Analizler	28
3.2.4.5.1 Toplam aerob mezofil bakteri ve toplam aerob psikrotrof bakteri sayımı.....	29
3.2.4.5.2 Toplam laktik asit bakteri sayımı.....	29
3.2.4.5.3 Toplam Enterobacteriaceae sayımı	29
3.2.4.6 Renk ölçümü (L*, a* ve b*).....	29
3.2.4.7 Peroksit değeri tayini	29
3.2.4.8 <i>para</i> -Anisidin değeri.....	30
3.2.4.9 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi	31
3.2.4.10 Duyusal analiz	31
3.2.4.11 İstatistik analiz	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1 Maviyemiş Ekstraktında Yapılan Analiz Sonuçları	33
4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı	33
4.1.2 Antioksidan aktivite	33
4.1.3 Antimikrobiyel aktivite.....	34
4.2 Soğukta Depolanan Köfte Örneklerine Ait Sonuçlar.....	37
4.2.1 Köfte bileşimi.....	37
4.2.2 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı	38
4.2.3 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı	41
4.2.4 Toplam Laktik asit bakteri sayısı	44
4.2.5 Toplam Enterobacteriaceae sayısı	46
4.2.6 Renk değerleri (L*, a*, b*).....	48
4.2.7 Peroksit değeri.....	55

4.2.8 <i>p</i> -Anisidin değeri	57
4.2.9 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarı	59
4.2.10 Duyusal değerlendirme	62
4.3 Dondurularak Depolanan Köfte Örneklerine Ait Sonuçlar	66
4.3.1 Köfte bileşimi	66
4.3.2 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı	68
4.3.3 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı	70
4.3.4 Toplam Laktik asit bakteri sayısı	72
4.3.5 Toplam Enterobacteriaceae sayısı	74
4.3.6 Renk değerleri (L^* , a^* ve b^*)	75
4.3.7 Peroksit değeri	81
4.3.8 <i>p</i> -Anisidin değeri	83
4.3.9 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarı	85
4.3.10 Duyusal değerlendirme	87
5. SONUÇ	91
KAYNAKLAR	93
EKLER	104
EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu	105
EK 2 Araştırma Verilerinin Duncan Sonuçları	106
ÖZGEÇMİŞ	116

KISALTMALAR DİZİNİ

BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen İçeren Grup
BPA	Baird Parker Agar
GMKK	Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji kültür koleksiyonu
K	Kontrol grubu
LAB	Laktik Asit Bakterisi
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe Agar
MYE1	Maviyemiş Ekstraktı İçeren 1. Grup
MYE2	Maviyemiş Ekstraktı İçeren 2. Grup
PCA	Plate Count Agar
PD	Peroksit Değeri
TAMB	ToplamAerob Mezofil Bakteri
TAPB	Toplam Aerob Psikrotrof Bakteri
TBA	Tiyobarbitürik asit
VRBDA	Violet Red Bile Dextrose Agar
YGC	Yeast Extract Glucose Chloramphenicol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Lipid oksidasyon reaksiyonları	5
Şekil 2.2 Maviyemiş bitkisi, çiçeği ve meyvesi	12
Şekil 2.3 Üzümsü meyvelerin fonksiyonel özellikleri	13
Şekil 2.4 Flavilyum katyonu	13
Şekil 2.5 Doğada sıkça rastlanılan 6 antosiyanidinin yapısı	14
Şekil 3.1 Köfte üretimi işlem basamakları	26
Şekil 4.1 Soğukta depolama sırasında köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişimler	39
Şekil 4.2 Soğukta depolama sırasında köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişimler	42
Şekil 4.3 Soğukta depolama sırasında köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişimler	45
Şekil 4.4 Soğukta depolama sırasında köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimler	48
Şekil 4.5 Soğukta depolama sırasında köftelerin L* değerinde meydana gelen değişimler	50
Şekil 4.6 Soğukta depolama sırasında köftenin a* değerinde meydana gelen değişimler	52
Şekil 4.7 Soğukta depolama sırasında köftelerin b* değerinde meydana gelen değişimler	54
Şekil 4.8 Soğukta depolama sırasında köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişimler	56
Şekil 4.9 Soğukta depolama sırasında köftelerin p-anisidin değerinde meydana gelen değişimler	58
Şekil 4.10 Soğukta depolama sırasında köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişimler	60
Şekil 4.11 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişimler	69
Şekil 4.12 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişimler	71
Şekil 4.13 Dondurularak depolama sırasında köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişimler	73

Şekil 4.14 Dondurularak depolama sırasında köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimler	75
Şekil 4.15 Dondurularak depolama sırasında köftelerin L* değerinde meydana gelen değişimler	76
Şekil 4.16 Dondurularak depolama sırasında köftelerin a* değerinde meydana gelen değişimler	78
Şekil 4.17 Dondurularak depolama sırasında köftelerin b* değerinde meydana gelen değişimler	80
Şekil 4.18 Dondurularak depolama sırasında köftelerin Peroksit değerinde meydana gelen değişimler	82
Şekil 4.19 Dondurularak depolama sırasında köftelerin <i>p</i> -anisidin değerinde meydana gelen değişimler	84
Şekil 4.20 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişimler	85

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Üzümsü meyvelerdeki endojen fenolikler	16
Çizelge 2.2 Bazı polifenollerin antimikrobiyel etki gösterdiği mikroorganizmalar (bakteri, virüs, mantar).....	17
Çizelge 3.1 Köfte formülasyonu (%)	25
Çizelge 3.2 Köfte grupları.....	25
Çizelge 4.1 BHT ve MYE' nin antioksidan aktivite sonuçları (mM troloks/g ekstrakt)	34
Çizelge 4.2 Maviyemiş ekstraktları ile BHT' nin antimikrobiyel aktivite değerleri	35
Çizelge 4.3 Köftenin soğukta depolanması sırasında nem, kuru madde, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişimler (%).....	37
Çizelge 4.4 Soğukta depolanan köftelerin TAMB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	38
Çizelge 4.5 Soğukta depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	40
Çizelge 4.6 Soğukta depolanan köftelerin TAPB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	41
Çizelge 4.7 Soğukta depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	43
Çizelge 4.8 Soğukta depolanan köftelerin LAB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	45
Çizelge 4.9 Soğukta depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	46
Çizelge 4.10 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	47
Çizelge 4.11 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu	48
Çizelge 4.12 Soğukta depolanan köftelerin L^* değeri ve uygulamanın etkisini gösteren Duncan sonuçları	49
Çizelge 4.13 Soğukta depolanan köftelerin L^* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	50

Çizelge 4.14 Soğukta depolanan köftelerin a^* değeri ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	51
Çizelge 4.15 Soğukta depolanan köftelerin a^* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	52
Çizelge 4.16 Soğukta depolanan köftelerin b^* değeri ve uygulamanın ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları.....	53
Çizelge 4.17 Soğukta depolanan köftelerin b^* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	54
Çizelge 4.18 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değeri (meqO_2/kg yağ) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	55
Çizelge 4.19 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	56
Çizelge 4.20 Soğukta depolanan köftelerin p -anisidin değeri ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	58
Çizelge 4.21 Soğukta depolanan köftelerin p -anisidin değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	59
Çizelge 4.22 Soğukta depolanan köftelerin TBARM (mg MDA/kg köfte) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	60
Çizelge 4.23 Soğukta depolanan köftelerin TBARM miktarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	61
Çizelge 4.24 Soğukta depolanan köftelerin duyusal değerlendirme puan ortalamaları ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	63
Çizelge 4.25 Soğukta depolanan köftelerin duyusal puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	64
Çizelge 4.26 Dondurularak depolanan köftelerin nem, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişmeler (%)	67
Çizelge. 4.27 Dondurularak depolanan köftelerin TAMB ($\log_{10}\text{KOB/g}$) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	68
Çizelge 4.28 Dondurularak depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	70
Çizelge 4.29 Dondurularak depolanan köftelerin TAPB ($\log_{10}\text{KOB/g}$) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	70

Çizelge 4.30 Dondurularak depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	71
Çizelge 4.31 Dondurularak depolanan köftelerin LAB (log10KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	72
Çizelge 4.32 Dondurularak depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	73
Çizelge 4.33 Dondurularak depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısına (log10KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	74
Çizelge 4.34 Dondurularak depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu	75
Çizelge 4.35 Dondurularak depolanan köftelerin L* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	76
Çizelge 4.36 Dondurularak depolanan köftelerin L* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	77
Çizelge 4.37 Dondurularak depolanan köftelerin a* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	78
Çizelge 4.38 Dondurularak depolanan köftelerin a* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	79
Çizelge 4.39 Dondurularak depolanan köftelerin b* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	79
Çizelge 4.40 Dondurularak depolanan köftelerin b* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	81
Çizelge 4.41 Dondurularak depolanan köftelerin peroksit değeri (meqO ₂ /kg yağ) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	81
Çizelge 4.42 Dondurularak depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	83
Çizelge 4.43 Dondurularak depolanan köftelerin p-anisidin değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	83
Çizelge 4.44 Dondurularak depolanan köftelerin p-anisidin değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu	84

Çizelge 4.45 Dondurularak depolanan köftelerin TBARM (mg MDA/kg köfte) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları	85
Çizelge 4.46 Dondurularak depolanan köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu	86
Çizelge 4.47 Dondurarak depolanan köftelerin duyusal değerlendirme puan ortalamaları ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları.....	87
Çizelge 4.48 Dondurarak depolanan köftelerin duyusal puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu	88

1. GİRİŞ

Et ve et ürünleri, yüksek kalitede ve miktardaki proteini, demir, çinko, fosfor, magnezyum gibi mineral maddeleri ve ayrıca B1, B6 ve B12 vitaminlerini, elzem yağ asitleri ile ω -3 ve ω -6 yağ asitlerini yeterli miktarda içermesi nedeniyle dengeli ve yeterli beslenme için ideal bir gıda maddesidir (Öztan 1993).

Buna karşın et ve et ürünleri giderek artan bir şekilde kronik rahatsızlıklar, obezite, felç ve kanser gibi birçok rahatsızlıkla ilişkilendirilmektedir (Weiss vd. 2010). Son yıllarda tüketiciler, yağ ve kolesterol seviyesi düşürülmüş, tuz ve nitrat içeriği azaltılmış, yağ asidi kompozisyonu iyileştirilmiş ve sağlığa fayda sağlayan maddelerle zenginleştirilmiş et ve et ürünleri talep etmektedir (Zhang vd. 2010).

Et ve et ürünleri, fonksiyonel oldukları düşünülen katkı maddelerinin kullanımıyla veya sağlık açısından zararlı oldukları düşünülen maddelerin formülasyondaki miktarlarının azaltılması sureti ile modifiye edilebilirler. Böylece et ürünü temeli değiştirilmeksizin sağlıklı gıda sınıfına katılabilir (Fernandez ve Perez 2005).

Fonksiyonel gıda; vücudun temel besin öğeleri gereksinimini karşılanmasının ötesinde insan fizyolojisi ve metabolik fonksiyonları üzerine ilave faydalar sağlayan, böylelikle hastalıklardan korunmada ve daha sağlıklı bir yaşama ulaşmada etkinlik gösteren gıda veya gıda bileşenleridir (Özgan 2008). Et ürünlerinin fonksiyonel olarak modifikasyonunda yağ asidi dağılımının ve kolesterol seviyesinin düzenlenmesi, bitkisel yağların et ürünlerinin formülasyonuna eklenmesi, soya ürünlerinin eklenmesi, doğal antioksidanların ve antimikrobiyellerin kullanımı, sodyum tuzlarının seviyesinin düşürülmesi, balık yağlarının kullanımı ve bitkisel yan ürünlerin kullanımı gibi konular üzerinde sıklıkla durulmaktadır (Arihara 2006, Özdemir 2013).

Et ve et ürünlerinin fonksiyonel olarak modifikasyonu son yıllarda önem kazanırken, bu ürünlerin raf ömrünün artırılması da gıda güvenliği açısından büyük öneme sahiptir. Raf ömrü, gıdanın gerekli koşullarda saklandığında istenen duyuşsal, kimyasal, mikrobiyolojik ve besin değeri özelliklerinin korunabildiği zaman sürecidir.

Yeterli ve dengeli beslenme için gerekli birçok besin maddesini yapısında bulunduran et ve et ürünleri, yapısı gereği hem biyokimyasal hem de mikrobiyel değişimler sebebiyle kısa sürede bozulmaktadır. Ette oluşan değişiklikler sadece mikrobiyel kaynaklı olmayıp, meydana gelen kimyasal değişiklikler de önemli yer tutmaktadır. Bu değişikliklerden en başta geleni lipid oksidasyonudur. Lipid oksidasyonu et ve et ürünlerinin kalitesinin bozulmasına sebep olan temel etkenlerden birisidir (Ladikos ve Lougovois 1990).

Et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü artırmak için kullanılan yaygın yöntemler arasında antimikrobiyel ve antioksidan etkili katkı maddelerinin kullanımı yer almaktadır. Antimikrobiyel ve antioksidan etkili sentetik maddeler belirli limitler dahilinde et ürünlerinde uzun yıllardır kullanılabilmektedir.

Fakat, tüketicilerin gıda konusunda bilinçlenmesi ile birlikte, gıdaların daha güvenilir bir şekilde üretilmesi, besin değerini kaybetmemesi ve mümkün olduğunca doğal olması amaçlanmaktadır (Zorba ve Kurt 2005). Bu sebeple, son yıllarda et ve et ürünlerinde doğal katkı maddelerinin kullanılması yönünde birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Bitkisel hayvansal ve mikrobiyolojik kaynaklı doğal antimikrobiyeller gıdalarda katkı maddeleri ya da bileşen olarak kullanılabilmektedir (Park vd. 2011). İşlenmiş et ürünlerinde depolama stabilitesinin artırılmasında son yıllarda önemle üzerinde durulan uygulamalardan biri, antimikrobiyel ve antioksidan özellikteki bitki ekstraktlarının ürüne ilave edilmesidir (Calvo vd. 2009).

Maviyemiş, ılıman iklimlerde yetişebilen, çok yıllık, çalı formunda ve kışın yaprağını döken bir üzüksü meyvedir. Dünyada “blueberry” olarak bilinen maviyemişler insan sağlığı açısından çok sayıda yarara sahiptir. Antioksidanlar ve fenolik maddeler bakımından zengin olan maviyemişlerin görme bozukluklarını önlediği, kalp sağlığını koruduğu, mide ve bağırsaklarla ilgili rahatsızlıkları giderdiği, romatizmal hastalıklar ile ağız içi yaralarını iyileştirdiği, beyin fonksiyonlarını düzene soktuğu ve yaşlılıktaki hafıza kayıplarını engellediği saptanmıştır (Kalt vd. 2007).

Taze meyve ve sebzeler arasında antioksidan kapasitesi en yüksek meyve maviyemiştir (Çelik 2012). Üzümsü meyvelerin tüketilmesi plazma antioksidan kapasitesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bu meyvelerin yüksek antioksidan kapasiteleri içerdikleri askorbik asitten daha çok fenolik bileşiklerden özellikle de antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır (Koca ve Karadeniz 2005).

Bu çalışmada amaç, maviyemişten elde edilen liyofilize ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyel etkisini ortaya koymak ve farklı düzeylerde (%0.5 ve %1) maviyemiş ekstraktı (MYE) ilave edilen köftelerin soğukta (4°C) ve dondurucuda (-18°C) depolanması sırasında oksidatif ve mikrobiyel değişmelere etkisini ortaya koymaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Günümüzde taze ve kolay tüketilebilen ürünlere büyük talep olmaktadır. Hazır köfteler de en çok tercih edilen ve tüketilen ürünler arasında yer almaktadır. Hazır köfte ürünleri, ülkemizde toplu tüketim yerlerinde günlük olarak, iki- üç günde tüketilmek üzere soğukta depolanarak ya da uzun vadede dondurularak tüketime sunulmaktadır. Fakat, hijyenik kalitesi iyi olmayan ürünler bekleme sırasında mikrobiyel faaliyet nedeniyle kısa sürede bozulabilmekte ve tüketildiğinde çok ciddi gıda zehirlenmeleri ile karşılaşılabilir. Ayrıca, üretimden tüketime kadar farklı kaynaklardan bulaşan çok sayıda patojen mikroorganizmayı barındıran hazır gıdalar, gıda güvenliği açısından büyük risk oluştururken sağlık giderlerini artırması yönünden de ekonomik kayba sebep olmaktadır.

Taze ette bulunan en önemli bozulma etmeni bakteriler olarak, Gram-negatif aerobik ve psikrotrofik *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve fakültatif anaerobik *Alteromonas putrefaciens* gösterilirken, Gram-pozitif *Lactobacillus* spp. ve *Brochotrix thermosphacta*'nın da taze ette yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir (Dave ve Ghaly 2011).

Et ve et ürünlerinin tüketimi sonucu insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelerine neden olan, halk sağlığı açısından önemli patojen mikroorganizmalar olarak *Salmonella enteritidis*, *L. monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Micrococcus* spp. sayılabilir (Soyutemiz 2000).

Et ve et ürünleri, genel olarak buzdolabı sıcaklığında iki ana sebeple bozulmaktadır; mikrobiyel üreme ve oksidatif bozulma (Kim vd. 2013).

Lipid oksidasyonunda yağ asitleri ve oksijen iki önemli oksidasyon substratlarıdır. Lipid oksidasyonu başlama, gelişme ve sonuç aşamalarını içermektedir. Başlangıç aşamasında yağ asidindeki (RH) metil karbonundan bir hidrojen uzaklaşmakta ve bir alkil radikali (R') oluşmaktadır. Bu aşama yağ asitlerindeki çift bağ sayısı arttıkça daha

kolay gerçekleşmektedir ve bu durum çoklu doymamışlık gösteren yağ asitlerinin oksidasyona olan duyarlılıklarını açıklamaktadır. Bu aşama HO[•] radikali veya demir-oksijen komplekslerinin katalizörlüğünde olmaktadır. Gelişme aşamasında alkil radikali (R[•]), hızla O₂[•] ile reaksiyona girerek peroksit radikal (ROO[•]) oluşturmaktadır. Peroksit radikali, alkil radikali veya yağ asidine göre daha yüksek oksitleme özelliğine sahiptir. Peroksit radikali diğer yağ asitlerini okside eder, serbest radikal zincir reaksiyonunu geliştirir ve bu aşamada hidroperoksitler (ROOH) oluşturulur. Lipid hidroperoksitlerinin Fe⁺² ve Cu⁺² ile reaksiyona girmesi ile peroksit ve alkoksi radikaller oluşur. Bu radikaller birçok reaksiyonun başlamasına neden olmaktadır (ROO[•] + RH[•] → ROOH + R[•] ve RO[•] + RH → ROH + R[•]). Sonuç aşamasında ise peroksit ve alkil radikaller reaksiyona girerek radikal olmayan ürünler (ROOR) oluştururlar (Şekil 2.1).

Başlangıç : RH[•] → R[•] + H

RH + O₂ → ROO[•] + H Serbest radikal oluşum

Gelişme : R[•] + O₂ → ROO[•]

ROO[•] + RH → ROOH + R Serbest radikal zincir reaksiyonu

Sonuç : ROO[•] + R[•] → ROOR

R[•] + R[•] → R-R

ROO[•] + ROO[•] → ROOR + O₂ Radikal olmayan ürünlerin oluşumu

Şekil 2.1 Lipid oksidasyon reaksiyonları (Khayat ve Schwall 1983, Morrissey vd. 1998)

Oksidasyonun zararlı etkileri karbon (C) atomları arasında çift bağ içeren doymamış yağ asitlerinin peroksit oluşumu sırasında üretilen "serbest radikaller" tarafından başlatılmaktadır. Lipid peroksidasyonu, zincirleme bir reaksiyon olup daha ileri

peroksidasyonlara yol açan devamlı serbest radikalleri üretir. Zincir reaksiyonunun başlatıcısı ise, ilk aşamada meydana gelen hidroperoksitlerdir.

Gıdalarda lezzet, renk, tekstür ve besin değerinin bozulmasına yol açan başlıca reaksiyon olan lipid oksidasyonu (Kanner 1994), daha ileri derecede oksidasyona ya da aldehitler, ketonlar, asitler, alkoller gibi ikincil reaksiyon ürünlerinin açığa çıkmasına sebep olan hidroperoksitleri oluşturarak, ürünün genel kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Gallo vd. 2012). Ürün kalitesini etkileyen diğer bir unsur ise, okside olan lipid ürünlerinin ette mevcut olan proteinler, karbonhidratlar ve vitaminlerle reaksiyona girmesidir (Labuza 1971). Ayrıca, lipid oksidasyonu sonucunda oluşan malonaldehitlerin, karsinogenik ve mutajenik etkisinin saptanmış olması da yağ oksidasyonunun insan sağlığı yönünden daha fazla üzerinde durulması gereken bir konu olduğunu ortaya çıkarmıştır (Ertaş 1982).

Canlı doku, hücrede meydana gelen oksidasyon ürünlerini yok eden antioksidan sistemleri içermektedir. Başlıca endojen antioksidan sistemler; tokoferoller, karnosin, lipoik asit ve çeşitli enzimatik sistemlerdir. Ayrıca pişirme sırasında oluşan çok sayıda Maillard ürününün de antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Bailey 1988). Kesimden sonra elde edilen etin maruz kaldığı işleme koşulları, endojen antioksidan sistemlerinin çalışamamasına ve endojen antioksidan bileşiklerin kısa sürede tükenmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda et ve et ürünleri oksidasyon reaksiyonlarına açık hale gelmektedirler (Decker ve Mei 1996). Bu nedenle oksidatif reaksiyonları engellemek amacıyla dışarıdan antioksidan ilavesi yapılmaktadır.

Dondurarak muhafaza, et ve et ürünleri için diğer muhafaza teknikleriyle karşılaştırıldığında en önemli yöntemlerden biridir. Dondurarak muhafaza, uzun süreli depolamada daha az kalite kaybına neden olur ve ette istenmeyen biyokimyasal reaksiyonlar geciktirilebilir. Ayrıca, dondurarak muhafaza mikrobiyel çoğalmayı ve enzimatik aktiviteyi geciktirerek raf ömrünü uzatır.

Donma noktasının altındaki depolamanın avantajı etin raf ömrünü uzatması, mikrobiyel ve kimyasal reaksiyonları geciktirmesi olarak belirtilirken (Zhou vd. 2010), dondurarak

depolamada buz kristallerinin oluşumdan dolayı hücre bozulması ve kas yapısında tahribat meydana gelmesi ise dezavantaj olarak belirtilmiştir (Sebranek 1982).

Köfte tipi et ürünleri çok hızlı bozulmaya uğrayabildiğinden, bu tip ürünler lokantalarda ya da satın alındıktan sonra evlerde dondurularak muhafaza edilmektedir. Üretim koşulları ve donmuş depolama koşulları, ürün kalitesini önemli ölçüde etkileyebilmekte ve üründe istenmeyen değişikliklerin oluşmasına sebep olabilmektedir (Miller vd. 1980, Brewer ve Harbers 1991, Ertaş 1998).

Et ve et ürünlerinin rengi, tüketicinin alım kararını etkileyen en önemli özelliktir (Brewer ve Harbers 1991). Köfte tipi et ürünlerinin üretimi sırasında etin çekilmesi, etin oksijene maruz kalmasını önemli bir şekilde artırdığından, bu tip çiğ et ürünleri dondurulmuş halde depolanmaları sırasında bile renk oksidasyonuna eğilimlidirler (Sherwin 1990, Ho vd. 1995). Dondurulmuş et ürünlerinde ürün rengi, depolama süresine, depolama sıcaklığına, ışığa maruz kalma süresine ve çözündürme koşullarına bağlı olarak değişmektedir.

Oksidatif acılaşma dondurularak depolanan çiğ haldeki köfte tipi et ürünlerinin raf ömrüne etki eden önemli bir faktördür (Wanous vd. 1989). Taze etin su aktivitesi 0.99 olmasına karşın, -18°C ile -12°C arasında dondurulan etlerin su aktivitesi 0.60 civarındadır. Su aktivitesi 0.6-0.8 arasında olduğunda, heme pigmentleri lipid oksidasyonunun başlatıcısı olarak ortaya çıkmakta ve donmuş halde depolanan et ürünlerinin lipid oksidasyonunda katalist olarak önemli rol oynamaktadırlar (Ertaş 1998).

Dondurarak muhafaza tekniği ette bulunan canlı mikroorganizmaları tamamen yok etmez fakat, dondurma işlemi süresince mikrobiyel bozulma, mikroorganizmaların inaktif olmasından dolayı etkili bir şekilde sınırlanmaktadır. Bununla birlikte, bu mikroorganizmalar çözündürme işlemi sırasında tekrar aktif hale gelmektedir (Leygonie vd. 2012).

Dondurma işleminin başlarında, mikrobiyel popülasyonun bir kısmı soğuk şoka maruz kalmaktadır. Dondurulmuş ürünlerde mikrobiyel gelişmeyi engelleyen faktör sadece düşük sıcaklık değil aynı zamanda da buz formuna geçmiş olan sudan dolayı su aktivitesinin düşmesidir. Suyun donması sırasında ozmotik şok oluşmakta ve hücreler arası buz oluşumu mekanik hasara sebep olmaktadır. Dondurma işlemiyle birlikte hücresel sıvıların konsantrasyonu, pH ve iyonik gücü değiştirmektedir. Bu değişim hücre bileşenlerinin ve makromoleküllerin yapısını ve işlevini bozmaktadır. Bu hasardan en çok hücre zarı etkilenmektedir. İyonik gücün ve pH'nın değişmesiyle birlikte enzimler inaktif hale gelir, hücresel proteinler; DNA, RNA ve hücresel birimlerin işlevlerini kaybetmesiyle denatüre olur ve bazı mikroorganizmalar sıcaklık şokuna maruz kalır. Bu durumdan, psikrofil bakterilerden çok termofilik ve mezofilik bakteriler etkilenmektedir. Mikroorganizmalarda meydana gelen bu hasar geri döndürülebilir ya da geri döndürülemez olabilir. Hasar görmüş mikrobiyel hücreler yeterli gıda, enerji kaynakları ve özel bazı iyonların (özellikle Mg^{+2} ve fosfat) varlığıyla geri döndürülebilir. Bu sebeple, mikrobiyel çoğalmanın artmaması için özellikle çözme işlemi sırasında düşük sıcaklıkta yavaş çözündürme yapılması ve iyi hijyen uygulamalarına dikkat edilmesi gerekmektedir (Erkmen ve Bozoğlu 2008).

Gıdalarda depolama süresince, lipid oksidasyonu ve mikrobiyel yük; bozulmayı geciktiren, raf ömrünü uzatan kaliteyi ve ürün güvenliğini koruyan antimikrobiyel ve antioksidan maddelerle azaltılabilmektedir (Devatkal ve Naveena 2010). Endüstriyel işlemlerde besinlerin muhafaza süresini uzatmak için esas olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak, pek çok araştırmacı uzun süredir besinlerin işlenmesinde kullanılan butil hidroksitoluen (BHT), butil hidroksianisol (BHA), tersiyer butil hidroksikinin (TBHQ) ve propil gallatlar (PG) gibi bazı sentetik antioksidanların canlı organizmada karsinojenik ve teratojenik etki gösterdiğine dikkat çekmektedir (Shahidi vd. 1992, Tamil Selvi vd. 2003) ve bu durum tüketici tarafından olumsuz algı oluşturmaktadır (Qin vd. 2013).

Tüketiciler tarafından sentetik maddeler yerine doğal katkıların tercih edilmesi sebebiyle, doğal antimikrobiyel ve antioksidan maddelerin gıda endüstrisinde kullanılmasıyla ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Hemen hemen tüm bitkiler,

mikroorganizmalar, funguslar ve hatta bazı hayvansal dokular çeşitli tiplerde antioksidan madde içermektedirler. Doğal antioksidanların çoğu fenolik yapıda bileşiklerdir (Vazgeçer vd. 2005).

Fenolik maddeler basit fenolik maddeler ve polifenoller olmak üzere kabaca iki gruba ayrılmakla beraber meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan fenolik maddeler hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitler ve flavonoidler olmak üzere üç kısımda incelenmektedirler. Flavonoidler ise kateşinler, antosiyanidinler, flavonoller, flavanonlar ve proantosiyanidinler (löykoantosiyanidinler) olmak üzere beş alt gruba ayrılmaktadırlar (Cemeroğlu ve Acar 1986).

Bitkilerin yaprak, çiçek ve polenlerinde bulunan flavonoidler; serbest radikal yok edici, güçlü antioksidan ve iltihaplanmayı önleyici etkiye sahiptir. Ayrıca, tümör oluşumuyla yakından ilgili olan prostaglandin sentaz, lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimlerini de inhibe etmektedir. Flavonoidlerin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri, peroksi radikalleriyle reaksiyona girmeleri sonucunda elektron transferi yoluyla hidroksil ve süperoksit radikallerini yakalamalarıyla ilişkilidir (Zhishen vd. 1999).

Baharat ve bitkilerin eklendikleri gıdalarda birden fazla fonksiyonu yerine getirdikleri görülmüştür. Lezzet vermelerinin yanı sıra, bazı baharat çeşitleri bakteriyostatik ya da bakterisidal etki göstererek raf ömrünü uzatırken, bazıları antioksidan etki göstererek bozulmayı önlemektedir (Sherwin 1990). Kendilerine özgü lezzet ve aromaları, antimikrobiyel ve antioksidan özellikleri nedeniyle, daha geniş biyoaktivite profiline sahip olan bitki ve baharat çeşitleri gıda sektöründe alternatif olarak kullanılabilecek doğal maddelerdir.

Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, et ve et ürünlerinde kullanıldığında biberiye (Karpinska vd. 2000, McCarthy vd. 2001, Fernandez- Lopez vd. 2005), patates kabuğu (Kanatt 2005), çay kateşinleri (McCarthy vd. 2001, Tang vd. 2001), adaçayı (McCarthy vd. 2001, El Alim vd. 1999), kırmızı pancar gibi birçok bitki ya da bu bitkilerin ekstraktlarının antioksidan etki gösterdiği görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada, 300 mg/kg oranında ilave edilen çay kateşinlerinin çiğ et, tavuk ve balık kıymasında lipid oksidasyonunu önlemede α - tokoferolden daha etkili olduğu görülmüştür (Tang vd. 2001). Mekanik sıyrılmış hindi etinden baharat ekleyerek ve eklemeyerek köfte yapılmıştır. Köfteler soya yağı ile kızartıldıktan sonra buzdolabında 4 gün depolanmışlardır. Adaçayı, oksidasyonu geciktiren en etkili baharat olmuştur (Karpinska 2001).

Fenolik maddeler gıdalarda mikrobiyel güvenlik açısından da önemlidir. Baharatlarda bulunan eugenol, timol, humulan, lupulon, allil izotiyosiyanat gibi bileşiklerin antimikrobiyel etkiye sahip olması baharatların çoğunu Gram negatif bakteriler ve küflere karşı etkili hale getirmektedir. Baharatların karışım halinde kullanılmalarının bu etkiyi daha da artırdığı bilinmektedir (Yalçın vd. 1997, Yıldız ve Baysal 2003). Burada önemli olan, bu bileşenleri yapılarında herhangi bir bozulma oluşturmaksızın elde ederek, uygun doz ve kombinasyonlarda kullanabilmektir.

Doğal antioksidanlar ve antimikrobiyellerin gıdalarda kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Adaçayı, biberiye, kekik, şerbetçiotu, kişniş, yeşil çay, üzüm çekirdeği, karanfil ve fesleğenden elde edilen ekstraktların gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel etki gösterdiği bilinmektedir (Peremulla ve Hettiarachchy 2011).

Yapılan bir çalışmada, 3000, 6000 ve 9000 ppm düzeylerinde katılan yeşil çayın organik asitlerle birlikte sıvı besiyerinde, gıda kaynaklı patojenlere karşı önemli ölçüde antimikrobiyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Over vd. 2009).

Atrea vd. (2009), mikropipet yöntemiyle ahtapot yüzeyine enjekte ettikleri %0.2 ve %0.4 oranında kekik yağının H_2S üreten bakteriler ile laktik asit bakterilerini (LAB) inhibe ederek vakum paketli ürünlerin 4°C'deki raf ömrünü 9 günden sırasıyla 17 ve 23 güne çıkarttığını belirtmektedirler. Frangos vd. (2010), %0.2 ve %0.4 oranında kekik yağı kullanarak salamurada beklettikleri alabalıkları kontrol örnekleriyle karşılaştırdıklarında *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae, LAB ve H_2S üreten bakteri popülasyonunu düşük bulmuşlar ve vakum paketli ürünlerin raf ömrünün uçucu yağ konsantrasyonuna bağlı 9 günden 11 – 12 güne çıktığını ortaya koymuşlardır.

Bitkilerden elde edilen antimikrobiyel bileşikler çoğunlukla yaprak (biberiye, kekik vb.), çiçek veya tomurcuk (karanfil vb.), kök (soğan, sarımsak vb.), tohum (rezene, maydanoz vb.) ve meyvelerden (biber vb.) elde edilen uçucu yağ fraksiyonunda bulunmaktadır (Gutierrez vd. 2008). Gram-pozitif bakteriler genelde, baharat ve bitki ekstraktlarının antimikrobiyel etkisine Gram-negatif bakterilere göre daha az dayanıklıdır. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler arasındaki bu fark, Gram-negatif bakterilerin Gram-pozitif bakterilerden farklı olarak dış zara ve periplazmik boşluğa sahip olmasıyla açıklanmaktadır (Ceylan ve Fung 2004). Antimikrobiyel bileşikler, membran proteinleri ile etkileşime girerek membran bütünlüğünü bozma yeteneğine sahiptir ve bakteriyel hücre geçirgenliğini arttırarak hücre içinde bulunan K^+ iyonlarına ve diğer sitoplazmik yapılara hücre dışına geçiş olanağı tanımaktadırlar (Bajpai vd. 2008). Sitoplazmik zarın seçici geçirgenliğinde yaşanan bu kayıp hücre ölümünün nedeni olarak belirtilmektedir.

Üzümsü meyvelerden olan maviyemiş dünyada ABD ve Kanada başta olmak üzere İsveç, Polonya, Almanya, Litvanya, Hollanda ve Meksika gibi ülkelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (www.fao.org 2014).

Ülkemizde maviyemiş üretimi konusunda giderek artan bir ilgi mevcut olup, maviyemiş üretim alanlarının 2008 yılında 120 da, 2010 yılında 150 da ve 2012 yılında 220 da civarında olduğu belirtilirken, son verilerde 300-400 da civarında olduğu tahmin edilmektedir (Akbulut vd. 2014), (Şekil 2.2, Çelik vd. 2012).

Dünyada ticari olarak yetiştirilen yüksek boylu (high bush), alçak boylu (lowbush) ve tavşangözü (rabbiteye) maviyemiş türleri olmasına rağmen, en yaygın olan çeşitler yüksek boylu maviyemiş türü (*Vaccinium corymbosum* L.) içinde yer almaktadır (Çelik vd. 2012).

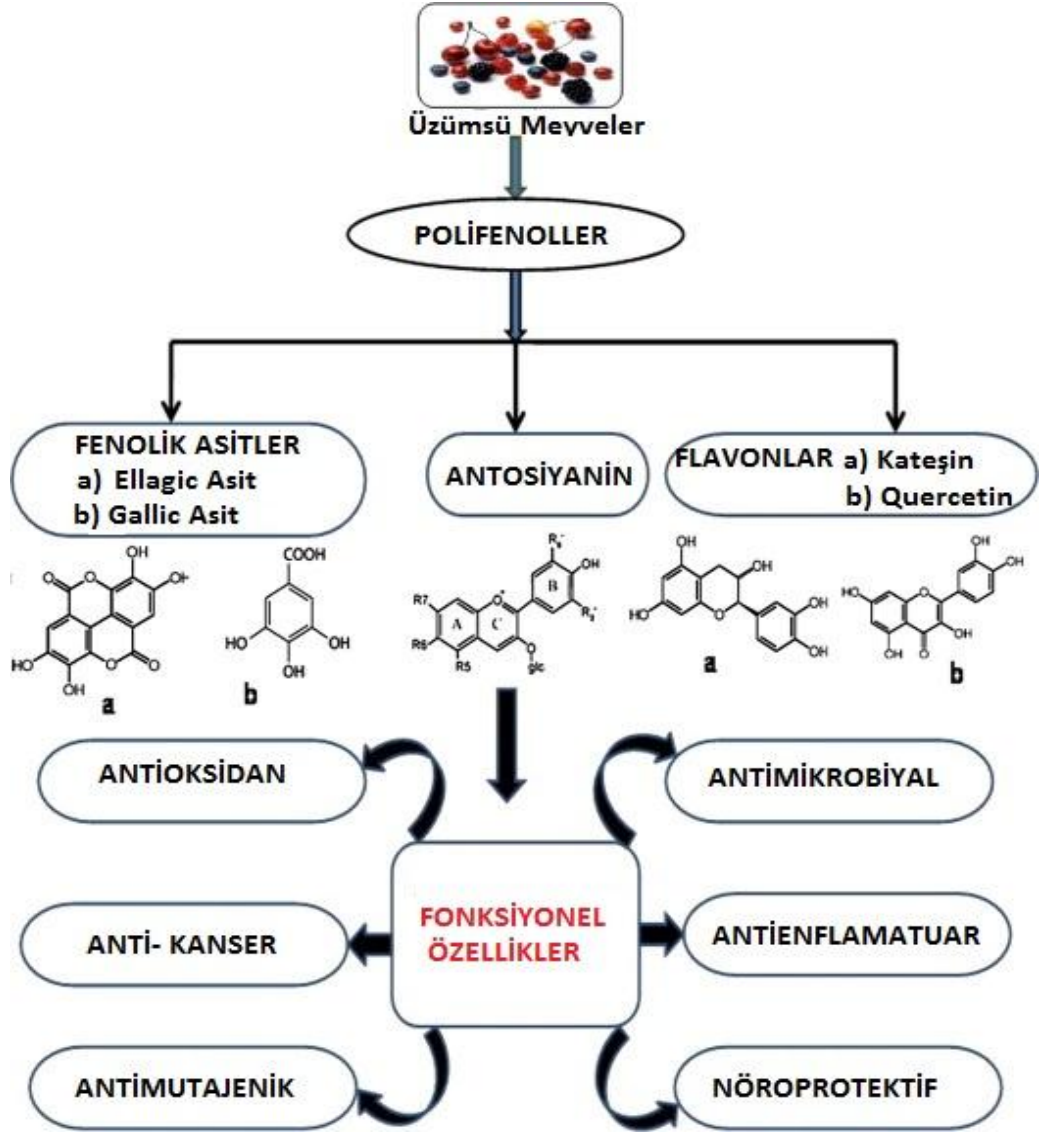


Şekil 2.2 Maviyemiş bitkisi, çiçeği ve meyvesi

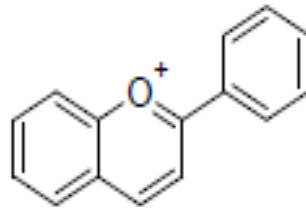
Üzümsü meyvelerdeki başlıca flavonoidler; antosiyaninler, proantosiyaninler, flavoneller ve kateşinlerdir (Wang vd. 1997). Üzümsü meyvelerin tüketilmesi plazma antioksidan kapasitesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bu meyvelerde bulunan doğal antioksidan maddeler, flavonoidlerin yanı sıra fenolik asitler, C ve E vitaminleridir. Üzümsü meyvelerin fenolik içeriklerine bağlı olan fonksiyonel özellikleri şekil 2.3'te gösterilmektedir.

Bu meyvelerin yüksek antioksidan kapasiteleri, içerdikleri askorbik asitten daha çok fenolik bileşiklerden özellikle de antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Antosiyaninler, doğada sıkça rastlanılan, meyve ve sebzelerde bulunan doğal renk pigmentleridir. Antosiyaninler, meyve ve sebzelerin mavi, mor, kırmızı ve turuncu renklerinden sorumludur. Flavonoidler ailesine dahil olan antosiyaninler, flavilyum katyonu oluşturma kapasitesiyle diğer flavonoidlerden ayrılmaktadır (Şekil 2.4) (Miguel 2011).

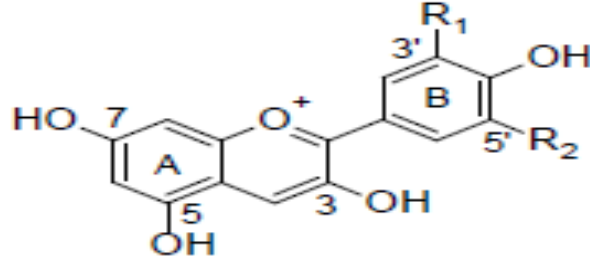
Doğada bilinen 20 çeşit antosiyanidin bulunmasına rağmen, yalnızca 6 tanesinin sıkça rastlanılabilir ve beslenme açısından çok önemli olduğu belirtilmektedir. Bu antosiyanidinler, pelargonidin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)' dir (Şekil 2.5) (Lohachoompol vd. 2008, Miguel 2011).



Şekil 2.3 Üzümsü meyvelerin fonksiyonel özellikleri (Nile ve Park 2014)



Şekil 2.4 Flavilyum katyonu



Antosiyanidin	R ₁	R ₂	Renk
Pelargonidin	H	H	Turuncu
Siyanidin	OH	H	Turuncu- Kırmızı
Delfinidin	OH	OH	Mavimsi- Kırmızı
Peonidin	OCH ₃	H	Turuncu- Kırmızı
Petunidin	OCH ₃	OH	Mavimsi- Kırmızı
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	Mavimsi- Kırmızı

Şekil 2.5 Doğada sıkça rastlanılan 6 antosiyanidin yapısı

Antosiyaninler, şekerlerin bulunduğu pozisyona göre isimlendirilmektedir. Antosiyaninlerde bazen iki veya üç şeker bağlanmış olabilir, bunlar toplu halde 3. pozisyona bağlanmış olabildiği gibi birisi mutlaka 3. pozisyona diğerleri çoğunlukla 5.pozisyona ve nadiren de 7. pozisyona bağlanmış olabilmektedir (Cemeroğlu vd. 2001). Antosiyaninlerde temel yapıyı oluşturan antosiyanidinler ve buna bağlı şekerler dışında bazen üçüncü bir bileşen olan açıl asit grupları bulunmaktadır. Bunlar içinde en yaygın olanlarının aromatik asitlerden *p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve gallik asit ve nadiren *p*-hidroksibenzoik asit, alifatik asitlerden malonik asit, asetik asit, malik asit, süksinik asit ve okzalik asit olduğu belirtilmektedir (Jackman vd. 1987, Ersus ve Yurdagel 2006).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, farklı ticari maviyemiş kültürlerinin antosiyanin içerikleri tanımlanmış olup malvidin-3-O-galaktosid, delfinidin-3-O-galaktosid, malvidin-3-O-arabinosid, siyanidin-3-O-arabinosid ve delfinidin-3-O-arabinosid türlerinin maviyemişte toplam antosiyanin içeriğinin % 70'ini oluşturduğu görülmüştür. Maviyemiş meyvesinde delfinidin ve malvidin antosiyanin türevlerinin çoğunluğu oluşturduğu belirtilmiştir (Yousef vd. 2013).

Maviyemişin görme bozukluklarını ortadan kaldırdığı, bazı kanser türlerine karşı etkili olduğu, kan şekerini düşürdüğü, hafıza kayıplarını önlediği, yaşlanmayı geciktirdiği ve mide ile ilgili problemlere iyi geldiği belirtilmektedir. Maviyemiş taze veya dondurularak tüketilebilmektedir. Meyvesi meyve suyuna, reçel, marmelat ve konserveye işlenerek ve kurutularak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, süt ve süt ürünleriyle karıştırılarak, meyveli ekmeklerde ve pastalarda kullanılmaktadır. Antikarsinojen ve antioksidan özellik taşıyan maviyemişin yaprak ve meyve çayı ishali gidermekte ve idrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik etkisi göstermektedir (Kalt 2006, Çelik ve Ateş 2009).

Gıda endüstrisinin maviyemişe olan ilgisinin nedenleri olarak; maviyemişin sağlığa yarar sağlayan özellikleri, asidik ortamlarda antosiyanin içeriğine bağlı alışılanın dışında renk sağlamasının yanı sıra, mavimsi ve turuncu renk tonlarında doğal antosiyanin türevi pigmentlere sahip olması sayılabilir (Norberto vd. 2013).

Maviyemişlerin antioksidan aktivitesi, toplam antosiyanin içeriğinden, toplam fenolik içeriğinden, çevresel farklılıktan, genotipten, olgunluktan ve hasat sonrası saklama koşullarından etkilenmektedir (Prior vd. 1998, Connor vd. 2002, Kalt vd. 2003). Yapılan çalışmalarda, yetiştiriciliği daha zor olan alçak boylu maviyemiş türünün antosiyanin, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerinin yüksek boylu maviyemiş türüne göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Koca 2009).

Üzümsü meyvelerin yapısında bulunan endojen fenolikler çizelge 2.1’de gösterilmektedir (Ağaoğlu 2009). Polifenoller içinde, flavanoller, flavan-3-ol ve taninler geniş spektrumlu ve yüksek antimikrobiyel etkileriyle diğer polifenollerden daha fazla dikkat çekmektedir. Bu grupların birçok mikrobiyel öldürücülük faktörünü (biyofilm oluşumunu engellemek, bakteriyel toksinleri nötralize etmek, konakçı ligand tutunmasını azaltmak) engellediği ve antibiyotiklerle beraber sinerjetik etti gösterdiği belirtilmektedir (Daglia 2012). Çizelge 2.2’de bazı polifenollerin antimikrobiyel etki gösterdiği mikroorganizmalar gösterilmektedir (Albuquerque vd. 2013)

Çizelge 2.1 Üzümsü meyvelerdeki endojen fenolikler

Genel İsmi	Cins ve Tür	Fenolikler
Siyah frenk üzümü	<i>Ribes nigrum</i>	Del-3-Rut, Cy-3-Rut, Del-3-Glc, Cy-3-Glc, Peo-3-Rut, Mal-3-Rut, Mai-3-Rut, Mal-3-Glc, Myr-3-Rut, Myr-3-Glc, Q-3-Rut, K-3-Glc
Kırmızı frenk üzümü	<i>Ribes rubrum</i>	Cy-3-Glc-Rut, Cy-3-Soph, Cy-3-Gla, Cy-3-Xyl-Rut, Cy-3-Rut
Çilek	<i>Fragaria X ananassa</i>	Pel-3-Glc, Cy-3-Glc, Pel-3-Ara, Ellagic acid
Böğürtlen	<i>Rubus spp.</i>	Cy-3-Sop, Cy-3-Glc-Rut, Cy-3-Glc, Cy-3-Rut, Q-3-Gal, Q-3-Glc, Q-3-Rut, Q-3-XylGlcAc, Lambertianin C
Kırmızı ahududu	<i>Rubus idaeus</i>	Cy-3-Glc, G-3-Rut, Cy-3-Rut, Cy-3-Glc, Pel-3-Sop, Pel-3-Glc-Rut, Cy-3,5-DiGlc, Cy-3-Samb, Pel-3-Glc, Pel-3-Rut, Sanguin H-6, lambertianin C, Q-3Rut, Q-3-Glc, Q-3-GlcAC
Mavi yemiş	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Del-3-Gal, Del-3-Glc, Cy-3-Gal, Del-3-Ara, Cy-3-Glc, Pet-3-Gal, Cy-3-Arab, Pet-3-Glc, Peo-3-Gal, Pet-3-Arab, Peo-3-Glc, Mal-3-Gal, Peo-3-Arab, Mal-3-Glc, Mal-3-Arab, Caffeoylquinic acids, Q-3-Gal, Q-3-Glc, Q-3-Rut
Turna yemişi	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Cy-3-Gal, Cy-3-Ara, Cy-3-Gal, Cy-3-Ara, Myr-3-Gal, Q-3-Gal, Q-3-Rham
Mürver yemişi	<i>Sambucus nigra</i>	Cy-3-Samb-5-Glc, Cy-3,5-DiGlc, Cy-3-Samb, Cy-3-Glc

Kısaltmalar: Siyanidin (Cy); Pelargonidin (Pel); Peonidin (Peo), Petunidin (Pet), Malvidin (Mal), Kuersetin (Q), Mirisetin (Myricetin, Myr), Kaempferol (K); Glukozit (Glc), Diglukozit (DiGlc); Soforozit (Sophoroside, Sop); Ksilozit (Xyl); Asetilksilozit (Acetylxyloside, XylAc); Arabinozit (Ara); Asetilarabinozit (Acetylarabinoside, AraAc); Glukuronit (GlcAC); Ksüosilglukuronit (Xylosylglucuronide, XylGlcAC); Asetilglukozit (Acetylglucoside, GlcAc); Galaktozit, (Gal); Ramnozit (Rham), Rutinozit (Rut); Sambubobiyozit (Sambubioside, Samb), Delfinidin (Del)

Çizelge 2.2 Bazı polifenollerin antimikrobiyel etki gösterdiği mikroorganizmalar (bakteri, virüs, mantar)

Polifenollerin sınıflandırılması		Antimikrobiyel aktivite		
		bakteri	mantar	virüs
Flavonoidler		<i>V.cholerae, S.mutans, C.jejuni, C.perfringens, E.coli, B.cereus, H.pylori, S.aureus, Lacidophilus, P.oralis, P.gingivalis, P. melaninagem, F.nucleatum, C.pneumoniae.</i>	<i>C.albicans, M. gypseum, T. mentagrophytes, T.rubrum.</i>	Adenovirus, Enterovirus, Flavivirus, HIV
fenolik asitler		<i>S.aureus, L. brevis, L. fermentum, Listeria monocytogenes, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, B. megaterium, B. subtilis, E. coli, M. tuberculosis.</i>	<i>C. albicans, C. krusei, C. parapsilosis, C. tropicalis</i>	HIV
Kumarin		<i>Streptococcus mutans, S. aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>	-
Lignanlar		<i>P. acnes, S. aureus, Enterococcus faecalis, E. coli, M. tuberculosis.</i>	-	HIV
Fenolik alkoller		<i>S. aureus, M. tuberculosis.</i>	-	-
Tanenler	Kondense	<i>S.mutans, E.coli, S.aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>	A tipi grip, Herpes simpleks (tip 1), HIV
	Hidrolize	<i>Salmonella, Staphylococcus, Helicobacter, E.coli, Bacillus, Clostridium, Campylobacter, Lysteria.</i>	<i>Candida parapsilosis.</i>	Epstein-Barr virüs, Herpes virus 1 e 2, HIV
Stilbenler		<i>S. aures, P. aeruginosa, P. syringae Bacillus subtilis.</i>	<i>A niger, B. cinerea, C.herbarum M. aucupariae. A.niger, B cinerea, C. herbarum</i>	-

Maviyemişin yapısında bulunan kateşinlerin (flavanoller) ve proantosiyanidinlerin (kondense tanen) yüksek antioksidatif etkiden sorumlu başlıca bileşenler olduğu, (Huang vd. 2012), ayrıca bu bileşiklerin ve fenolik asitlerin antimikrobiyel etkiden de sorumlu bileşenler olduğu belirtilmektedir.

Flavanollerin, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus*, ve *Actinomyces naeslundii* gibi Gram-pozitif bakterilere ve *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* gibi Gram-negatif bakterilere karşı etkili olduğu görülmektedir (Daglia 2012).

En çok üzerinde çalışılan proantosiyanidinler üzüksü meyvelerden elde edilenler olup, bu bileşiklerin *E. coli*, *S. mutans* ve *S. aureus* gibi bazı patojenlere karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Proantosiyanidinlerin bakterilere karşı etkili olmasının yanında A tipi grip (domuz gribi) ve Herpes simpleks HSV-1 tipi virüsüne karşı da antiviral etki gösterdiği de belirtilmektedir (Côté vd. 2010).

Bazı fenolik asitlerin (gallik, kafeik, ferulik asitler), Gram-pozitif (*S. aureus* ve *L. monocytogenes*) ve Gram-negatif (*E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakterilere karşı antimikrobiyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (Daglia 2012).

Yapılan çalışmalarda flavanoidlerin, minimum etkin konsantrasyon değeri (MEK) < 0.6 µg/mL'ye ulaştığı görülmüştür. MEK, bakteriyel gelişimin engellendiği en az madde seviyesi olup, bu seviyede bu etkiye sadece antibiyotikler ulaşabilmektedir (Cushnie ve Lamb 2011).

Çin'de yetiştirilen dört maviyemiş çeşidinin (Elliot, Darrow, Duke ve Bluecrop), Gram-negatif *S. Enteritidis*'e ve Gram-pozitif *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıvı besiyerinde 900 mg/mL seviyesinde kullanılan Elliot ve Darrow çeşidi maviyemiş ekstraktlarının iki patojeni de tespit edilemez düzeyde inhibe ettiği belirtilmiştir. Aynı konsantrasyonda, Bluecrop ve Duke çeşidi maviyemiş ekstraktlarının *L. monocytogenes*'i inhibe etmekte etkili olduğu fakat *S. enteritidis*'e karşı zayıf koruma gösterdiği belirtilmektedir (Shen vd. 2014).

Yapılan bir diğ er çalışmada, maviyemişin su ve etanolde     nd r lerek elde edilen ekstraktlarının, *L. monocytogenes*'e karşı 24 saat sonunda 5.9 log kob/mL azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Park vd. 2011).

Ayrıca, maviyemiş proantosiyanidin içeriğinin *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* ve *Candida albicans* bakterilerine karşı da antimikrobiyel etkisinin olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Ofek vd. 1996, Chatterjee vd. 2004, Lacombe vd. 2012, Joshi vd. 2014). Maviyemiş ekstraktları gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel etki gösterirken, LAB'ne karşı çok az etki gösterdiği ya da hiç etkili olmadığı belirtilmiştir (Lacombe vd. 2012, Silva vd. 2013). Silva vd. (2013), maviyemiş ekstraktının patojenlere karşı etkili olmasının, sağlığa yararlı olduğu bilinen LAB'ne karşı ise yok denecek kadar az etkili olmasının avantaj olduğunu belirtmişlerdir.

Alçak boylu maviyemiş ekstraktının gıda patojenlerine ve *Lactobacillus rhamnosus* probiyotik bakterisine karşı antimikrobiyel etkisinin incelendiği çalışmada patojenlere karşı etkili olan maviyemiş ekstraktının, bu bakteriye karşı etkili olmadığı, *L. rhamnosus* bakterisinin minimum etkin konsantrasyon değeri göstermediği görülmüştür (Lacombe vd. 2012).

Yapılan  alışmalar değerlendirildiğinde, maviyemiş meyvesi ekstraktının et ürünlerindeki lipid oksidasyonunu geciktirmede ve mikrobiyel yükü azaltmada iyi bir doğal kaynak olabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla, maviyemiş meyvesinden elde edilecek sulu ekstraktların konsantre ve liyofilize edilerek antioksidan ve antimikrobiyel maddelerinin daha konsantre hale gelmesi ve köfte üretiminde iki farklı düzeyde kullanılması ile soğuk depolama ve dondurularak depolama sırasında kalite özelliklerindeki değişimlerin belirlenmesi, bu çalışmanın esasını oluşturmaktadır. Et  r nlerinde maviyemiş ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyel etkisinin belirlendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Et materyali

Çalışmada, soğuk depolama ve donmuş depolama için farklı zamanlarda Et ve Süt Kurumu'ndan ve Kazan mezbahası'ndan satın alınan Montofon ırkına ait 1.5 yaşında iki danadan elde edilen karkasların boyun ve döş kısımları kullanılmıştır.

3.1.2 Maviyemiş

Bitkisel ekstrakt materyali, maviyemiş (*Vaccinium corymbosum*, L.) meyvesinin yüksek çalı formunda Chandler çeşididir. Meyveler hasat edildikten sonra satın alınmış ve kullanılacağı zamana kadar -18°C'de dondurularak depolanmıştır.

3.1.3 Baharat ve diğer katkı maddeleri

Baharat olarak kullanılan karabiber, kimyon, sofralık tuz, soğan, sarımsak ve galeta unu Ankara piyasasından temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Maviyemiş ekstraktının elde edilmesi

Liyofilize maviyemiş ekstraktı (MYE), Jiménez-Aguilar vd. (2011)'ın yöntemi modifiye edilerek elde edilmiştir. 100 g meyve 500 mL destile su ile Waring blenderde 2 dakika homojenize edilmiş ve 12 kat tülbentten filtre edilmiştir. Tülbentte kalan kısım tekrar 500 mL destile su ile homojenize edilerek filtre edilmiştir. Sıvı ekstraktlar birleştirilerek 12100xg'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen supernatant toplanarak, döner evaporatörde (Laborata 4003 model Heidolph, Almanya) 40°C'de

%15±2 çözünür katı madde içerecek düzeye konsantre edilmiştir. Elde edilen konsantre, -40°C’de 24 saat dondurulmuş ve liyofilizasyon cihazında (Labconco 74200, A.B.D.) - 85°C’de ve 120 mBar vakum altında kurutulmuştur. Liyofilize ekstrakt toz haline getirilmiş ve kullanılacağı zamana kadar 4°C’de depolanmıştır (Kanatt vd. 2010).

3.2.2 Maviyemiş ekstraktında yapılan analiz yöntemleri

3.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı

Maviyemiş ekstraktının toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. Liyofilize ekstrakt 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 100 mL’ye destile su ile tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilen örneğin absorbansı spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahit çözeltiye 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.

3.2.2.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi)

Maviyemiş ekstraktının antioksidan aktivitesi Miller ve Rice-Evans (1997) ile Arts vd. (2001) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir.

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 saat 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, Culver City, CA, A.B.D.) 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 aktarılarak örneğe ilişkin eğri elde edilmiştir. Örneklerle uygulanan spektrofotometrik uygulamalar 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 antioksidant kapasitesi) değeri” olarak ifade edilmiştir.

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

3.2.2.3 Antimikrobiyel aktivite

3.2.2.3.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri

Maviyemiş ekstraktında antimikrobiyel aktivitenin saptanması amacıyla, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerden seçilen *Salmonella entericaserotype* Enteritidis (ATTC 13076) (S. Enteritidis), *Staphylococcus auerus* (Cowan suşu), *Listeria monocytogenes* (ATTC 7644), *Escherichia coli* O157 ve *E. coli* (gıda izolatu), *Pseudomonas fluorescens* (NRLL B-253), *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* (gıda izolatu), *Lactobacillus plantarum* (4 nolu suşu), *L. brevis* (150-a suşu) ve *Pediococcus ethanolidurans* (22 nolu suş) (turşudan izolat) kullanılmıştır (Tokatlı 2013).

Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri %16 (v/v) gliserol stok kültürü olarak 25°C’de uzun süreli olarak saklanmıştır. Her denemede kullanılmak üzere bu bakterilerden *L. plantarum*, *L. brevis* ve *Pediococcus ethanolidurans* “de Man Rogosa Sharpe” (MRS) agar diğer kültürler ise tryptic soy agar (TSA) (Merck, Darmstad, Almanya) ile hazırlanan yatık agarlı besiyerinde 6°C’de stok kültür olarak saklanmış ve her denemede standart inokulum hazırlanması amacıyla aktifleştirilerek kullanılmıştır. Bakterilerin aktive edilmesi, geliştirilmesi ve maviyemiş ekstraktlarının antibakteriyal aktivitelerinin ölçümü amacıyla *L. plantarum*, *L. brevis* ve *P. ethanolidurans* için MRS broth ve MRS agar, diğer tüm bakteriler için ise tryptic soy broth (TSB) ve TSA besiyerleri kullanılmıştır.

3.2.2.3.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması

Her bir bakteri kültürü için yatık agarlı besiyeri stok kültüründen 2 mm çaplı öze ucu ile bir kez alınarak 10 mL sıvı besiyerine aşılanmış ve kültürlerden *Lactobacillus* türleri, *Bacillus* türleri ve *P. fluorescens* 28°C diğer bakteri türleri ise 37°C’de 20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürden tekrar bir öze ucu ile 10 mL sıvı besiyerine aşılanıp, uygun sıcaklıklarda 20 saat inkübasyona bırakılarak 2. pasaj ve aynı şekilde aşılanarak bu kez 18 saatlik inkübasyon sonunda 3. pasaj elde edilmiş ve standart inokulum hazırlanması amacıyla kullanılmıştır.

Bu bakteri kültüründen %0.85 NaCl (w/v) içeren fizyolojik tuzlu su (FTS) ile ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden *Lactobacillus* türleri için MRS agar, diğer bakteriler için TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler kullanılan bakteri türleri için yukarıda bahsedilen optimum sıcaklıklarda 24–48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bakteri kültürleri steril FTS ile 600 nm’ye ayarlanmış bir spektrofotometre ile 0.20 absorbans değeri verecek şekilde seyreltilerek (yaklaşık 1×10^8 KOB/mL bakteri) standart inokulum hazırlanmıştır.

3.2.2.3.3 Antimikrobiyel aktivite

Liyofilize haldeki MYE ekstraktından aseptik koşullarda tartım yapılmış ve steril destile

su ile %5 (w/w) stok çözeltileri hazırlanmıştır. MYE için hazırlanan stok çözeltisinden steril destile su kullanılarak %1, %0.5 ve %0.25, %0.125, %0.062 (w/v) konsantrasyonlarda ardışık çözeltileri hazırlanmış ve antimikrobiyel aktiviteleri test edilmiştir. Ayrıca, köftelere katılan kimyasal antioksidan BHT'nin antimikrobiyel aktivitesini test etmek amacıyla, %0.01 (w/v) oranında BHT çözeltisi hazırlanmış ve aktivitesi test edilmiştir. Suda tam çözünmeyen BHT %100 etil alkol (EtOH) içerisinde tamamen çözülerek %1 (w/v) stok çözelti hazırlanmış daha sonra bu stok çözeltisinden son hacmi %40 (w/v) EtOH içerecek şekilde %0.01 BHT çözeltisi hazırlanarak antimikrobiyel aktivite tayininde kullanılmıştır. BHT çözeltisi içindeki EtOH'un olası antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi amacıyla %40 (v/v) EtOH kontrol örneği kullanılmıştır. Meyve ekstraktlarındaki asitliğin ve şekerin olası antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi amacıyla membran filtrasyonla sterilize edilen sitrik asit çözeltisi (%1, w/v, pH=3.50) ve steril glukoz çözeltisi (16 °Brix) kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi agar cup yöntemi olarak da bilinen kuyu difüzyon yöntemi esas alınmıştır uygulanmıştır. Kuyu difüzyon yönteminde “bakterilerden standart inokulum hazırlanması” başlığı altında verilmiş yöntemle hazırlanan inokulumdan, otoklavlandıktan sonra yaklaşık 45°C sıcaklığa soğutulmuş 25 mL TSA ve MRS agar besiyerleri petrilere (11 x 1.5 cm) aktarılmıştır. Besiyerleri düz bir yüzeyde, ortam sıcaklığında (20±2°C) katılaştıktan ve en az 60 dakika bekletildikten sonra her bir bakteri kültürüne ait hazırlanan standart inokulumdan steril bir swab yardımıyla örnek alınmış ve TSA besiyeri üzerine sürülerek ekim işlemi yapılmıştır ve 15 dakika bekletilmiştir. Her bir petri kutusunda ekim yapılan besiyerinde steril metal bir mantar delici kullanılarak aseptik koşullarda 9 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Bu kuyucuklara farklı konsantrasyonlardaki her bir örnekten 0.1 mL aktarılmış ve besiyerleri 35°C'de 16-20 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin sonunda besiyerinde kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonları çıplak gözle gerektiğinde ise bir steromikroskop altında detaylı incelenerek oluşan berrak zonlar bir kumpasla “mm” olarak ölçülmüş (kuyucuk çapı dahil) ve böylece antibakteriyel aktivite saptanmıştır.

3.2.3 Köfte üretimi

Köfte formülasyonu; %86.65 dana kıyma (%10-13 yağlı), %6 galeta unu, %0.25 karabiber, %0.5 kimyon, %3.5 soğan, %1.6 tuz, %0.5 sarımsak ve %1.0 sudan oluşmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Köfte formülasyonu (%)

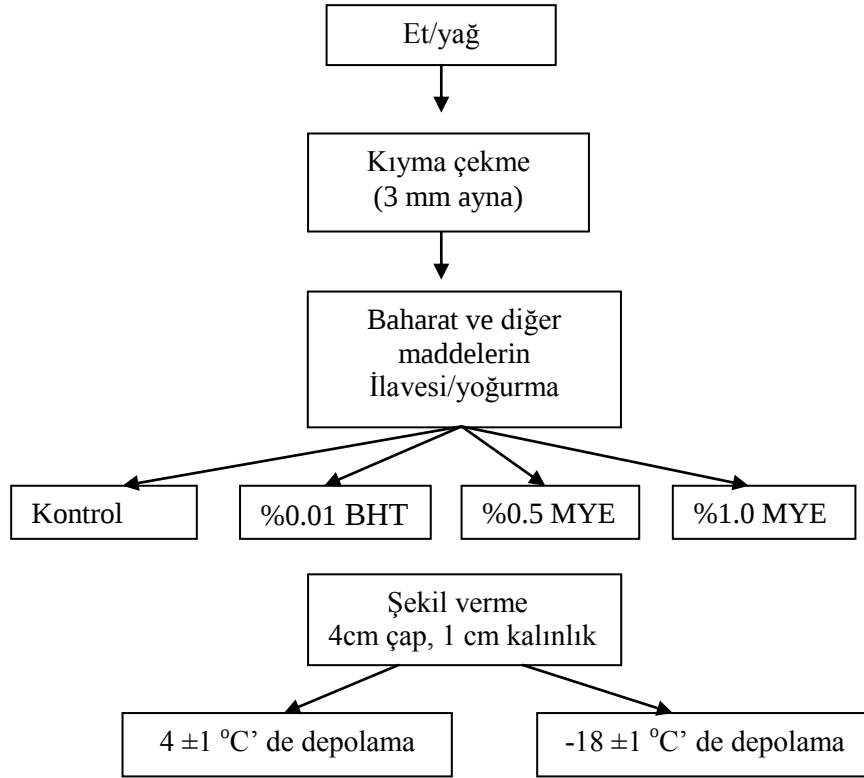
Formülasyon	%
Et/yağ karışımı	86.65
Galeta unu	6.00
Karabiber	0.25
Kimyon	0.50
Soğan	3.50
Tuz	1.60
Sarımsak	0.50
Su	1.00

Kesimden sonra 2 ± 2 °C’de 24 saat dinlendirilen karkasın döş ve boyun bölgesinden alınan etler ve iç yağı bekletilmeksizin 3 mm ayna kullanılarak kıyma çekilmiş ve soğuk koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Köfte formülasyonda yer alan galeta unu, karabiber, kimyon, soğan, sarımsak ve su kıyma ete sırasıyla ilave edilmiş ve beş dakika karışmaları için yoğrulmuştur. Elde edilen köfte harcı dört gruba ayrılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Köfte grupları

%	K	BHT	MYE1	MYE2
BHT	-	0.01		
MYE1	-		0.5	
MYE2	-			1.0

Gruplardan biri kontrol (K) olarak ayrılmış, diğerlerine sırasıyla %0.01 butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) (w/w), % 0.5 MYE (MYE1) (w/w) ve %1 MYE (MYE2) (w/w) ilave edilerek ayrı ayrı yoğrulmuşlardır. Maviyemiş ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi analiziyle en etkili konsantrasyonların % 0.5 ve % 1 olduğu görülmüş olup bu oranların köfteye katılması uygun bulunmuştur. Toz haldeki maviyemiş liyofilize ekstraktları köfte hamuruna serpilerek ve ilave 5 dakika daha yoğrularak dahil edilmiştir. BHT 10 ml etil alkolde (%96'lık) çözündürülerek köfte hamuruna dahil edilmişlerdir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Köfte üretimi işlem basamakları

Soğuk depolama için; köfte hamurundan 20 ± 4 g ağırlığında (4 cm çap ve 1 cm kalınlık) köfteler hazırlanmış, tepsilere tek sıra halinde yerleştirilmiş ve üzerleri stretch filmle kaplanarak $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'deki buzdolabında depolanmışlardır. Donmuş depolama için; şekil verilen köfteler bekletilmeksizin hava akımlı dondurucuda (FRIGOSCANDIA LABoFREEZE mobil dondurucu, İsveç) -18°C 'ye süratle dondurulmuş ve polietilen torbalara doldurularak $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanmışlardır. Köfte hamurunun hazırlanması ve

şekil verme işlemleri kırılmış buz üzerinde soğutulmuş paslanmaz çelik tepsilerde soğuk koşullarda yürütülmüştür.

Soğukta depolanan köftelerde mikrobiyolojik (0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 8. ve 10. günlerde), kimyasal (0., 2., 4., 6. ve 8. günlerde) ve duyuşsal (0., 3., 6., 8. ve 10. günlerde) analizler yürütülmüştür. Dondurularak depolanan köftelerde bu analizler depolamanın 0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarında yapılmıştır.

3.2.4 Köftede yapılan analiz yöntemleri

3.2.4.1 Nem miktarı

Nem miktarı tayini için, daha önce 105°C’de sabit ağırlığa getirilen ve darası alınan cam kuru madde kaplarına yaklaşık 5 gram örnek tartılmış ve 105°C’de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Meydana gelen ağırlık farkından % nem miktarı hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

3.2.4.2 Protein miktarı

Ham protein miktarı (%), Kjeldahl yöntemine göre örneklerin önce % azot (N) miktarı belirlenerek ve elde edilen %N miktarı 6.25 faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

3.2.4.3 Yağ miktarı

Yağ miktarı, Bligh ve Dyer (1959) tarafından önerilen ve Lee vd. (1996) tarafından modifiye edilen soğuk ekstraksiyon yöntemine göre belirlenmiştir. Köfte örneğinden 5 g, 250 mL’lik paslanmaz çelik Eberbach homojenizatörüne (EF22337B8581, USA) tartılmıştır. Üzerine 50 mL 2:1 oranında kloroform/metanol çözeltisi eklenmiştir. Kapak kapatıldıktan sonra 1.5 dakika süre ile Waring blender’de karıştırılmıştır. Homojenat yüksek hızlı filtre kağıdından (Whatman no.4, 12.5 mm çapında) ayırma

hunisine süzölmüştür. Üstteki kısım, tekrar 50 mL'lik kloroform/metanol çözeltisi ile aynı şekilde karıştırılmış ve filtre edilmiştir. İki fazı ayırmak için 20 mL %0.5'lik NaCl çözeltisi ilave edilmiş ve karışım alt üst edildikten sonra 12 saat bekletilmiştir. Kloroform fazı ölçölü balona dikkatli bir şekilde aktarılmış ve hacmi kaydedilmiştir. Yağ miktarını belirlemek için 5 mL kloroform fazı, önceden darası alınmış 25 mL'lik behere pipetlenmiştir. Düşük ayardaki ısıtıcı üzerinde beher ara sıra karıştırılarak yaklaşık 10 dakikada kloroform uçurulmuştur. Beher daha sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve tartılmıştır. Toplam yağ miktarı aşağıdaki formöllden hesaplanmıştır.

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

3.2.4.4 Kül miktarı

Kül miktarının belirlenmesi için, sabit ağırlığa getirilmiş kül krozelerine yaklaşık 3 g örnek tartılmış ve 105°C'deki kurutma dolabında 10-12 saat kurutulmuştur. Daha sonra, kül fırınında kademeli olarak yakılmış ve 550 °C'de tamamen kül haline getirilmiştir. Meydana gelen ağırlık farkından % kül miktarı hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

3.2.4.5 Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizlerde 10 g köfte, stomacher torbası içerisinde 90 mL steril peptonlu tuzlu su, (%0.1 pepton ve %0.85 NaCl, w/v) çözeltisi ile karıştırılmış ve stomacher'de (Seward 400, London, UK), 230 rpm'de 2.5 dakika homojenize edilmiştir. Homejenattan steril peptonlu tuzlu su çözeltisi kullanılarak ardışık seyreltiler hazırlanmış ve her bir tekerrürde 2 paralel yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler AOAC'da (Anonymous 1998) belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Bu amaçla uygun seyreltilerden 1 mL aktarılan petrilere aşağıda belirtilen besiyerleri dökme yöntemiyle ilave edilerek belirtilen uygun koşullarda inkübe edilmiştir.

3.2.4.5.1 Toplam aerob mezofil bakteri ve toplam aerob psikrotrof bakteri sayımı

Toplam aerob mezofil bakteri (TMAB) ve toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayımı, yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan Petrilere Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyeri dökülerek katılaşması beklenmiş ve TAMB için 28°C’de 48 saat, TAPB için 7°C’de 6-7 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan tüm koloniler sayılarak belirlenmiştir.

3.2.4.5.2 Toplam laktik asit bakteri sayımı

Toplam Laktik asit bakteri (LAB) sayımı, hazırlanan petrilere De Man, Rogosa and Sharpe (MRS, Merck) agar besiyeri çift kat dökülmüş, katılaştıktan sonra 28°C’de 48 h inkübe edilmiş ve oluşan tipik koloniler sayılmıştır.

3.2.4.5.3 Toplam Enterobacteriaceae sayımı

Toplam Enterobacteriaceae bakteri yükü, hazırlanan Petrilere Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBDA, Merck) besiyeri dökülerek ve 35°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra oluşan tipik koloniler sayılarak belirlenmiştir.

3.2.4.6 Renk ölçümü (L*, a* ve b*)

Örneklerin yüzey renk değerleri (L* parlaklık, a* kırmızılık ve b* sarılık), reflektans kolorimetre cihazı (Minolta CR-300, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Renk ölçümü, köfte yüzeyinde dört farklı noktada yapılan ölçümlerin aritmetik ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

3.2.4.7 Peroksit değeri tayini

Peroksit değeri (PD), International Dairy Federation (IDF) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir (Shantha ve Decker 1994). Peroksidasyon derecesine göre 0.01-0.30 g yağ örneği 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 O₂/kg lipid” olarak hesaplanmıştır.

3.2.4.8 *para*-Anisidin değeri

para-Anisidin (*p*-An) değeri, IUPAC (1989) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. *p*-An değeri, 100 mL'de 1 gram yağ içeren çözgen ve reaktiften oluşan çözeltinin reaksiyonu sonucu, 350 nm dalga boyunda oluşan absorbansının 100 katı olarak tanımlanır. Bu test yağda bulunan ikincil parçalanma ürünlerinden aldehitlerin özellikle de 2-alkenallerin ve 2,4-dienallerin miktarını belirler. Yağlardaki aldehit bileşikleri, asetik asit çözeltisinde hazırlanan *p*-An reaktifi ile reaksiyona girer ve oluşan rengin yoğunluğu 350 nm dalga boyunda ölçülür. Bu amaçla oksidasyon derecesine göre 0.1-0.5 g yağ örneği 25 mL hekzan içerisinde çözündürülmüş ve karışımın absorbansı 350 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede hekzana karşı okunmuştur (A₁). Elde edilen karışımdan 5 mL bir başka test tüpü içerisine alınmış ve üzerine 1 mL *p*-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 (A₂). Şahit çözelti 5 mL hekzan ve 1 mL *p*-An ayırıcı içermiştir. *p*-An değeri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$p\text{-An değeri} = \frac{25(1.2(A_2 - A_1))}{\text{Örnek Ağırlığı (g)}}$$

3.2.4.9 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi

Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM), Ahn vd. (1998) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Bunun için 5 g örnek 15 mL destile su ile Ultra Turrak (IKA T25, Almanya) kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Homojenat, 2000 g'de 15 dakika santrifüjlenmiş, üstteki berrak fazdan 1 mL alınmış ve içerisine önceden 2 mL TCA-TBA-HCl çözeltisi (%0.375 TBA ayırıcı, %15 TCA ve 0.25 M HCl) konulan test tüplerine ilave edilerek vorteks (IKA MS3 Basic, Almanya) ile karıştırılmıştır. Tüpler, 15 dakika kaynar su banyosunda inkübe edilmiş, hızla oda sıcaklığına soğutulmuş ve 1000xg'de 10 dakika santrifüjlendikten (Hettich, rotofix II, İngiltere) sonra, absorbansı 531 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı belirlenmiştir. Şahit çözelti 1mL destile su ve 2 mL TCA-TBA-HCl çözeltisi içermiştir. Örneğin malondialdehit miktarı, malondialdehit (1,1,3,3-tetra etoksipropan) standart eğrisi kullanılarak “mg MDA/kg köfte” olarak hesaplanmıştır.

3.2.4.10 Duyusal analiz

Köfteler, depolandıkları sıcaklık derecesine göre belirli aralıklarla renk, koku ve genel beğeni yönlerinden değerlendirilmişlerdir. Panelist grup 5 kişiden oluşmuş ve panelistler değerlendirecekleri kriterler yönünden önceden bilgilendirilmişlerdir. Duyusal değerlendirme için kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Donmuş köfteler (0., 3. ve 6. ayda) oda sıcaklığında çözündürülerek ve soğukta depolanan köfteler (0., 3., 6., 8. ve 10. günlerde) oda sıcaklığında çiğ olarak değerlendirilmiştir. Bütün bir parça köfte, plastik kaba alınmış ve ağzı kapatılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Örnekler iyice havalandırılmış duyusal analiz laboratuvarında, sarı ışık altında panelistlere sunulmuş, panelistlerden örnekleri renk ve koku yönlerinden, Ek 1'de verilen “Köfte duyusal değerlendirme formu” kullanarak 7 puan üzerinden değerlendirmeleri istenmiştir. Panelistler soğukta ve dondurularak depolanan çiğ örnekleri; renk, ransit koku, yabancı koku, kokuşma kokusu ve genel beğeni yönlerinden değerlendirmişlerdir (Eymard vd. 2009). Değerlendirmede 7 puanlık ölçü kullanılmış, 7 özelliğin en beğenildiği, 1 hiç beğenilmediği puan olarak kabul edilmiştir.

3.2.4.11 İstatistik analiz

Farklı antioksidan kaynağı içeren köftelerde elde edilen analiz sonuçları iki farklı depolama sıcaklığında ayrı ayrı varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Soğuk depolamada; dört farklı uygulama (K, BHT, MYE1, MYE2), analize ve depolama şekline göre depolama süresi seviyeleri dikkate alınmıştır. 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).

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

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Maviyemiş Ekstraktında Yapılan Analiz Sonuçları

4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı

Maviyemiş ekstraktı (MYE)'nda belirlenen toplam fenolik madde miktarları mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Maviyemiştten elde edilen ekstraktın fenolik madde içeriği kuru ağırlıkta gallik asit eşdeğeri olarak 22.92 mg/g olmuştur. Görüldüğü üzere, maviyemiştten elde edilen liyofilize ekstraktlar önemli düzeyde toplam fenolik madde içermektedirler. Buna göre köfte ete ilave edilen düzey arttıkça bitkisel ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyel etkileri de artacaktır. Maviyemiş meyvesinin toplam fenolik madde içeriğinin yüksek olduğu bilinmektedir. Sellappan vd. (2002), maviyemiş rabbiteye çeşidinin 100g yaş meyvede gallik asit eşdeğeri olarak 270-930 mg, yüksek çalı formundaki meyvelerin 261-585 mg, Moyer vd. (2002) ise, *Vaccinium* türlerinin 171-961 mg arasında toplam fenolik madde içerdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde ettiğimiz yüksek fenolik madde konsantrasyonu, maviyemiş sulu ekstratının liyofilizasyon ile konsantre edilmesinden kaynaklanmıştır.

4.1.2 Antioksidan aktivite

Maviyemiş ekstraktında (MYE) ve BHT'de yapılan antioksidan aktivite sonuçları çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde antioksidan aktivite %0.01 BHT'de 4193.8 mM troloks/g madde, MYE'de 3048.4 mM troloks/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, maviyemiş meyvesinden elde edilen ekstraktların BHT gibi iyi bir antioksidan olduğunu göstermektedir.

Blueberry (*Vaccinium*) olarak bilinen, Türkçe maviyemiş olarak adlandırılan meyveler fenolik asitler, tanenler, flavonoller ve antosiyaninler içermeleri nedeniyle zengin antioksidan kaynağıdır (Wang vd. 2012). Maviyemiş meyvesinde bulunan antosiyaninler ve fenolikler antioksidan ve antibakteriyel etkiden sorumlu bileşik sınıflarıdır. antosiyaninler, meyvenin kırmızı-mavi rengini veren flavonoid sınıfının

başlıca üyelerinden biridir. Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleridirler ve birbirlerinden hidroksillenme ve metoksillenme derecelerine göre ayrılırlar (Lohachoompol 2008). Maviyemiş meyvesinin antioksidan aktivitesi toplam antosiyanin içeriğinden, toplam fenolik içeriğinden, genotipten, çevresel faktörlerden, meyve olgunluğundan ve hasat sonrası koşullardan etkilenmektedir. Maviyemiş meyvesinde bulunan farklı yapılardaki antosiyaninler (siyanidin, delfinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin ve petunidin) sadece meyveye farklı renkler vermezler, aynı zamanda farklı antioksidan etkiler gösterirler. Örneğin pelargonidin, malvidin ve peonidin R₂ pozisyonunda bir hidroksil grup içerirler ve düşük oksijen radikali absorplama kapasitesine sahiptirler (Wang vd. 1997).

Çizelge 4.1 BHT ve MYE'nin antioksidan aktivite sonuçları (mM troluks/g ekstrakt)

Kaynak	mM troluks /g ekstrakt
BHT	4193.8±8.11
MYE	3048.4±18.22

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

4.1.3 Antimikrobiyel aktivite

MYE'nin 5 farklı konsantrasyonu (%0.125'den %1'e) ve BHT'nin tek konsantrasyonu %0.01) kullanılarak farklı mikroorganizma türlerine karşı saptanan antimikrobiyel aktivite sonuçları çizelge 4.2'de verilmiştir. MYE'nin Gram-pozitif bakterilerden *B. subtilis*'e ve *B. cereus*'a karşı %0.5 minimum konsantrasyona kadar etkili olduğu fakat laktik asit bakterileri *L. plantarum*, *L. brevis* ve *P.ethanolidurans*'a karşı inhibisyon etkisinin olmadığı saptanmıştır. MYE, Gram-negatif bakterilerden *S. Enteritidis*, *E. coli* O157 ve *E. coli*'ye karşı sırasıyla % 0.125, %0.25, %0.50 ve %1.0 minumum konsantrasyonlara kadar inhibisyon etkisi göstermiştir. Diğer araştırmacılar tarafından da maviyemiş ekstraktlarının gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel etki gösterirken, LAB'ne karşı çok az etki gösterdiği ya da hiç etkili olmadığı belirtilmiştir (Lacombe vd. 2012, Silva vd. 2013).

Çizelge 4.2 Maviyemiş ekstraktları ile BHT' nin antimikrobiyel aktivite değerleri

Test bakterisi	İnhibisyon çapları (mm)* (Ortalama ± standart sapma, n=4)						Kontrol		
	Ekstrakt konsantrasyonu (% w/v)								
	1	0.5	0.25	0.125	0.062	BHT ¹ (0.01)	EtOH ²	Şeker ³	Asit ⁴
Gram-pozitif									
<i>B. subtilis</i>	18.62±0.48	12.16±0.29	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>B. cereus</i>	21.50±0.58	17.75±0.50	13.25±0.50	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>S. aureus</i>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L. monocytogenes</i>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L. plantarum</i>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>L. brevis</i>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>P. ethanolidurans</i>	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Gram-negatif									
<i>E. coli</i> O157	27.50±0.58	24.25±0.96	19.50±0.58	13.50±0.57	<10	<10	<10	<10	<10
<i>E. coli</i>	29.75±0.50	26.50±0.58	23.00±0.82	20.50±0.58	15.75±0.96	<10	<10	<10	<10
<i>S. Enteritidis</i>	30.00±0.80	22.75±2.62	20.50±0.58	17.68±2.32	<10	<10	<10	<10	<10
<i>P. fluorescens</i>	22.83±0.98	19.25±0.50	12.50±1.00	<10	<10	<10	<10	<10	<10

*Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Kuyucuk çapı “<10”değeri inhibisyon olmadığını göstermektedir. Deneme 2 tekerrür, 2 paralel yapılmış, 4 zon çapının ölçüm ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Tam inhibisyon görülen iç zon; ^b Kısmi inhibisyon görülen dış zon

¹ %40 Etil alkol (EtOH) içerisinde çözündürülmüş BHT; ² EtOH, %40 (v/v) etil alkol; ³ Glukoz çözeltisi (16° Brix); ⁴ Sitrik asit çözeltisi (%1, w/v, pH=3.5)

Fenolik bileşiklerin ve özellikle de ellagitanenlerin *Staphylococcus* bakterilerine karşı güçlü inhibitör etkisi bildirilmesine karşın (Puupponen-Pimiä vd. 2005) çalışmamızda bu etki görülmemiştir. Diğer yandan önemli bir patojen olan *S. enteritidis* üzerine %0.125 ve üzeri konsantrasyonlarda güçlü inhibisyon gözlenmiştir. Fenolik bileşikler farklı bakterilerin çoğalmasını farklı mekanizmalarla etkilemektedirler ve bu mekanizmalar tam olarak açıklanamamaktadır. Diğer bir önemli patojen *L. monocytogenes* üzerinde de MYA'nın inhibitör etkisi gözlenmemiştir. Wen vd. (2003), saf fenolik asitlerin antilisterial aktivitesini çalışmışlar ve hidroksisinnamik asit gibi fenolik asitlerin *L. monocytogenes*'in birkaç suşuna karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bakterisidal ve bakteriostatik aktivitenin ortam PH'sına bağlı olduğunu, hidroksisinnamik asidin pH 4.5'de bakterisidal, daha yüksek pH'larda ise bakteriostatik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Diğer yandan BHT'nin ise bu çalışmada uygulanan %0.01 (w/v) konsantrasyonunun test edilen bakterilerden hiç birisine karşı inhibisyon etkisinin olmadığı saptanmıştır. Test edilen MYE ve BHT' nin bileşiminde yer alan bileşenlerin olası antimikrobiyel etkisini saptamak için kullanılan kontrol örneklerinin (EtOH, Şeker ve asit) ise yine testlerde kullanılan bakterilerden hiçbirisine karşı antimikrobiyel etkisi saptanmamıştır.

Maviyemişte bulunan fenolikler fito-antimikrobiyallerin bir kategorisini oluşturmaktadırlar. Fitoantimikrobiyeller, bitkisel kaynaklardan ekstrakte edilen antimikrobiyel maddeleri ifade etmektedir. Üzümsü meyvelerde bulunan fenolikler flavonoidleri, fenolik asitleri, polimerik tanenleri içermektedirler (Puupponen-Pimiä vd. 2005). Maviyemiş meyvesinde hidroksibenzoik asit, hidroksisinnamik asit türevleri ile kateşin, epikateşin, kuersetin, mirisetin ve kamferol gibi flavonoidler içerdikleri bildirilmiştir (Pastrana-Bonilla vd. 2003, Sellappan vd. 2002). Park vd. (2011), maviyemiş fenoliklerinin *Salmonella* bakterisinin çoğalmasını önemli düzeyde engellediğini belirlemişlerdir. Nar kabuğundaki aktif antibakteriyel maddelerin tanenler (ellagitanen gibi) ve flavonoidler olduğu gösterilmiştir (Wang vd. 2008, Al-Zoreky 2009).

4.2 Soğukta Depolanan Köfte Örneklerine Ait Sonuçlar

4.2.1 Köfte bileşimi

Köfte örneklerde depolama başlangıcında ve sonunda belirlenen % nem, protein, yağ ve kül miktarları çizelge 4.3'te verilmiştir. Depolama başlangıcında belirlenen nem, protein, yağ ve kül miktarları sırasıyla %62.09-62.60, %15.45-16.12, %12.44-13.95 ve %2.39-2.87 arasında değişmiştir. Depolama işleminin sonunda (8. gün), nem miktarlarında az da olsa bir azalma, protein ve yağ miktarlarında ise artış gözlenmiştir. Depolamanın 8. gününde nem miktarları %60.03- 61.78, protein miktarları %15.98-16.72, yağ miktarları %14.39- 15.09, kül miktarları ise %2.45- 2.71 arasında değişim göstermiştir.

Yapılan varyans analizi sonuçları (sonuçlar gösterilmemiştir), köfte örneklerin nem, protein, yağ ve kül miktarlarına, uygulamanın ve depolama süresinin etkisinin önemli olmadığını ($P>0.01$) göstermiştir. Benzer sonuçlar %0.1, %0.2 ve %0.3 nar ekstraktı katılan ve 4°C'de 9 gün depolanan köfte örneklerde de gözlenmiştir (Özdemir 2013).

Çizelge 4.3 Köftenin soğukta depolanması sırasında nem, kuru madde, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişimler (%)

Gruplar	Süre (gün)	Bileşim (%) ⁽¹⁾			
		Nem	Protein	Yağ	Kül
K	0	62.60±0.77	15.45±0.35	13.95±0.99	2.83±0.17
	8	61.78±0.52	16.20±0.71	15.00±0.24	2.71±0.04
BHT	0	62.09±0.29	15.64±0.59	12.44±0.52	2.39±0.02
	8	61.15±0.44	15.98±0.95	15.09±0.44	2.45±0.03
MYE1	0	62.34±0.22	16.12±0.45	13.73±0.38	2.56±0.06
	8	61.35±0.30	16.72±0.19	14.39±0.62	2.49±0.14
MYE2	0	62.17±0.80	15.74±0.14	13.12±0.37	2.87±0.10
	8	60.03±1.26	16.47±0.06	14.99±0.69	2.63±0.03

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

4.2.2 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayısı sonuçları $\log_{10}$ KOB/g olarak çizelge 4.4'te ve şekil 4.1'de görülmektedir. Köfteler hazırlandıktan hemen sonra gruplarda belirlenen TAMB sayıları, 4.55- 4.73 arasında değişmiştir. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak TAMB sayıları da giderek artmış ve 10. günde en yüksek 8.38 ile K örneklerde, en düşük 7.99 ile MYE2 örneklerinde belirlenmiştir. Depolamanın 10. gününde örneklerin TAMB sayılarında başlangıç sayıları ile kıyaslandığında; K, BHT, MYE1, MYE2 için sırasıyla 3.83, 3.69, 3.33 ve 3.28 log birimlik artışlar görülmüştür. Şekil 4.1 incelendiğinde, K örneklerinde TAMB sayısında 2. günden itibaren artış hızlanmış ve 4., 5., ve 6. günlerde giderek artmıştır. Diğer yandan MYE içeren örneklerde artış hızı özellikle depolamanın 2. ve 6. günlerinde K ve BHT'li örneklerden daha düşük olmuştur.

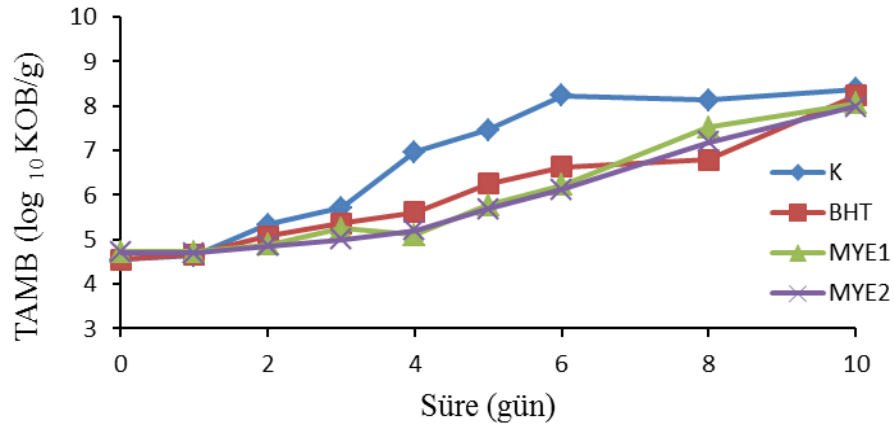
Çizelge 4.4 Soğukta depolanan köftelerin TAMB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 4.55±0.17 _G	^a 4.55±0.19 _G	^a 4.73±0.03 _F	^a 4.71±0.00 _G
1	^a 4.64±0.05 _G	^a 4.66±0.02 _G	^a 4.72±0.03 _F	^a 4.69±0.02 _G
2	^a 5.33±0.00 _F	^b 5.07±0.01 _F	^b 4.88±0.09 _F	^b 4.86±0.06 _{FG}
3	^a 5.72±0.21 _E	^b 5.37±0.01 _E	^b 5.25±0.00 _E	^c 5.00±0.03 _{EF}
4	^a 6.97±0.04 _D	^b 5.62±0.12 _D	^c 5.10±0.14 _E	^c 5.20±0.04 _E
5	^a 7.46±0.01 _C	^b 6.26±0.06 _C	^c 5.78±0.07 _D	^d 5.68±0.00 _D
6	^a 8.23±0.07 _{AB}	^b 6.63±0.02 _B	^c 6.23±0.04 _C	^d 6.12±0.01 _C
8	^a 8.13±0.09 _B	^b 7.80±0.02 _B	^c 7.52±0.03 _B	^d 7.19±0.06 _B
10	^a 8.38±0.11 _A	^{ab} 8.24±0.11 _A	^c 8.06±0.01 _A	^c 7.99±0.01 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-d} Her bir satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-G} Her bir sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.1 Soğukta depolama sırasında köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TAMB yüküne, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve bunların birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ($P < 0.01$) (Çizelge 4.5). Uygulama ve depolama süresi interaksiyonuna ait Duncan sonuçları ise çizelge 4.4'te görülmektedir. TAMB sayısına uygulamanın etkisi 2. günden itibaren görülmüş, en hızlı artış gösteren K ile diğer uygulamalar arasında her analiz döneminde önemli fark oluşmuştur ($P < 0.01$). MYE konsantrasyonunun etkisi 3., 5., 6. ve 8. günlerde önemli ($P < 0.01$) olmuş ve %1 MYE içeren örneklerin TAMB sayıları diğer örneklerden daha düşük olmuştur. Bu sonuçlar TAMB çoğalmasını MYE ve BHT ilavesinin baskıladığını göstermektedir. Depolamanın 6. gününde K örnekleri (8.23) bozulma sınırını aşarken, BHT (6.63), MYE1 (6.23) ve MYE2 (6.12) örnekleri hala kabul sınırları arasındadır. Kıyma ürünlerde mikrobiyolojik bozulma sınırı 10^6 - 10^7 KOB/g'dır (Anonymous 1986). Bu sonuca göre K örnekler 5. günde, MYE'li örnekler ise 8. günde bu sınırları aşmıştır. Depolamanın 6. gününde K örnekleri bozulma sınırını aşarken, %0.5 MYE ilavesi TAMB sayısında 2, %1.0 MYE ilavesi ise 2.1 log düzeyinde azalma sağlamıştır. MYE'li örnekler 8. günde mikrobiyolojik olarak bozulmasına karşın depolama süresinin 10. güne kadar devam ettirilme nedeni, MYE'li örneklerde duyuşsal olarak kokuşma kokusunun algılanamamasıdır.

Çizelge 4.5 Soğukta depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	8.7828	481.13**
Depolama Süresi (S)	8	99.8176	2050.55**
UxS	24	8.3797	57.38**
Hata	36	0.2191	
Toplam	71		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

Köftelerin TAMB sayısına antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 1’de verilmiştir. TAMB sayısı en yüksek K örneklerde, en düşük MYE2 örneklerde saptanmış olup, en yüksekten en düşüğe sıralama K, BHT, MYE1 ve MYE2 şeklinde olmuştur. TAMB sayısına sürenin etkisi ise 1. günden itibaren gözlenmiş ve süre uzadıkça analiz periyotları arasındaki fark birbirlerinden önemli düzeyde yüksek bulunmuş (P<0.01), en yüksek TAMB sayısı depolamanın 10 gününde belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Fenolik madde içeriği yüksek bitkisel ekstraktın soğukta depolanan et ürünlerinde mikrobiyel çoğalmayı yavaşlattığı diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Sagdic vd. (2011), farklı üzüm çeşitlerinden elde ettikleri posa ekstraktları %1, 2, 5 ve 10 düzeylerinde ilave ettikleri ve 4±1°C’de depoladıkları sığır kıymalarda (meat patty) konsantrasyon arttıkça TAMB yüklerinin önemli düzeyde baskılandığını bildirmişlerdir.

Ntzimani vd. (2010), vakum ambalajlanmış ve pişmiş tavuk etlerinde EDTA, lizozim, biberiye yağı ve kekik yağı kombinasyonlarının 4°C’de depolama süresince antimikrobiyel etkisini incelemişler ve depolamanın 10. gününde TAMB sayısında kontrol gruplarına kıyasla 1-3 log birimlik düşüş sağlandığını bildirmişlerdir. Yine fenolik madde içeriği yüksek nar kabuğu ekstraktı ilave edilen pişmiş tavuk ürünlerinin soğukta depolanmaları sırasında, kontrol örnekler 7 günde bozulurken, ekstrakt içeren örnekler 20 gün depolanabilmiştir (Kanatt 2010). Diğer yandan Garrido vd. (2011), Kırmızı üzüm posası ilave edilen ve 4°C’de 6 gün depolanan domuz burgerlerde toplam TAMB yükünün depolama ile arttığını ve üzüm posası ilavesinin bu artışı

etkilemediğini ve bunun muhtemelen düşük dozda ilaveden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

4.2.3 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayısı sonuçları $\log_{10}$ KOB/g olarak çizelge 4.6 ve şekil 4.2’de görülmektedir.

Çizelge 4.6 Soğukta depolanan köftelerin TAPB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

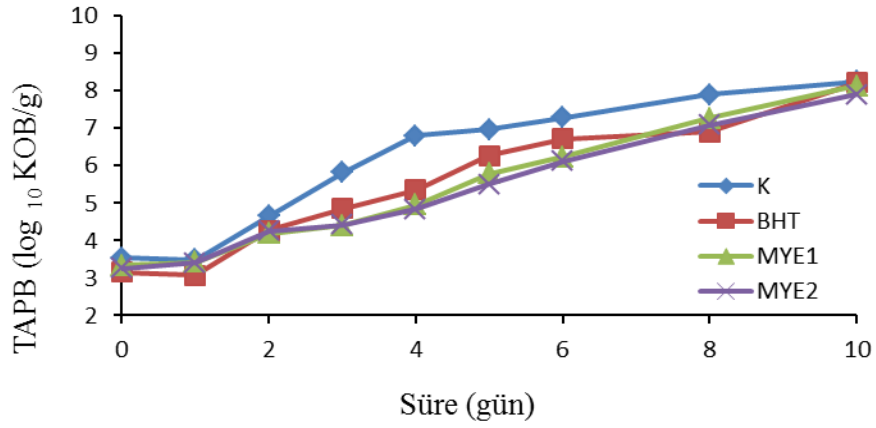
Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 3.54±0.08 _G	^b 3.15±0.10 _G	^{ab} 3.34±0.12 _G	^b 3.25±0.19 _G
1	^a 3.49±0.04 _G	^b 3.08±0.10 _G	^a 3.42±0.08 _G	^a 3.40±0.01 _G
2	^a 4.66±0.19 _F	^b 4.27±0.08 _F	^b 4.19±0.11 _F	^b 4.26±0.00 _F
3	^a 5.82±0.10 _E	^b 4.85±0.06 _F	^c 4.40±0.02 _F	^c 4.42±0.10 _F
4	^a 6.80±0.02 _D	^b 5.35±0.13 _E	^c 4.95±0.03 _E	^c 4.84±0.05 _E
5	^a 6.96±0.01 _D	^b 6.27±0.03 _D	^c 5.78±0.03 _D	^d 5.51±0.20 _D
6	^a 7.29±0.12 _C	^b 6.72±0.01 _C	^c 6.23±0.02 _C	^c 6.12±0.09 _C
8	^a 7.90±0.02 _B	^c 7.50±0.06 _B	^b 7.27±0.27 _B	^{bc} 7.08±0.00 _B
10	^a 8.25±0.06 _A	^a 8.21±0.09 _A	^{ab} 8.14±0.02 _A	^b 7.90±0.09 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-d} Her bir satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P>0.01).

^{A-G} Her bir sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P>0.01).

Köfteler hazırlandıktan hemen sonra belirlenen TAPB sayıları, 3.15-3.54 arasında değişmiştir. Depolamanın 1. gününden itibaren TAPB sayıları tüm örneklerde giderek artmış ve 10. günde K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde sırasıyla 8.25, 8.21, 8.14 ve 7.90 bulunmuştur. TAPB sayısı en hızlı K örneklerde artmıştır.



Şekil 4.2 Soğukta depolama sırasında köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TAPB sayısına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve uygulama x depolama süresi etkileşiminin etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ($P<0.01$) (Çizelge 4.7).

Depolama süresinin başından sonuna kadar TAPB yükünün, K örneklerinde diğer örneklerden yüksek olduğu görülmüştür. İkinci günde, bitkisel ekstrakt ve BHT içermeyen K grubu örneklerinin TAPB yükünün, diğer örneklerden önemli düzeyde yüksek olduğu ($P<0.01$), diğer örnekler arasında ise önemli bir fark ($P>0.01$) bulunmadığı görülmüştür.

Köftelerin TAPB sayısındaki artışa antioksidan kaynaklarının etkisi şekil 4.2’de de görülmektedir. Antioksidan kaynaklarının etkisi 0. günden itibaren gözlenmiştir. Depolamanın 2. gününde K ile antioksidanlı örnekler arasında, 3. ve 4. günlerde MYE’li örneklerle K ve BHT’li örnekler arasında önemli farklar gözlenmiş ($P<0.01$) ve MYE içeren örnekler en düşük TAPB sayıları içermişlerdir. Depolamanın 6. gününde MYE konsantrasyonları arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), bu örneklerle K ve BHT’li örnekler arasındaki fark ise önemli düzeyde ($P<0.01$) düşük olmuştur. Depolamanın 8. gününde K en yüksek TAPB sayısına sahip olurken, diğer örneklerin TAPB sayıları arasındaki fark ortadan kalkmış, 10 günde ise MYE2 ile K arasındaki fark önemli ($P<0.01$), diğer örnekler arasındaki fark ise önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur. Sürenin etkisi ise MYE1 ve MYE2 örneklerinde benzer şekilde olmuş, 0. ve 1. gün ile 2. ve 3.

günler arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), 4., 5., 6., 8. ve 10. günler arasındaki fark ise önemli olmuştur ($P<0.01$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7 Soğukta depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	8.4578	294.27**
Depolama Süresi (S)	8	182.3662	2379.43**
UxS	24	5.1284	22.30**
Hata	36	0.3449	
Toplam	71		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli

Köftenin TAPB sayısına antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 2’de verilmiştir. TAPB sayısı en yüksek K örneklerde, en düşük MYE2 örneklerde saptanmış olup, en yüksekten en düşüğe sıralama K, BHT, MYE1 ve MYE2 şeklinde olmuştur. TAPB sayısına sürenin etkisi ise 1. günden itibaren gözlenmiş ve süre uzadıkça analiz periyotları arasındaki fark birbirlerinden önemli düzeyde yüksek bulunmuş ($P<0.01$), en yüksek TAPB sayısı depolamanın 10. gününde belirlenmiştir. Toplam mikrobiyel sayının hala kabul sınırlarında olduğu 6. gün sonuçları dikkate alındığında başlangıç sayılarında K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerde sırasıyla 4.05, 3.57, 2.89 ve 2.87 log birimlik artışlar olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar MYE ilavesinin TAPB çoğalmasını etkili bir şekilde geciktirdiğini göstermektedir.

Köfte örnekler TAPB sayıları yönünden değerlendirildiğinde, K örneklerin tüketilebilirliklerini 6. günde yitirdikleri görülmektedir ($>10^7$ adet/g). Buna karşın aynı gün BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerin TAPB sayılarının K örneğinden sırasıyla 0.57, 1.06 ve 1.17 log birim daha düşük olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla MYE ilavesi köfte örneklerin raf ömrünü artırıcı etki göstermiştir.

Carno vd. (2008), taze bifteklere biberiye ekstraktı ve kekik ekstraktı ilave edilmiş yenilebilir filmleri kaplamışlar ve yüzeye sadece biberiye ekstraktı uygulamışlardır.

1°C’ de 8 gün süren depolama sonunda kontrol gruplarında TAPB sayısı 7-8 log kob/g iken kekik ve biberiye ekstraktı katkılı yenilebilir film kullanılan gruplarda ise bu değer 5-6 log kob/g olarak kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Özdemir vd. (2014), %0.1, %0.2 ve %0.3 NKE ilave ederek 4°C’de depoladıkları köftelerde, NKE ilavesinin TAPB sayılarında çok az bir azalmaya neden olduğunu ve bunun ilave edilen konsantrasyonun yetersiz olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. K dahil tüm örneklerde TAPB sayılarının depolamanın 6. gününde log 7’nin üzerinde olması, kıyma etin başlangıç mikrobiyel yükü ve ilave edilen ekstrakt ve ekstrakt konsantrasyonuyla ilişkili olabilir.

4.2.4 Toplam Laktik asit bakteri sayısı

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen laktik asit bakteri (LAB) sayısı sonuçları log₁₀ KOB/g olarak çizelge 4.8 ve şekil 4.3’de görülmektedir. Köfteler hazırlandıktan hemen sonra gruplarda belirlenen LAB sayıları, 3.80- 3.84 arasında değişmiştir. Bu sayının depolama süresi sonunda, 10. günde, 5.41- 7.03 log₁₀ KOB/g arasında değiştiği görülmüştür. LAB sayısı ortalamaları karşılaştırıldığında ise (Ek 2, Çizelge 3), gruplarda 0. günde bu sayı 3.82 log₁₀ KOB/g iken depolamanın 10. gününde gruplarda LAB ortalaması 5.99 log₁₀ KOB/g’ a ulaşmıştır. Depolamanın 4. gününde sonra en fazla artış K örneklerde gözlenmiş ve 10. günde 7.03 ile en yüksek sayıya ulaşmıştır. Depolamanın 6. gününden itibaren ise tüm örneklerin LAB sayıları artmıştır. LAB sayısı 10. günde MYE1 (5.59) ve MYE2 (5.41) örneklerinde K ve BHT’ li örneklerden daha düşük olmuştur.

Yapılan varyans analizi sonucu, LAB yüküne, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve bunların birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir (P<0.01) (Çizelge 4.9). LAB sayısı en düşük MYE’li örneklerde belirlenmiştir. LAB sayısına uygulamanın etkisi MYE konsantrasyonları arasında önemli olmazken (P>0.01), MYE’li köftelerle BHT ve K örnekleri arasında önemli düzeyde (P<0.01) fark oluşmuştur (Ek 2, Çizelge 3).

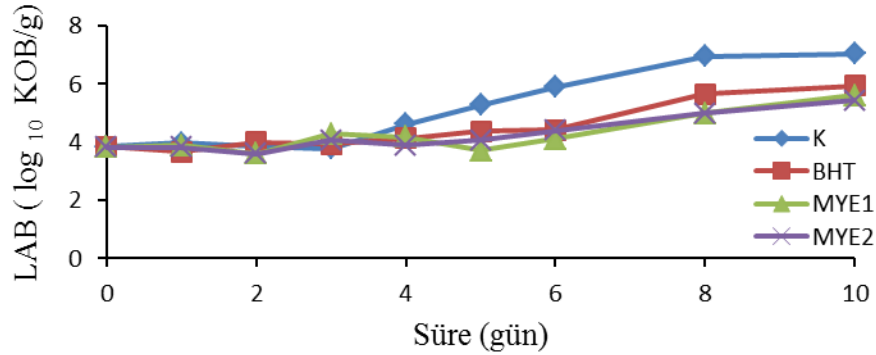
Çizelge 4.8 Soğukta depolanan köftelerin LAB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 3.83±0.02 _E	^a 3.84±0.02 _{DE}	^a 3.81±0.05 _{DEF}	^a 3.80±0.30 _{DE}
1	^a 3.97±0.00 _E	^a 3.65±0.05 _E	^a 3.87±0.06 _{DEF}	^a 3.81±0.00 _{DE}
2	^{ab} 3.86±0.04 _E	^a 3.99±0.08 _{CDE}	^b 3.59±0.01 _F	^b 3.59±0.02 _E
3	^b 3.77±0.10 _E	^{ab} 3.92±0.02 _{DE}	^a 4.27±0.03 _C	^{ab} 4.04±0.05 _{CD}
4	^a 4.60±0.02 _D	^b 4.12±0.12 _{BCD}	^b 4.15±0.01 _{CD}	^b 3.87±0.08 _{DE}
5	^a 5.27±0.09 _C	^b 4.35±0.12 _{BC}	^c 3.69±0.12 _{EF}	^c 4.06±0.11 _{CD}
6	^a 5.87±0.01 _B	^b 4.40±0.05 _B	^b 4.29±0.11 _{CDE}	^b 4.38±0.08 _C
8	^a 6.95±0.02 _A	^b 5.63±0.13 _A	^c 4.98±0.04 _B	^c 4.98±0.01 _B
10	^a 7.03±0.61 _A	^b 5.92±0.34 _A	^c 5.59±0.14 _A	^c 5.41±0.04 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}Her bir satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

^{A-E}Her bir sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.3 Soğukta depolama sırasında köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişimler

Sürenin etkisine bakıldığında, LAB yükü, depolamanın 5. gününden sonra giderek artmış ve süreler arasında önemli farklar ($P<0.01$) oluşmuştur (Ek 2, Çizelge 3). LAB sayısına uygulamanın ve sürenin birlikte etkisini gösteren Duncan sonuçları, 4. günden sonra K ile BHT' li ve MYE' li köftelerin LAB sonuçları arasındaki farkın önemli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.8). Depolama boyunca K örnekleri BHT ve MYE içeren köftelerden daha yüksek LAB sayısına sahip olmuştur. BHT ve %0.5 ile %1.0 MYE içeren örneklerin LAB sayıları arasındaki fark analiz periyotlarının çoğunda önemli olmamış ($P<0.01$), depolamanın 5., 8. ve 10. günlerinde önemli düzeyde olmuştur ($P<0.01$).

Çizelge 4.9 Soğukta depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	2.5529	139.62**
Depolama Süresi (S)	8	5.3774	294.09**
UxS	24	0.3505	19.17**
Hata	36	0.0183	
Toplam	71		

**P<0.01 düzeyinde önemli

Antimikrobiyel aktivite sonuçları, LAB' ne BHT (%0.01) ve MYE konsantrasyonlarının (%0.062-1.0) etkisinin önemli olmadığını göstermesine karşın, köfteye ilave edildiğinde etkili olduğunu görülmüştür. Bu durum in vivo koşullarda antimikrobiyel etkinin diğer faktörlerle de ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Nitekim, farklı düzeylerde (%0.1, 0.2 ve 0.3) nar kabuğu ekstraktı (NKE) ve %0.01 BHT ilave edilen ve 4°C'de 6 gün depolanan köftelerin LAB sayısına BHT ve NKE ilavesinin önemli bir etkisinin olmadığı (P>0.01) bildirilmiştir (Özdemir vd. 2014). Bu durum ilave edilen ekstrakt konsantrasyonuyla, kıyma etin başlangıç mikroorganizma yükü ile ilişkili olabilir. Özdemir'in çalışmasında kullanılan hammaddenin başlangıç mikroorganizma yükünün fazla olması, ilave edilen antimikrobiyel maddenin etkisini baskılamış olabileceği düşünülmektedir.

4.2.5 Toplam Enterobacteriaceae sayısı

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen Enterobacteriaceae sonuçları log₁₀KOB/g olarak çizelge 4.10 ve şekil 4.4'de görülmektedir. Köfteler hazırlandıktan hemen sonra belirlenen Enterobacteriaceae sayıları, en yüksek K örneklerinde, en düşük MYE2 örneklerinde olmak üzere 1.71-2.45 arasında değişmiştir. Depolama sırasında Enterobacteriaceae sayısındaki artış en fazla K örneklerde olmuş ve özellikle 3. günden sonra hızlı artış gözlenmiştir. Şekil 4.4 incelendiğinde, antioksidan kaynaklarının 3. günden itibaren örneklerin Enterobacteriaceae yüklerine etki etmeye başladığı ve K örneklerine kıyasla bu örneklerin yüklerinde depolama boyunca nispeten daha az artış olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.10 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae (log₁₀KOB/g) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

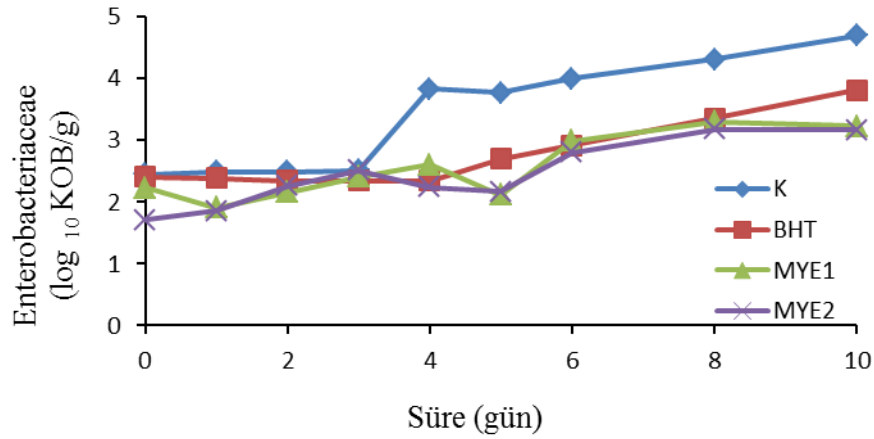
	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 2.45±0.06 _D	^a 2.41±0.11 _D	^a 2.23±0.02 _{CD}	^b 1.71±0.44 _E
1	^a 2.49±0.02 _D	^a 2.39±0.11 _D	^b 1.91±0.12 _D	^b 1.86±0.17 _{DE}
2	^a 2.49±0.08 _D	^a 2.34±0.03 _D	^a 2.16±0.04 _{CD}	^a 2.26±0.10 _C
3	^a 2.51±0.16 _D	^a 2.35±0.14 _D	^a 2.41±0.05 _{BC}	^a 2.51±0.09 _{BC}
4	^a 3.83±0.13 _C	^b 2.34±0.27 _D	^b 2.60±0.03 _B	^b 2.24±0.14 _C
5	^a 3.77±0.15 _C	^b 2.70±0.06 _{CD}	^c 2.12±0.13 _{CD}	^c 2.17±0.01 _{CD}
6	^a 4.00±0.02 _{BC}	^b 2.92±0.02 _C	^b 2.99±0.09 _A	^b 2.80±0.14 _B
8	^a 4.31±0.10 _B	^b 3.35±0.07 _B	^b 3.30±0.00 _A	^b 3.18±0.00 _A
10	^a 4.70±0.21 _A	^b 3.81±0.04 _A	^c 3.23±0.12 _A	^c 3.17±0.06 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}Her bir satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-D}Her bir sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Yapılan varyans analizi sonucu, Enterobacteriaceae yüküne köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve depolama süresinin ve bunların birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir (P<0.01) (Çizelge 4.11). Uygulamaxsüre etkileşimine bakıldığında, %1 MYE ilavesi 0. günde Enterobacteriaceae çoğalmasını baskılamış ve MYE2 ortalaması ile diğer uygulamalar arasındaki fark önemli (P<0.01) olmuştur. Depolamanın 10. gününde ise en düşük Enterobacteriaceae yüküne sahip MYE1 ve MYE2 örnekleri arasındaki fark önemsiz (P>0.01), bu örneklerle K ve BHT sayıları arasındaki fark önemli (P<0.01) bulunmuştur (Çizelge 4.10). Sadece uygulamanın etkisine bakıldığında, Enterobacteriaceae sayısını BHT ve MYE ilavesi önemli düzeyde baskılamış, yüksek konsantrasyonda MYE ilavesinde daha düşük sayı ortalaması saptanmıştır (Ek 2, Çizelge 4). Sadece sürenin etkisi incelendiğinde, ilk 3 gün süreler arası önemli bir fark oluşmadığı (P>0.01), 5. günden sonra süreler arası farklılığın önemli olduğu (P<0.01) gözlenmiş yani Enterobacteriaceae sayıları önemli düzeyde artmıştır (Ek 2, Çizelge 4).



Şekil 4.4 Soğukta depolama sırasında köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimler

Çizelge 4.11 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	3.3077	204.64**
Depolama Süresi (S)	8	2.6792	165.76**
UxS	24	0.1998	12.36**
Hata	36	0.0162	
Toplam	71		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

Farklı çeşit üzümlerden elde edilen ve %1, 2, 5 ve 10 düzeylerinde kıyma ete (meat patty) ilave edilen posa ekstraktlarının Enterobacteriaceae sayısını konsantrasyon arttıkça azalttığı, depolama süresinin ise artırdığı bildirilmiştir (Sagdic vd. 2011). Kırmızı üzüm posası ilave edilen ve 4°C’de 6 gün depolanan domuz burgerlerde toplam koliform sayısını ilave edilen üzüm posasının etkilemediği belirtilmiştir (Garrido vd. 2011).

4.2.6 Renk değerleri (L*, a*, b*)

Köftelerin L* (parlaklık), a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) değerlerindeki değişim depolama boyunca incelenmiş ve sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir.

Köfte örneklerin L* değerlerine ait sonuçlar çizelge 4.12’de ve şekil 4.5’te görülmektedir. Parlaklık derecesi olarak tanımlanan L* değerleri depolama başlangıcında en düşük MYE2’de (41.65) ve en yüksek BHT’ de (47.76) belirlenmiştir. Mavi yemiş liyofiliz ekstraktı mürdüm rengindedir ve ilave edildiği düzeylerde (%0.5 ve %1.0) L* değerini etkilemiştir.

Çizelge 4.12 Soğukta depolanan köftelerin L* değeri ve uygulamanın etkisini gösteren Duncan sonuçları

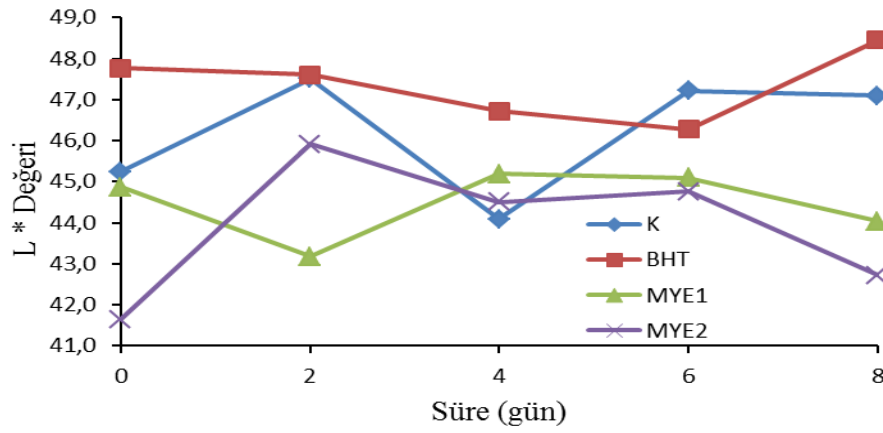
Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ort.
0	45.24±1.56	47.76±2.29	44.86±0.36	41.65±0.77	44.88±2.57
2	47.51±2.13	47.60±0.62	43.17±0.57	45.92±1.16	46.05±2.15
4	44.09±0.75	46.72±2.57	45.19±2.88	44.51±0.29	45.12±1.83
6	47.22±2.67	46.27±0.31	45.09±0.84	44.76±0.67	45.84±1.51
8	47.10±0.29	48.45±0.26	44.04±2.51	42.72±0.99	45.58±2.66
Ort.	46.23±1.90 _A	47.36±1.43 _A	44.47±1.55 _B	43.91±1.72 _B	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{A-B}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

Köftelerin başlangıç ve 8. gün L* değerlerindeki değişim incelendiğinde, K örneklerinde 45.24’ten 47.10’a, BHT örneklerinde 47.76’dan 48.45’e ve MYE2 örneklerinde 41.65’ten 42.72’ye artış olduğu, MYE1 örneklerinde ise 44.86’dan 44.04’e, azalma olduğu görülmektedir (Çizelge 4.12).

Yapılan varyans analizi sonucu, L* değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) etkisinin önemli olduğunu (P<0.01), sürenin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisinin ise önemli olmadığını göstermiştir (Çizelge 4.13). Farklı konsantrasyonlarda MYE ilave edilen örnekler K ve BHT’li örneklerden önemli düzeyde (P<0.01) daha düşük L* değerlerine sahip olmuşlardır. Depolama sırasında L* değeri her bir örnekte azalma ve artış göstermiş, ancak L* değerine sürenin etkisi önemli bulunmamıştır (P>0.01) (Şekil 4.5, Çizelge 4.13).



Şekil 4.5 Soğukta depolama sırasında köftelerin L* değerinde meydana gelen değişimler

Maviyemiş liyofilize ekstraktı sahip olduğu mürdüm rengi nedeniyle köftelerin L* değerlerinde azalmaya sebep olmuştur.

Çizelge 4.13 Soğukta depolanan köftelerin L* değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	25.264	10.90**
Depolama Süresi (S)	4	1.885	0.81
UxS	12	3.784	1.63
Hata	20	2.318	
Toplam	39		

**P<0.01 düzeyinde önemli

Bazı araştırmacılar, L* değerinin depolama ile arttığını, bu artışın pigment oksidasyonu ile oluşan metmiyogloblin miktarının artması ile ilişkili olduğunu bildirmektedirler (Fernández-López vd. 2005). Biberiye yağı, limon ve portakal lifi ilave edilerek üretilen pişmiş köftelerin 8°C'de 12 gün depolanması sırasında L* değerinde en fazla artışın K örneğinde, en az artışın ise doğal ekstrakt ilave edilen örneklerde belirlenmesini, bu ekstraktların metmiyogloblin oluşumunu geciktirmesiyle ilişkilendirilmiştir (Fernández-López vd. 2005). Fakat çalışmamızda sürenin etkisi önemli bulunmamıştır, buna karşın MYE ilaveli örneklerde belirlenen düşük L* değerleri bu ekstraktların yüksek antioksidan etkileri ile açıklanabilir.

Farklı oranlarda yağ (%10, %15, %20) içeren hamburger köftesi hamuruna, farklı oranlarda (%0, %2, %4, %6) havuç lifi ilavesinin köftelerin renk değerlerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, havuç lifi kullanımının L* değerlerini önemli düzeyde etkilediği, örneklerde havuç lifi kullanım miktarındaki artışa bağlı olarak L* değerlerinde de önemli düzeyde ($P<0.05$) artış görüldüğü bildirilmiştir (Güven 2010).

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen kırmızılık (a^*) değerleri çizelge 4.14'te ve şekil 4.6'da görülmektedir. Kırmızılık derecesi olarak tanımlanan a^* değerleri, depolama başlangıcında en düşük MYE2'de (13.08) ve en yüksek K'de (19.36) belirlenmiştir. Depolama süresi uzadıkça a^* değeri tüm örneklerde azalmış ve 8. günde K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde sırasıyla 7.26, 9.61, 6.32 ve 6.40 olmuştur. Köftelerin başlangıç ve 8. gün a^* değerlerindeki değişim incelendiğinde, K örneklerinde 19.36'dan 7.26'ya, BHT örneklerinde 15.78'den 9.61'e ve MYE1 örneklerinde 13.08'den 6.32'ye, MYE2 örneklerinde ise 13.08'den 6.40'a azalma olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.14). Depolama süresinin uzamasına, mikrobiyolojik ve oksidatif bozulmalara bağlı olarak tüm örneklerde a^* değeri düşmüştür.

Yapılan varyans analizi sonucu, a^* değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve sürenin etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.15). Depolama süresi uzadıkça a^* değeri azalmış, bu azalma 0. 2. ve 4. günlerde önemli bulunmuş ($P<0.01$), 4. günden sonra süreler arasındaki değişim

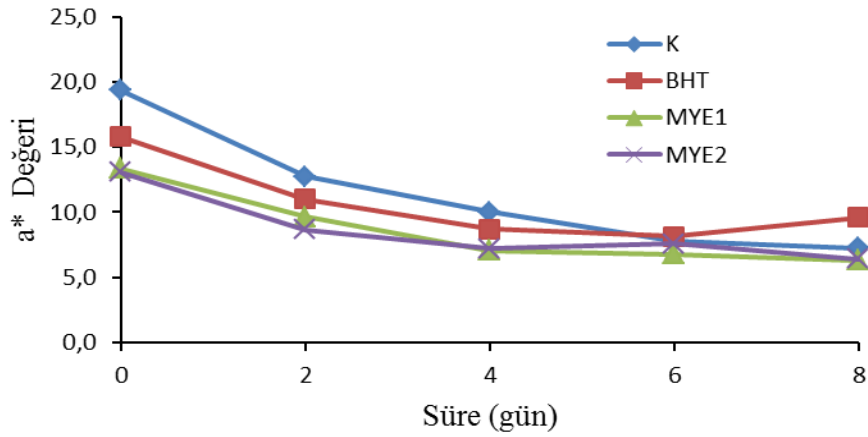
Çizelge 4.14 Soğukta depolanan köftelerin a^* değeri ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ort.
0	19.36±2.98	15.78±0.81	13.34±0.74	13.08±1.01	15.39±2.98 _a
2	12.74±2.40	11.00±0.33	9.64±0.68	8.67±0.45	10.51±1.90 _b
4	10.03±4.25	8.72±0.78	7.04±0.90	7.21±1.30	8.25±2.17 _c
6	7.78±1.00	8.12±1.11	6.77±0.14	7.60±0.43	7.57±0.80 _c
8	7.26±1.83	9.61±1.40	6.32±0.35	6.40±0.71	7.40±1.69 _c
Ort.	11.43±5.07 _A	10.65±2.98 _A	8.62±2.81 _B	8.59±2.57 _B	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{A-B}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$)

^{a-c}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$)



Şekil 4.6 Soğukta depolama sırasında köftenin a* değerinde meydana gelen değişimler

Çizelge 4.15 Soğukta depolanan köftelerin a* değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	20.777	8.81**
Depolama Süresi (S)	4	89.824	38.11**
UxS	12	2.938	1.25
Hata	20	2.357	
Toplam	39		

**P<0.01 düzeyinde önemli

önemli bulunmamıştır ($P>0.01$) (Çizelge 4.14). a* değerinde en fazla düşüş, sentetik veya bitkisel madde içermeyen K örneklerinde belirlenirken (%62.5), en az düşüş ise BHT içeren örneklerde görülmüştür. %1 ekstrakt içeren MYE2 örneklerinde ise a* değerindeki düşmenin, %0.5 ekstrakt içeren MYE1 örneklerine göre daha az olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda, depolama süresi boyunca laktik asit oluşumunun nitrozomiyoglobinin kısmi ya da tamamen denatüre olmasına sebep olduğu bunun da, a* değerinde düşmeye neden olduğu belirtilmiştir (Perez-Alvarez vd.1999). Lorenzo vd. (2013), İspanyol geleneksel sosisi olan “chorizo” ’ ya doğal (Üzüm çekirdeği ve kestane ekstraktı) ve sentetik (BHT) antioksidanları eklemenin a* değerini önemli düzeyde

($P<0.05$) etkilediğini, bu örneklerin kontrol örneklerinden daha düşük a^* değerine sahip olduğunu bildirilmişlerdir. Doğal antioksidan maddelerin eklenmesinin sosislere daha iyi bir renk sağladığı belirtilmiştir.

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen sarılık (b^*) değerleri çizelge 4.16'da ve şekil 4.7'de görülmektedir. Sarılık derecesi olarak tanımlanan b^* değerleri, depolama başlangıcında en düşük MYE2'de (11.90) ve en yüksek K'de (16.37) belirlenmiştir. Depolama sırasında b^* değerinde düzensiz bir değişim gözlenmiştir. Depolamanın 2. gününden itibaren K, BHT ve MYE2 örneklerinin b^* değerinde azalma, MYE1 örneğinde 4. güne kadar artma, 6. günde azalma ve 8. günde yine artma gözlenmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucu, b^* değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve sürenin etkisinin önemli olduğunu ($P<0.05$), göstermiştir (Çizelge 4.17). Depolama süresi uzadıkça b^* değeri değişmiş, fakat başlangıç ve 8. gün b^* değerleri arasında önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.16). Uygulamanın etkisi yüksek b^* değerlerine sahip K ve BHT içeren örneklerle MYE içeren örnekler arasında önemli düzeyde olmuştur ($P<0.01$). MYE içeren örneklerin b^* değerleri ortalaması arasındaki fark ise önemli bulunmamıştır ($P>0.01$).

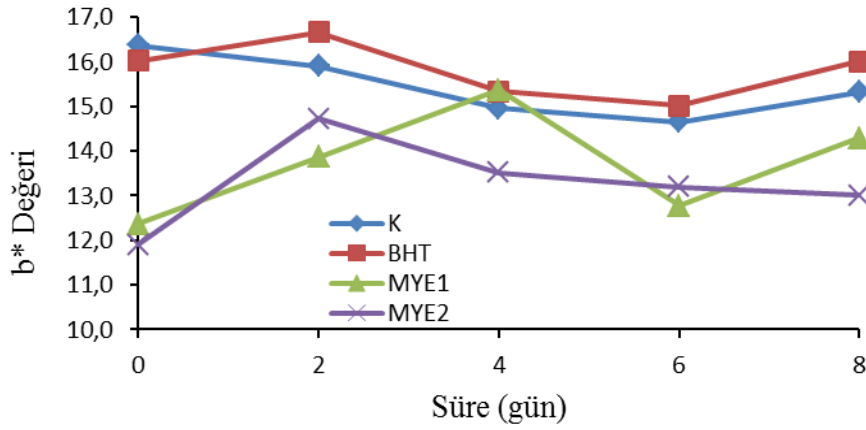
Çizelge 4.16 Soğukta depolanan köftelerin b^* değeri ve uygulamanın ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ort.
0	16.37±1.87	16.02±0.05	12.36±0.18	11.90±1.03	14.16±2.33 _b
2	15.9±0.80	16.66±1.22	13.86±1.04	14.72±0.32	15.28±1.34 _a
4	14.96±1.07	15.34±1.09	15.37±1.20	13.52±0.75	14.80±1.13 _{ab}
6	14.65±0.66	15.02±0.68	12.78±0.08	13.20±0.09	13.91±1.07 _b
8	15.32±0.26	16.01±0.81	14.29±0.82	13.01±1.12	14.66±1.35 _{ab}
Ort.	15.44±1.04 _A	15.81±0.89 _A	13.73±1.28 _B	13.27±1.12 _B	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{A-B}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

^{a-b}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.7 Soğukta depolama sırasında köftelerin b* değerinde meydana gelen değişimler

Çizelge 4.17 Soğukta depolanan köftelerin b* değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	15.6026	19.74**
Depolama Süresi (S)	4	2.3311	2.95*
UxS	12	1.4725	1.86
Hata	20	0.7903	
Toplam	39		

**P<0.01;*P<0.05 düzeyinde önemli.

Araştırmacılar, kırmızılık değerindeki azalmayı ve sarılık değerindeki yüksekliği, lipid oksidasyonundaki artıştan ve oksidasyonla birlikte parlak renkte olan heme proteinlerinin oksidasyon rengi olan kahverenkli met-heme proteinlere dönüşmesinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir (Sanchez-Alonso vd. 2008). MYE içeren örneklerin 0. günden itibaren düşük b* değerlerine sebep olduğu görülmektedir.

Depolama sonunda, oksidasyonun en fazla olduğu K örneklerinin a* ve b* değerlerinde azalma, L* değerinde artış gözlenmiştir. Bilindiği gibi pigment oksidasyonu ile oluşan metmiyoglobinin, a* ve b* değerinde azalmaya ve L* değerinde artışa neden olmaktadır. Depolama boyunca daha az oksidasyonun gözlemlendiği BHT ve MYE içeren örneklerde L*, a* ve b* değerlerindeki değişim daha az olmuştur.

4.2.7 Peroksit değeri

BHT, MYE1, MYE2 içeren ve hiçbir katkı içermeyen K köfte örneklerinde soğukta depolama sırasında peroksit değeri (PD) meydana gelen değişimler meqO_2/kg yağ olarak çizelge 4.18’de ve şekil 4.9’da verilmiştir. Depolama başlangıcında elde edilen PD sonuçları K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 1.09, 0.45, 0.50 ve 0.43 olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda (8. gün) K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde elde edilen PD sonuçları ise sırasıyla 0.32, 0.48, 0.45 ve 0.59 olmuştur. Soğukta depolanan köftelerde peroksit oluşumunu antioksidan kaynaklarının azalttığı görülmektedir. K örneklerinin PD, depolamanın 2. gününden itibaren azalma göstermiştir. Bu durum oksidasyonun kontrol örneklerinde hızlı gerçekleştiği ve oluşan peroksitlerin parçalandığını göstermektedir. Depolama sırasında BHT, MYE1 ve MYE2 içeren örneklerin PD sonuçları ise 6. güne kadar artmış, 6. günden sonra ise azalma göstermiştir. Bu azalmanın uzayan depolama süresine bağlı olarak sayıları artan mikroorganizmaların oluşan peroksitleri kullanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

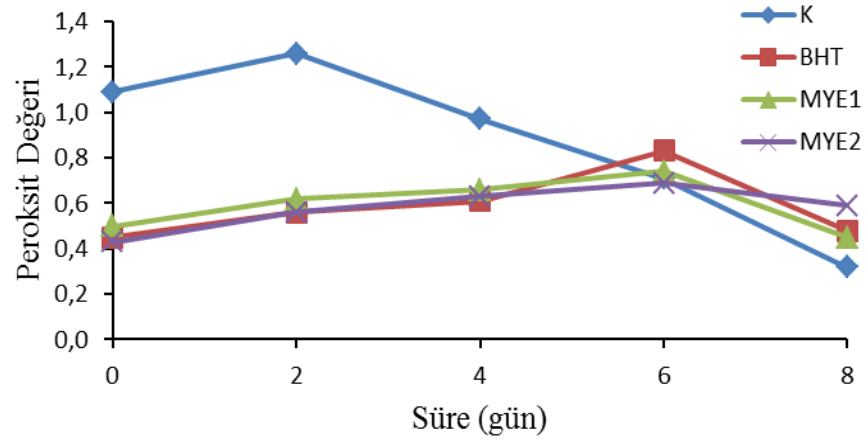
Çizelge 4.18 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değeri (meqO_2/kg yağ) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 1.09±0.13 _B	^b 0.45±0.04 _C	^b 0.50±0.03 _{BC}	^b 0.43±0.04 _B
2	^a 1.26±0.08 _A	^b 0.56±0.05 _{BC}	^b 0.62±0.08 _{AB}	^b 0.56±0.03 _{AB}
4	^a 0.97±0.07 _B	^b 0.61±0.05 _B	^b 0.66±0.04 _A	^b 0.63±0.02 _A
6	^a 0.71±0.03 _C	^a 0.83±0.03 _A	^a 0.74±0.02 _A	^a 0.69±0.04 _A
8	^b 0.32±0.03 _D	^a 0.48±0.02 _{BC}	^{ab} 0.45±0.05 _C	^a 0.59±0.06 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-b}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

^{A-D}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.8 Soğukta depolama sırasında köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, peroksit değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisinin önemli olduğunu ($P < 0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.19). Depolamanın 0., 2. ve 4. günlerinde en yüksek PD içeren K ile antioksidanlı örnekler arasındaki fark önemli ($P < 0.01$) bulunmuştur. Depolamanın 6. gününde tüm grupların PD sonuçları arasında fark olmadığı ($P > 0.01$) gözlenmesine karşın, bu durum K örneklerinde peroksitlerin parçalanmasından ve bu nedenle PD'nin diğer örneklerinkine yakın bulunmasından kaynaklanmaktadır. Yine 8. günde antioksidanlı örneklerin hepsinde K örnekleri kadar olmasa da belirli bir düşüş gözlenmiştir (Çizelge 4.18, Şekil 4.9).

Çizelge 4.19 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.20222	72.34**
Depolama Süresi (S)	4	0.11737	41.99**
UxS	12	0.08072	28.88**
Hata	20	0.00280	
Toplam	39		

** $P < 0.01$ düzeyinde önemli.

Köftelerin PD' ne antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 5' te verilmiştir. Uygulamanın etkisi

incelendiğinde, K ile antioksidanlı örnekler arasında önemli fark olduğu ($P<0.01$), BHT ve MYE ilavesinin soğukta depolanan köftelerde peroksit oluşumunu geciktirdiği görülmektedir. MYE konsantrasyonları arasında ise önemli bir fark gözlenmemiştir ($P>0.01$).

Üzüm çekirdeği ekstraktının çiğ ve pişmiş kıymada soğuk ve donmuş depolama süresince antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktının gallik asite göre daha fazla etkili olduğu bildirilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktı (%0.01, %1)'nin antioksidan içermeyen kontrol gruplarına göre lipid hidroperoksitlerinin oluşumunu engellediği belirtilmiştir (Shah vd. 2014).

Bir başka çalışmada ise, biberiye ve zafaotu (Hyssop) ekstraktları uygulanan pişmiş domuz eti 4°C'de 8 gün depolanarak ekstraktların antioksidan etkisi araştırılmıştır. Her iki ekstraktın da pişirme ve depolamadan kaynaklanan lipid oksidasyonunu önlediği belirtilmiştir. (Fernandez- Lopez vd. 2003).

4.2.8 *p*-Anisidin değeri

Farklı düzeylerde MYE ve BHT ilave edilen ve hiçbir antioksidan kaynağı ilave edilmeden üretilerek, soğukta depolanan köftelerde belirlenen *p*-An değeri sonuçları çizelge 4.20'de ve şekil 4.10'da topluca verilmiştir. Depolama başlangıcında elde edilen *p*-An değeri sonuçları K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 19.38, 14.05, 13.53 ve 15.37 olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde elde edilen *p*-An değeri sonuçları sırasıyla 11.70, 17.65, 25.19, 23.49 olmuştur. *p*-An değeri depolama sırasında K örnekler hariç tüm gruplarda artış göstermiştir. Depolama boyunca *p*-An değeri, K örneklerinde azalmış, MYE1 ve MYE2 örneklerde ise artmıştır. BHT'li örneklerde ise 6. güne kadar artma, 8. günde ise azalma gözlenmiştir.

Çizelge 4.20 Soğukta depolanan köftelerin *p*-anisidin değeri ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

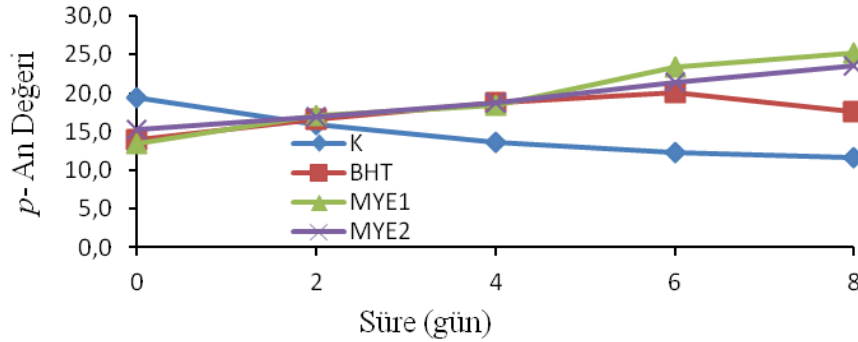
Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 19.38±1.66 _A	^b 14.05±0.35 _B	^b 13.53±0.97 _C	^b 15.37±0.06 _C
2	^a 15.94±0.91 _B	^a 16.69±0.98 _{AB}	^a 17.12±1.69 _B	^a 16.90±0.49 _C
4	^b 13.59±1.49 _{BC}	^a 18.82±0.54 _A	^a 18.41±1.51 _B	^a 18.81±0.60 _{BC}
6	^b 12.36±1.35 _C	^a 20.15±1.00 _A	^a 23.40±1.74 _A	^a 21.35±1.15 _{AB}
8	^c 11.70±1.44 _C	^b 17.65±0.30 _A	^a 25.19±1.35 _A	^a 23.49±1.62 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-C}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

p-An değeri, lipid oksidasyonunun birincil ürünlerinin (hidroperoksitler) ikincil oksidasyon ürünlerine (karboniller) dönüşmesiyle artış gösterir. Çalışmamızda, *p*-An değeri 6. güne kadar K hariç tüm örneklerde artarken, K örneklerde depolama boyunca, BHT'li örneklerde ise 6. günden sonra azalma göstermiştir. Özdemir (2013) de, %0.1, %0.2 ve %0.3 nar kabuğu ekstraktı, %0.01 BHT ilave ederek ve antioksidan kaynağı ilavesiz (K) ürettiği ve 4°C'de depoladığı köftelerde, K örneklerin *p*-An değerlerinin 6 gün depolama boyunca azaldığını bildirmiştir.



Şekil 4.9 Soğukta depolama sırasında köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, *p*-An değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun önemli olduğunu (P<0.01) göstermiştir (Çizelge 4.21). Uygulamanın etkisi, K ile diğer gruplar arasında, BHT ile MYE1 ve MYE2 arasında önemli (P<0.01),

MYE1 ve MYE2 arasında ise önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur (Ek 2, Çizelge 6). Sürenin etkisi ise; 0. ve 2. 6.ve 8. günler arasında önemsiz ($P>0.01$), 0. gün ile 4., 6. ve 8. günler arasında önemli ($P<0.01$) olmuştur (Ek 2, Çizelge 6).

Çizelge 4.21 Soğukta depolanan köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F Değeri
Uygulama (U)	3	50.834	36.76**
Depolama Süresi (S)	4	23.040	16.66**
UxS	12	24.609	17.80**
Hata	20	1.383	
Toplam	39		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli.

Uygulamanın ve sürenin birlikte etkisi ise, MYE1 örneklerinde 0. ve diğer günler arasında önemli, 2. ve 4. gün ile 6. ve 8. günler arasında önemsiz bulunmuştur. MYE2 örneklerinde ise 0., 2 ve 4. günler arasında ve 6. ve 8. günler arasında önemsiz ($P>0.01$) olmuştur. MYE1 ve MYE2 örneklerin *p*-An değerleri depolama ile sürekli bir artış göstermiştir. BHT'li örneklerde ise 6. güne kadar artış, 8. günde ise azalış olmasına karşın, bu değişim 2. günden sonra önemli düzeylerde ($P>0.01$) olmamıştır (Çizelge 4.20).

p-An değeri, lipid oksidasyonunun birincil ürünlerinin (hidroperoksitler) ikincil oksidasyon ürünlerine (karboniller) dönüşmesiyle artış gösterir. Soğukta depolama sırasında, farklı düzeylerde MYE içeren örneklerin *p*-An değerleri BHT içeren örneklere yakın bulunmuştur. Bu durum, oksidasyonu önlemek amacıyla kullanılan maviyemiş ekstraktının, BHT kadar etkili olabileceğini göstermektedir.

4.2.9 Tiyobarbitürik asit reaktif maddesi miktarı

Soğukta depolanan BHT, MYE1, MYE2 içeren ve antioksidansız K köfte örneklerinde belirlenen tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) (mg MDA/kg köfte) sonuçları

çizelge 4.22’de ve şekil 4.11’de görülmektedir. Depolama başlangıcında elde edilen TBARM değeri sonuçları K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 0.58, 0.50, 0.48 ve 0.41 olarak belirlenmiştir. Depolama sırasında tüm örneklerin TBARM miktarları giderek artmış ve 8. günde K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 1.19, 0.60, 0.71, 0.83 olmuştur. 0. günde, K örneklerinin en yüksek TBARM değerine sahip olması (0.58), antioksidan kaynaklarının 0. günden itibaren etkili olduğunu göstermektedir.

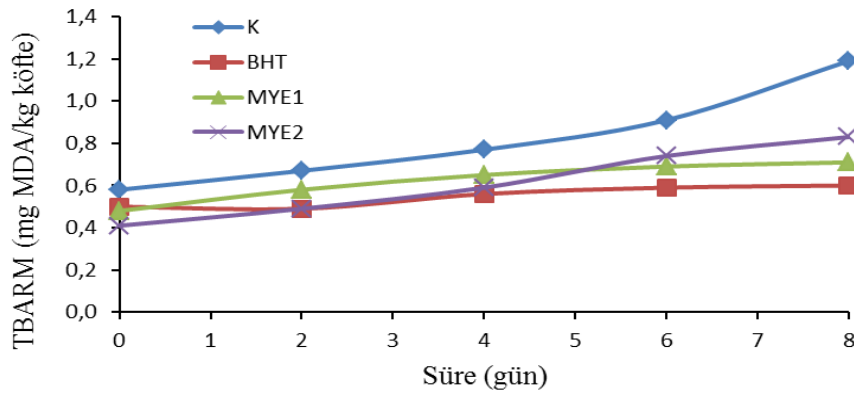
Çizelge 4.22 Soğukta depolanan köftelerin TBARM (mg MDA/kg köfte) ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 0.58±0.04 _D	^{ab} 0.50±0.03 _A	^{bc} 0.48±0.08 _D	^c 0.41±0.04 _E
2	^a 0.67±0.01 _D	^b 0.49±0.03 _A	^{ab} 0.58±0.04 _C	^b 0.49±0.03 _D
4	^a 0.77±0.05 _C	^b 0.56±0.03 _B	^b 0.65±0.01 _B	^b 0.59±0.04 _C
6	^a 0.91±0.04 _B	^c 0.59±0.04 _B	^b 0.69±0.03 _A	^b 0.74±0.04 _B
8	^a 1.19±0.04 _A	^d 0.60±0.01 _B	^c 0.71±0.05 _A	^b 0.83±0.04 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-D}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.10 Soğukta depolama sırasında köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TBARM değerine, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), sürenin ve bunların birlikte etkisinin önemli olduğunu (P<0.01) göstermiştir (Çizelge 4.23). Uygulamanın etkisi en yüksek ortalamaya sahip K

(0.82) ile diğer uygulamalar arasında önemli ($P<0.01$), MYE1 (0.62) ve MYE2 (0.61) örnekleri arasında önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur. En düşük TBARM miktarına 0.54 ile BHT'li örnekler sahip olmuş ve diğer örneklerle aralarındaki fark önemli ($P<0.01$) olmuştur (Ek 2, Çizelge 7). Sürenin etkisi, her analiz döneminde bir önceki dönemden önemli düzeylerde artış şeklinde olmuştur ($P<0.01$) (Ek 2, Çizelge7). Uygulama x süre interaksyonu incelendiğinde; K örneklerinde ilk iki günden sonra önemli ($P<0.01$), BHT'li örneklerde ilk iki günle, 4. 6. ve 8. günler arasında önemli ($P<0.01$), 0-2. gün ve 4, 6 ve 8. günler arasında önemsiz ($P>0.01$) olmuştur. MYE1 örneklerinde ilk 6. gün önemli düzeylerde artış ($P<0.01$), 6. ve 8. günler arasında önemsiz ($P>0.01$) bir artış olurken, MYE2 örneklerinde her bir analiz döneminde bir önceki dönemden önemli düzeyde artışlar ($P<0.01$) belirlenmiştir (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.23 Soğukta depolanan köftelerin TBARM miktarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Uygulama (U)	3	0.141421	133.96**
Depolama Süresi (S)	4	0.148449	140.62**
UxS	12	0.017026	16.13**
Hata	20	0.001056	
Toplam	39		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli.

Ahn vd. (2007), 9 gün boyunca 4°C'de depolanan pişmiş sığır kıymasına, %1 oranında bitkisel ekstrakt eklemenin ürünün kalite özellikleri üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada, biberiye özü ve üzüm çekirdeği ekstraktının TBARM değerini %92 oranında, çam kabuğu ekstraktının ise bu değeri %94 oranında düşürdüğünü bildirmişlerdir. Shan vd. (2009), karanfil, nar kabuğu, üzüm çekirdeği gibi doğal ekstraktlarla muamele ettikleri ve oda sıcaklığında (20°C'de) 9 gün depoladıkları parça domuz etlerinde TBARM oluşumunun önemli düzeyde azaltılabildiğini belirtmişlerdir. Özdemir vd. (2014), farklı düzeylerde NKE ilavesinin 4°C'de 6 gün depolanan köftelerde TBARM oluşumunu geciktirdiğini, konsantrasyon arttıkça daha az malonaldehit oluştuğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, fenolik asitler, flavonoidler, proantosiyanidinler ve hidrolize tanenleri önemli düzeylerde içeren NKE'nın kıyma

etlerde antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da, maviyemiş ekstraktında bulunan biyoaktif bileşikler lipid oksidasyonunu geciktirmiştir.

4.2.10 Duyusal değerlendirme

BHT, MYE1, MYE2 ilave edilen ve antioksidan kaynağı ilave edilmeden üretilen K köfte örneklerinde depolama sırasında duyusal özelliklerde meydana gelen değişimler çiğ örneklerde renk, koku (ransit ve kötü koku) ve genel beğeni yönlerinden incelenmiştir. Soğukta depolama süresince (0., 3., 6., 8. ve 10. günler) duyusal puan ortalamalarında meydana gelen değişimler çizelge 4.24'te görülmektedir.

Yapılan varyans analizi sonucu, renk puanına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve interaksiyonun etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.25). Uygulamanın etkisi, MYE1 ve MYE2 örnekleri arasında önemsiz ($P>0.01$), bu örneklerle K ve BHT'li örnekler arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. MYE'li örnekler en yüksek renk puanlarına sahip olmuşlardır (Ek 2, Çizelge 8). Sürenin etkisi ise, ilk iki günden sonra önemli olmuş ($P<0.01$) ve süre ilerledikçe köfte örneklerine verilen renk puanları da giderek düşmüştür (Ek 2, Çizelge 8). İnteraksiyonun renk üzerine etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.24), K örneklerde 3. günden itibaren renk puanında önemli ($P<0.01$) düşüşler olmuştur. BHT'li örneklerde ise giderek daha düşük renk puanları verilmesine karşın, ilk 6 gün puan ortalamaları arasındaki fark önemsiz ($P<0.01$), bu günler ile 8. ve 10.gün ortalamalar arasındaki fark ise önemli düzeyde ($P<0.01$) olmuştur. Depolama başlangıcında verilen renk puan ortalamaları K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 6.8, 6.9, 6.8, 6.7'dir ve uygulamalar arasında bir renk farkı gözlenmemiştir. Köfte örneklerin renk puanları 6. günde düşmeye başlamış, en düşük puan mikrobiyolojik olarak da reddedilen K örneklere verilmiştir. Depolamanın 8. ve 10. günlerinde MYE1 ve MYE2 örnekleri kabul değerlerinde renk puan ortalamalarına sahip olmuşlardır.

Çizelge 4.24 Soğukta depolanan köftelerin duyuşal değerdendirme puan ortalamaları ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ¹			
	K	BHT	MYE1	MYE2
Renk				
0	^a 6.80±0.00 _A	^a 6.90±0.14 _A	^a 6.80±0.00 _A	^a 6.70±0.14 _A
3	^a 6.60±0.28 _A	^a 6.80±0.00 _A	^a 6.50±0.14 _A	^a 6.20±0.57 _A
6	^b 4.88±0.18 _B	^a 6.25±0.00 _A	^b 5.38±0.53 _B	^b 5.38±0.18 _B
8	^c 1.00±0.00 _C	^b 3.17±0.24 _B	^a 5.17±0.24 _B	^a 5.17±0.24 _B
10	^b 1.00±0.00 _C	^b 1.00±0.00 _C	^a 4.17±0.24 _C	^a 3.83±0.24 _C
Ransit koku				
0	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A
3	^b 6.10±0.14 _B	^a 6.80±0.00 _A	^a 6.80±0.00 _A	^a 6.80±0.00 _A
6	^b 2.50±0.00 _C	^a 5.75±0.00 _B	^a 6.25±0.00 _B	^a 6.13±0.18 _B
8	^c 1.00±0.00 _D	^b 3.17±0.24 _C	^a 5.67±0.47 _C	^a 5.50±0.24 _C
10	^b 1.00±0.00 _D	^b 1.00±0.00 _D	^a 3.67±0.47 _D	^a 4.00±0.00 _D
Kötü koku				
0	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A
3	^a 6.60±0.28 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A	^a 7.00±0.00 _A
6	^b 1.75±0.35 _B	^a 6.38±0.53 _B	^a 6.50±0.00 _A	^a 6.25±0.35 _B
8	^c 1.00±0.00 _C	^b 2.00±0.00 _C	^a 5.67±0.00 _B	^a 5.67±0.00 _B
10	^b 1.00±0.00 _C	^b 1.00±0.00 _D	^a 1.67±0.00 _C	^a 2.00±0.47 _C
Genel beğeni				
0	^a 6.90 ±0.00 _A	^a 6.90 ±0.00 _A	^a 7.00 ±0.00 _A	^a 7.00 ±0.00 _A
3	^b 5.70 ±0.14 _B	^a 6.80 ±0.00 _{AB}	^a 6.80 ±0.00 _A	^a 6.60 ±0.00 _A
6	^b 1.63 ±0.18 _C	^a 6.38 ±0.18 _B	^a 6.13 ±0.53 _B	^a 6.00 ±0.00 _B
8	^c 1.00 ±0.00 _D	^b 1.50 ±0.24 _C	^a 5.67 ±0.00 _C	^a 5.67 ±0.00 _B
10	^b 1.00 ±0.00 _D	^b 1.00 ±0.00 _D	^a 1.67 ±0.00 _D	^a 1.83 ±0.24 _C

¹Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-D}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

MYE1 ve MYE2 örneklerinin renk puan ortalamaları benzer bir seyir izlemiş, 0. günden 10. güne kadar verilen renk puan ortalamaları 6. günden itibaren düşmeye başlamış, 0-3. gün, 6-8. gün puan ortalamaları arasındaki fark önemsiz (P>0.01), bu günlerle 10.gün puan ortalamaları arasındaki fark ise önemli (P<0.01) düzeylerde olmuştur.

Soğukta depolanan köftelere ransit koku yönünden verilen puan ortalamaları incelendiğinde (Çizelge 4.24), depolama başlangıcında yüksek (7.0), ilerleyen günlerde ise düşük olmuştur. K örneği 6. günde reddedilirken ransit koku yönünden de en düşük

puanı (2.5) almıştır. Ransit koku yönünden en iyi puanları MYE1 ve MYE2 örnekleri almıştır. Başka bir ifade ile ransit koku oluşumunu MYE ilavesi BHT'den daha iyi engellemiştir. Diğer yandan TBARM sonuçları incelendiğinde MYE içeren örnekler BHT içeren örneklerden daha yüksek TBARM miktarlarına sahip iken, duyuusal yönden BHT'nin daha düşük ransit koku puanı alması, ekstraktın sahip olduğu kendine özgü meyvemsi kokuya bağlanabilir. Bu meyvemsi kokunun ransit kokunun algılanmasını maskeleyiği düşünülmektedir.

Çizelge 4.25 Soğukta depolanan köftelerin duyuusal puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Renk			
Uygulama (U)	3	14.9221	91.98**
Depolama Süresi (S)	4	111.3973	515.00**
UxS	12	29.2733	45.11**
Hata	20	1.0815	
Toplam	39		
Ransit koku			
Uygulama (U)	3	38.0789	418.35**
Depolama Süresi (S)	4	117.5965	968.98**
UxS	12	27.1309	74.52**
Hata	20	0.6068	
Toplam	39		
Kötü koku			
Uygulama (U)	3	29.837	238.65**
Depolama Süresi (S)	4	178.798	1072.61**
UxS	12	39.774	79.53**
Hata	20	0.833	
Toplam	39		
Genel beğeni			
Uygulama (U)	3	32.276	453.12**
Depolama Süresi (S)	4	167.291	1761.47**
UxS	12	40.902	143.56**
Hata	20	0.475	
Toplam	39		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

Yapılan varyans analizi sonucu, ransit koku puanına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve interaksiyonun etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.25). Uygulamanın etkisi incelendiğinde, en düşük ransit puan ortalamasına sahip K (3.5) ile BHT (4.7), MYE1 (5.9) ve MYE2 (5.9) puan ortalamaları arasındaki fark önemli ($P<0.01$), MYE1 ve MYE2 ortalamaları arasındaki fark ise önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur (Ek 2, Çizelge 9). Sürenin etkisi, her bir analiz dönemleri arasında önemli düzeylerde ($P<0.01$) olmuş ve ransit puan ortalamaları giderek düşmüştür (Ek 2, Çizelge 9). Uygulama x süre interaksiyonunun etkisi (Çizelge 4.24) incelendiğinde; BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde benzer değişim gözlenmiştir. Bu örneklerde 0. ve 3. gün ransit puan ortalamaları arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), bu günlerle 6., 8. ve 10. gün puan ortalamaları arasındaki fark ise önemlidir ($P<0.01$).

Köfte örneklerin kötü koku puanları incelendiğinde (Çizelge 4.24), 0. günde K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerin puan ortalamaları 7.0'dir. BHT, MYE1 ve MYE2 örnekleri ilk 6 gün yüksek puanlar alırken, K örnekleri 6. günde BHT örnekleri 8. günde (2.0), MYE1 (1.67) ve MYE2 (2.00) örnekleri 10. günde kötü koku nedeniyle reddedilmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucu, kötü koku puanına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve interaksiyonun etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.25). Uygulamanın etkisi K, BHT ve MYE1 ve MYE2 örnekleri arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur (Ek 2, Çizelge 10). MYE ilavesi kötü koku oluşumunu geciktirmiştir. Sürenin etkisi, ilk iki gün önemsiz ($P>0.01$), diğer günlerde önemli düzeylerde olmuştur ($P<0.01$) (Ek 2, Çizelge 10). Yani süre uzadıkça kötü koku artmış ve 10. günde en düşük olmuştur. Uygulama x süre interaksiyonunun kötü koku oluşumuna etkisi (Çizelge 4.24), BHT'li örneklerde ilk 3 gün önemsiz ($P>0.01$), diğer günlerde önemli ($P<0.01$) olmuştur. %0.5 MYE içeren örneklerde 6 gün kötü koku hiç algılanmazken ($P>0.01$), 8. ve 10. günlerde puanlar düşmüş ve bu dönemler arasındaki fark önemli ($P<0.01$) olmuştur. %1 MYE içeren örnekler ise ilk 2 gün yüksek puan ortalamalarına sahip olurken, 6. ve 8. günlerde düşmüş, 0-3. günler, 6-8. günler ve 10. gün puan ortalamaları arasındaki fark önemli düzeylerde ($P<0.01$) olmuştur. Kötü koku puanları yönünden, K örnekleri 6. günde,

BHT’li örnekler 8. günde, MYE1 ve MYE2 örnekleri 10. günde kötü koku nedeniyle reddedilmişlerdir.

Genel beğeni puanlarının tüm örneklerde, depolama ile birlikte diğer kalite özelliklerine bağlı olarak düştüğü görülmektedir. Depolamanın ilk gününde genel beğeni puanı K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde sırasıyla 6.90, 6.90, 7.00 ve 7.00 iken, K örnekleri 6. günde 1.63 ile, BHT’li örnekler 8. günde 1.50 ile, MYE1 ve MYE2 örnekleri 10 günde sırasıyla 1.67 ve 1.83 puan ortalaması ile en düşük puanları almışlardır.

Yapılan varyans analizi sonucu, genel beğeni puanına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT), depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.25). Uygulamanın etkisi incelendiğinde, MYE1 ve MYE2 içeren örnekler en beğenilenler olurken, bunların puan ortalamaları ile BHT ve K örneklerin ortalamaları arasındaki fark önemli olmuştur ($P<0.01$) (Ek 2, Çizelge 11). Sürenin etkisi, her dönemde önemli bulunmuştur ($P<0.01$) (Ek 2, Çizelge 11). Uygulama x süre interaksiyonunun etkisi (Çizelge 4.24), K örneklerinde her dönem önemli olmuş, 8. ve 10. günler arasındaki önemsiz durum, bu örneklerin reddedilme nedeniyle aynı puanı almaları ile ilişkilidir. BHT’li örneklerde, ilk üç günden sonra genel beğeni puanları önemli düzeylerde ($P<0.01$) azalmıştır. MYE1 içeren örneklerin 0-3. gün genel beğeni puanları arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), bu günlerle 6., 8. ve 10. günler arasındaki fark önemli ($P<0.01$) olmuştur. MYE2 içeren köfte örneklerde 0-3., 6-8. gün puan ortalamaları arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), bu günlerle 10. gün ortalamaları arasındaki fark ise önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Genel beğeni puanları yönünden de K örnekleri 6. gün, BHT’li örnekler 8. gün, MYE1 ve MYE2 içeren örnekler ise 10. gün reddedilmişlerdir.

4.3 Dondurularak Depolanan Köfte Örneklerine Ait Sonuçlar

4.3.1 Köfte bileşimi

Dondurularak depolanan köfte örneklerinde depolama başlangıcında ve sonunda belirlenen % nem, protein, yağ ve kül miktarları çizelge 4.26’da verilmiştir. Depolama

başlangıcında belirlenen nem, protein, yağ ve kül miktarları sırasıyla %64.92-66.75, %17.37-18.19, %8.05-8.86 ve %2.50-2.68 arasında değişmiştir. Depolama işleminin sonunda (6. ay), nem miktarlarında az da olsa bir azalma, protein yağ ve kül miktarlarında ise artış gözlenmiştir. Depolamanın 6. ayında nem miktarları % 62.31-65.04, protein miktarları % 18.62-18.93, yağ miktarları % 9.02- 10.42, kül miktarları ise % 2.69-3.23 arasında değişme göstermiştir.

Çizelge 4.26 Dondurularak depolanan köftelerin nem, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişmeler (%)

Gruplar	Süre (Ay)	Bileşim (%) ⁽¹⁾			
		Nem	Protein	Yağ	Kül
K	0	66.75±0.01	17.37±0.38	8.05±0.48	2.50±0.01
	6	65.04±0.63	18.70±0.32	9.02±2.42	2.69±0.48
BHT	0	64.92±0.56	17.86±0.56	8.86±0.23	2.63±0.03
	6	63.02±1.29	18.93±0.46	9.94±0.68	3.23±0.24
MYE1	0	65.13±1.02	18.19±2.11	8.82±0.44	2.68±0.01
	6	63.53±1.75	18.74±0.38	9.92±2.32	2.75±0.18
MYE2	0	65.59±0.17	17.44±0.83	8.85±0.62	2.66±0.00
	6	62.31±2.13	18.62±1.84	10.42±2.04	3.11±0.02

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucu (sonuçlar gösterilmemiştir), nem miktarına, sürenin etkisinin önemli ($P<0.05$), uygulamanın ve uygulama x süre etkileşiminin etkisinin ise önemsiz olduğunu ($P>0.05$) göstermiştir. Depolama süresi sonuna kadar nem miktarında önemli düzeyde azalma ($P<0.05$) görülmüştür. Depolama ile nem kaybı gözlenmiş ve buna bağlı olarak nem miktarı azalmış, protein, yağ ve kül miktarları ise artış göstermiştir. Yapılan varyans analizi sonucu, protein ve yağ miktarlarında meydana gelen artışa uygulamanın ve sürenin etkisinin önemli düzeyde olmadığını ($P>0.05$) göstermiştir. Uzayan depolama süresi ile kül miktarında meydana gelen artışa sürenin etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuş, başlangıç ile 6. ay kül miktarları arasında önemli düzeyde artış gözlenmiştir.

4.3.2 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı

Dondurularak depolanan köftelerde belirlenen TAMB sonuçları $\log_{10}$ KOB/g olarak çizelge 4.27 ve şekil 4.16’da görülmektedir. Köfteler hazırlandıktan hemen sonra gruplarda belirlenen TAMB sayıları, 4.42- 4.66 arasında değişmiştir. Köftelerin TAMB sayılarının depolama süresi sonunda (6. ayda), 3.27-4.28 arasında değiştiği görülmüştür. Depolama süresi boyunca tüm gruplarda TAMB sayısının düştüğü görülmektedir. En fazla düşüş, BHT ve MYE’li örneklerde gözlenmiştir (Şekil 4.16).

Çizelge. 4.27 Dondurularak depolanan köftelerin TAMB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

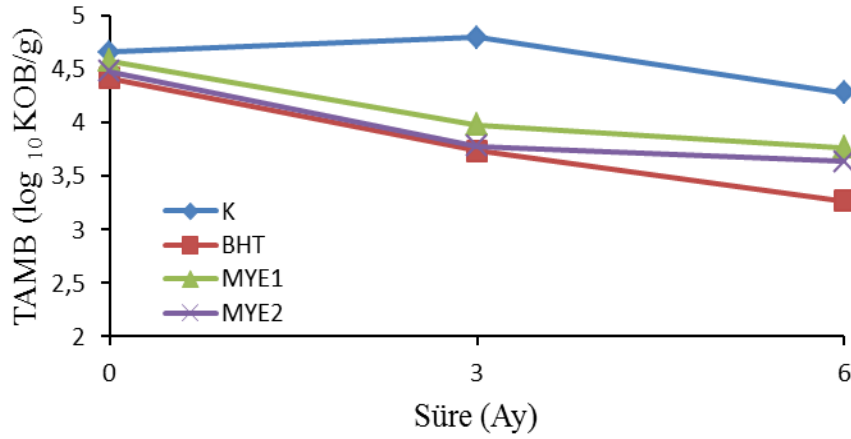
Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 4.66±0.00 _A	^a 4.42±0.01 _A	^a 4.58±0.20 _A	^a 4.48±0.01 _A
3	^a 4.80±0.38 _A	^b 3.74±0.03 _B	^b 3.98±0.05 _B	^b 3.78±0.23 _B
6	^a 4.28±0.05 _B	^c 3.27±0.17 _C	^b 3.77±0.11 _B	^b 3.64±0.05 _B

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

^{A-C}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

Yapılan varyans analizi sonucu, TAMB yüküne, uygulamanın (BHT, %0.5 MYE ve %1.0 MYE ilavesinin), depolama süresinin ($P<0.01$) ve uygulama x süre interaksiyonunun önemli ($P<0.05$) etkisini göstermiştir (Çizelge 4.28). Uygulamanın etkisi incelendiğinde (Ek 2, Çizelge 12), en yüksek TAMB ortalaması 4.58 ile K örneklerde saptanmış ve diğer uygulamaların TAMB sonuçları ile arasında önemli fark oluşmuştur ($P<0.01$).



Şekil 4.11 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişimler

En düşük ortalamaya sahip BHT’li örnekler (3.81) ile MYE2 (3.96) örnekleri arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), BHT ve MYE1’li örnekler arasındaki fark önemli ($P<0.01$) olmuştur. Sürenin etkisi, her bir dönemde önemli bulunmuş ($P<0.01$), süre uzadıkça TAMB sayıları uygulamadan bağımsız azalma göstermişlerdir (Ek 2, Çizelge 12). Burada TAMB yüküne dondurarak depolamanın etkisi daha açık görünmektedir. Uygulama x süre etkileşimi incelendiğinde, 0. ayda uygulamalar arası fark önemsiz ($P>0.05$), 3. ayda en yüksek ortalamaya sahip K ile diğer uygulamalar arasındaki fark önemli ($P<0.05$), 6. ayda ise yine en yüksek ortalamaya sahip K (4.28) ile en düşük ortalamaya sahip BHT’li (3.27), MYE1’li (3.77) ve MYE2’li (3.64) örnekler arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuş, MYE konsantrasyonları arasındaki fark ise önemli düzeyde olmamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 4.27). Uygulama x süre etkileşiminde, K örneklerde ilk 3 ay ortalamaları arasında önemli bir değişim olmazken ($P>0.05$), 0.-3. ay ortalamaları (4.66-4.80) ile 6. ay ortalaması (4.28) arasındaki fark önemli düzeyde düşük olmuştur ($P<0.05$). BHT’li örneklerde süre uzadıkça (0’dan 6. aya) TAMB sayıları önemli düzeyde azalmıştır ($P<0.05$). MYE1 ve MYE2 örneklerinde ise süreye bağlı olarak benzer değişim gözlenmiş, 0.ay ile 3. ve 6. ay ortalamaları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) 3. ve 6. ay ortalamaları arasındaki fark ise önemsiz düzeyde ($P>0.05$) olmuştur.

Çizelge 4.28 Dondurularak depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	2.0098	28.30**
Depolama Süresi (S)	2	2.5508	53.89**
UxS	6	0.5841	4.11*
Hata	12	0.2840	
Toplam	23		

*P<0.05, **P<0.01 düzeyinde önemlidir.

Dondurma işlemi ve depolama süresi mikrobiyel yükün azalmasını sağlayan uygulamalardır. Bunun yanı sıra köftelere BHT ve farklı düzeylerde MYE ilavesi de TAMB yükünün azalmasına katkıda bulunmuş ve bunları içeren örneklerde daha fazla mikrobiyel yıkım gözlenmiştir.

4.3.3 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı

Dondurularak depolanan köftelerde belirlenen TAPB sayısı sonuçları log₁₀ KOB/g olarak çizelge 4.29’da ve şekil 4.17’de görülmektedir. Köfteler hazırlandıktan hemen sonra belirlenen TAPB sayıları, gruplarda 4.28-4.38 arasında değişmiştir. Bu sayının depolama süresi sonunda, 6. ayda, 3.18-3.49 arasında değiştiği görülmüştür. Depolama süresi boyunca tüm gruplarda TAPB sayısının düştüğü görülmektedir.

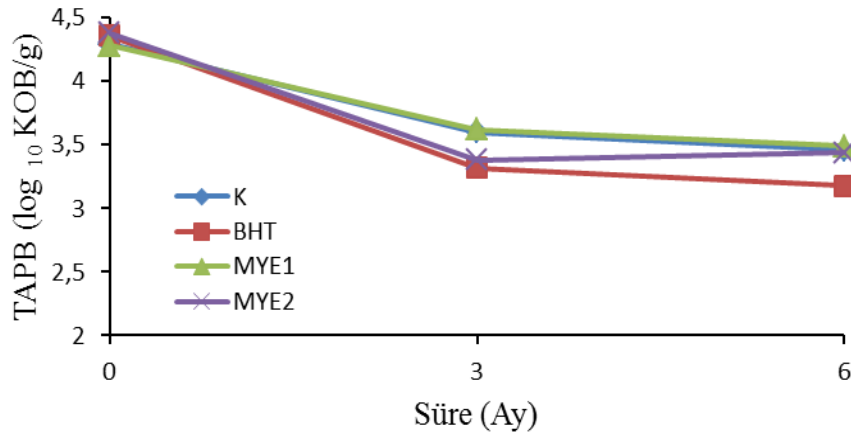
Çizelge 4.29 Dondurularak depolanan köftelerin TAPB (log₁₀KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 4.29±0.01 _A	^a 4.36±0.02 _A	^a 4.28±0.06 _A	^a 4.38±0.06 _A
3	^a 3.60±0.04 _B	^b 3.32±0.05 _B	^a 3.62±0.01 _B	^b 3.38±0.06 _B
6	^a 3.46±0.02 _C	^b 3.18±0.04 _C	^a 3.49±0.06 _B	^a 3.44±0.01 _B

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-b}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

^{A-C}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).



Şekil 4.12 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TAPB sayısına, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve depolama süresinin birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ($P<0.01$) (Çizelge 4.30). Depolamanın 3. ayında tüm gruplarda TAPB sayısı önemli düzeyde ($P<0.01$) düşüş göstermiştir. Depolamanın 0. ve 3. aylarında gruplar arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$) olmuştur. Dondurularak depolama TAPB sayısındaki azalmayı, antioksidan uygulamasından daha fazla etkilemiştir ($P<0.01$).

Çizelge 4.30 Dondurularak depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.03970	23.96**
Depolama Süresi (S)	2	2.13909	1290.63**
UxS	6	0.02675	16.14**
Hata	12	0.00166	
Toplam	23		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli.

Köftelerin TAPB sayısına antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 13'te verilmiştir. Uygulamanın etkisi BHT ile K, MYE1 ve MYE2 örnekleri arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. En düşük TAPB sayısına 3.62 ile BHT içeren örnekler sahip olmuştur. %0.5 ve %1 MYE ilaveli köfteler, BHT'li köftelerden daha yüksek TAPB sayısı içermişlerdir. Depolama süresinin

uzaması, TAPB sayısında azalmaya neden olmuştur ve 0., 3., ve 6. ay TAPB sayıları arasında önemli düzeylerde azalmalar ($P<0.01$) saptanmıştır.

4.3.4 Toplam Laktik asit bakteri sayısı

Dondurularak depolanan köftelerde belirlenen toplam laktik asit bakteri (LAB) sayısı sonuçları $\log_{10}$ KOB/g olarak çizelge 4.31 ve şekil 4.18’de görülmektedir. Depolama başlangıcında gruplarda LAB sayısı 2.63-3.19 arasında değişmiştir. Bu sayının depolama süresi sonunda, 6. ayda, 1.93-2.68 arasında değiştiği görülmüştür. Depolama süresi boyunca tüm gruplarda LAB sayısının düştüğü görülmektedir. LAB sayısı depolamanın başlangıcında en düşük BHT içeren örneklerde görülmüştür. Depolamanın sonunda ise antioksidan içeren örneklerin LAB sayısı K örneklerinden daha yüksek bulunmuştur.

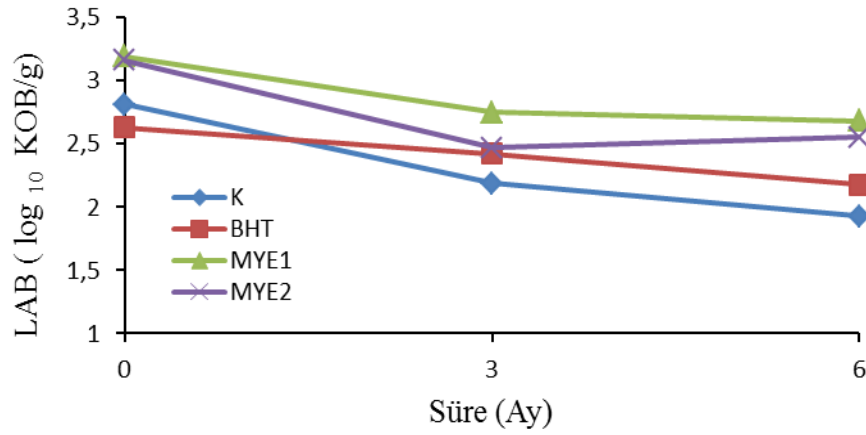
Çizelge 4.31 Dondurularak depolanan köftelerin LAB ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ortalama
0	2.81±0.01	2.63±0.19	3.19±0.57	3.16±0.53	^a 2.95±0.39
3	2.19±0.07	2.42±0.02	2.75±0.15	2.47±0.19	^b 2.46±0.23
6	1.93±0.12	2.18±0.01	2.68±0.11	2.55±0.02	^b 2.34±0.32
Ortalama	2.31±0.41 _B	2.41±0.22 _B	2.87±0.36 _A	2.72±0.42 _{AB}	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{A-B} İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

^{a-b} İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).



Şekil 4.13 Dondurularak depolama sırasında köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, LAB yüküne, köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve süresinin etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğunu interaksiyonun ise önemsiz ($P>0.01$) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.32). LAB sayısındaki değişim 0. ay ile 3. ve 6. aylar arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Antioksidan ilavesi LAB sayısında depolama boyunca meydana gelen azalmayı etkilememiştir. En düşük LAB ortalamaları K, BHT ve MYE2, en yüksek MYE1 köftelerinde belirlenmiştir. Antioksidan içermeyen K örnekler 6. ayda en düşük LAB yüküne sahip olmuşlardır.

Çizelge 4.32 Dondurularak depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.41186	6.66**
Depolama Süresi (S)	2	0.83463	13.49**
UxS	6	0.03522	0.57
Hata	12	0.06185	
Toplam	23		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli.

4.3.5 Toplam Enterobacteriaceae sayısı

Dondurularak depolanan köftelerde belirlenen Enterobacteriaceae sayısı sonuçları $\log_{10}$ KOB/g olarak çizelge 4.33 ve şekil 4.19’da görülmektedir. Depolama başlangıcında gruplarda Enterobacteriaceae sayısı 2.30-2.55 arasında değişmiştir. Bu sayının depolama süresi sonunda, 6. ayda, 1.09-1.74 arasında değiştiği görülmüştür. Depolama süresi boyunca tüm gruplarda Enterobacteriaceae sayısının azaldığı görülmektedir.

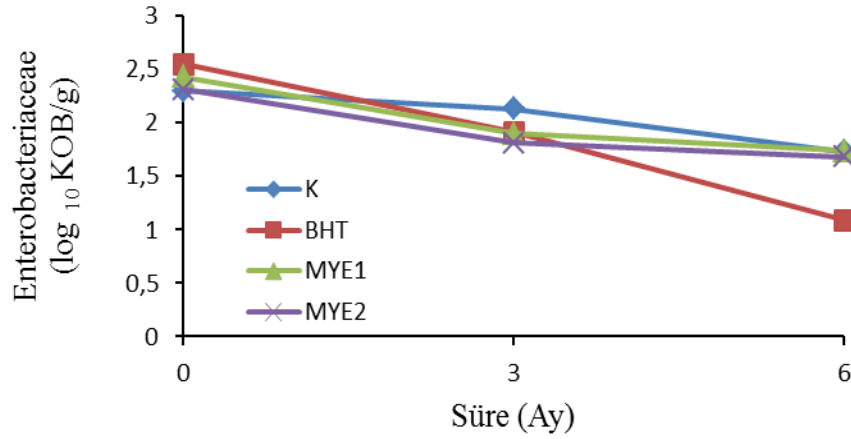
Çizelge 4.33 Dondurularak depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısına ($\log_{10}$ KOB/g) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ortalama
0	2.30±0.09	2.55±0.18	2.43±0.14	2.31±0.32	^a 2.40±0.19
3	2.13±0.03	1.91±0.04	1.90±0.12	1.81±0.05	^b 1.94±0.13
6	1.73±0.11	1.09±0.44	1.74±0.19	1.68±0.03	^c 1.56±0.35
Ortalama	2.06±0.27	1.85±0.69	2.02±0.35	1.93±0.33	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.01$).

Yapılan varyans analizi sonucu, Enterobacteriaceae yüküne, depolama süresinin etkisinin önemli ($P<0.01$), uygulama ve interaksiyonun etkisinin ise önemli olmadığını ($P>0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.34). Dondurularak depolama köfte örneklerin Enterobacteriaceae sayılarında azalmaya neden olmuş ve süre uzadıkça (0.’dan 6. aya), ortalamalar arasında önemli azalmalar ($P<0.01$) olmuştur.



Şekil 4.14 Dondurularak depolama sırasında köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimler

Depolama başlangıcında 2.40 olan sayı 6. ayda 1.56'ya düşerek, yaklaşık 0.84 log birimlik azalma olmuştur (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.34 Dondurularak depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.05249	1.48
Depolama Süresi (S)	2	1.41820	40.11**
UxS	6	0.10445	2.95
Hata	12	0.03536	
Toplam	23		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

4.3.6 Renk değerleri (L*, a* ve b*)

Dondurularak depolanan köftelerin L* (parlaklık), a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) değerlerindeki değişim depolama boyunca incelenmiş ve sırasıyla aşağıda değerlendirilmiştir.

Depolama başlangıcında K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinin L* değerleri sırasıyla 41.80, 42.33, 40.27 ve 38.92 olarak belirlenirken depolama sonunda (6. ay) bu değerlerin sırasıyla 46.94, 41.00, 38.97 ve 37.83 olarak değiştiği belirlenmiştir (Çizelge

4.35). Depolama sırasında L* değerleri K örneklerde sürekli artarken, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerde 4. aydan sonra azalma gözlenmiştir (Şekil 4.20).

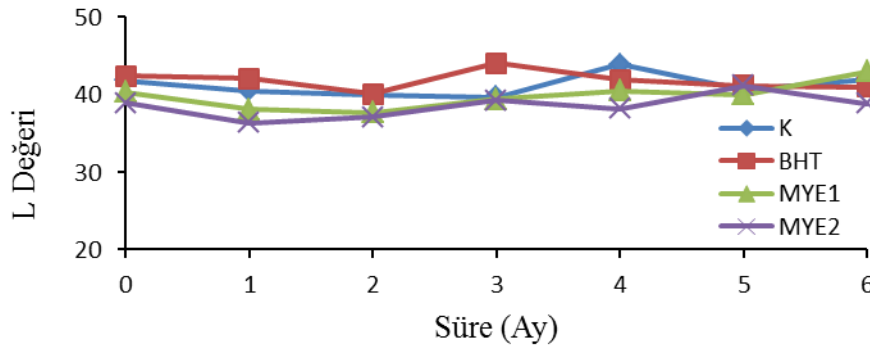
Çizelge 4.35 Dondurularak depolanan köftelerin L* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 41.80±5.09 _C	^a 42.33±2.44 _B	^a 40.27±0.78 _A	^b 38.92±1.33 _A
1	^a 42.48±3.62 _C	^a 42.01±0.40 _B	^b 38.04±0.20 _{AB}	^c 36.36±1.08 _B
2	^a 42.87±0.58 _C	^b 40.08±0.33 _B	^c 37.69±1.02 _B	^c 37.08±0.54 _{AB}
3	^a 44.60±1.11 _B	^a 43.03±0.75 _A	^b 39.38±0.95 _{AB}	^b 39.22±0.84 _A
4	^a 44.83±0.08 _B	^b 41.87±0.59 _B	^b 40.44±0.58 _{AB}	^c 38.13±2.02 _{AB}
5	^a 45.43±2.35 _A	^b 41.14±1.02 _B	^{bc} 39.99±0.52 _{AB}	^c 38.14±0.90 _{AB}
6	^a 46.94±0.11 _A	^b 41.00±0.44 _B	^c 38.97±1.70 _{AB}	^c 37.83±0.20 _{AB}

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c} İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-C} İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.15 Dondurularak depolama sırasında köftelerin L* değerinde meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, L* değerine, uygulamanın, uygulama x süre interaksyonunu (P<0.01) ve sürenin (P<0.05) etkisinin önemli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.36). İnteraksiyonun etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.35), uygulamanın etkisi ilk ayda K ile BHT'li örnekler arasında önemsiz (P>0.01), 2., 3., 5. ve 6. aylarda MYE1 ve MYE2 örnekleri arasında önemsiz (P>0.01), fakat bunlarla BHT'li ve K örnekleri arasında önemli düzeylerde (P<0.01) olmuştur. Sürenin etkisi K örneklerde iki ayda bir meydana gelen azalışlarla önemli olmuştur (P<0.01). BHT'li örneklerde

sürenin etkisi 3. ay dışında önemli bulunmamıştır ($P>0.01$). MYE1 ve MYE2 örneklerinde 4. aydan sonra L^* değerlerinde önemli bir değişim ($P>0.01$) gözlenmemiştir. Uygulamanın ve sürenin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 14'te verilmiştir.

Çizelge 4.36 Dondurularak depolanan köftelerin L^* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	29.381	11.85**
Depolama Süresi (S)	6	7.580	3.06*
UxS	18	3.625	1.46**
Hata	28	2.480	
Toplam	55		

** $P<0.01$, * $P<0.05$ düzeyinde önemli.

Antioksidan içeren örnekler ve K örneğinin dondurularak depolama süresince a^* değerinde meydana gelen değişimler çizelge 4.37'de ve şekil 4.21'de görülmektedir. Depolama başlangıcında K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinin a^* değeri sırasıyla 15.27, 16.43, 16.92 ve 17.84 iken 6 ay depolama sonunda bu değerler sırasıyla 8.04, 8.74, 10.45 ve 12.24 olmuştur. Pigment oksidasyonuna bağlı olarak tüm gruplarda a^* değerinde azalmalar gözlenmiştir (Şekil 4.21).

Yapılan varyans analizi sonucu, köftelerin a^* değerine, uygulamanın, depolama süresinin ve interaksiyonun etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.38). Uygulamanın etkisi, a^* değeri en düşük olan K ile diğer uygulamalar arasında önemli ($P<0.01$), BHT, MYE1 ve MYE2 arasında önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur (Ek 2, Çizelge 15). BHT ve farklı düzeylerde MYE ilavesi a^* değerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Bu da K örneklerde oksidasyonun şiddetine ve diğer örneklerde antioksidan kaynaklarının koruyucu etkisine bağlanmaktadır.

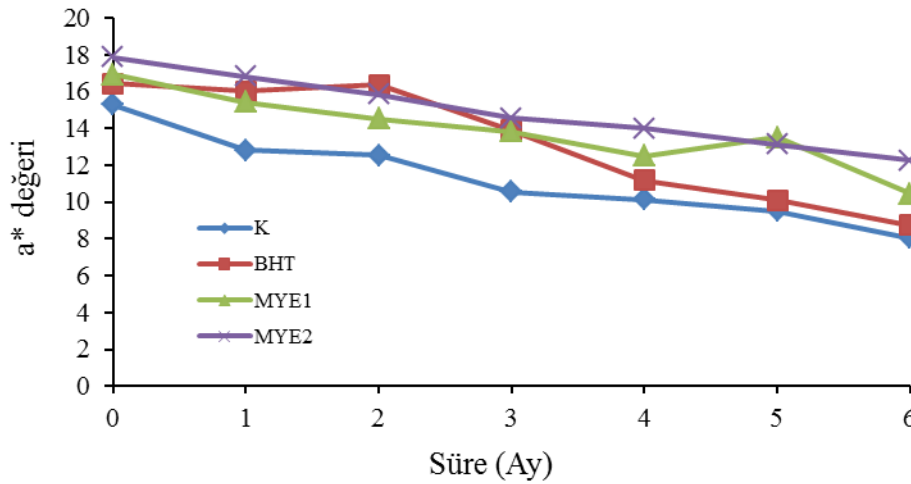
Çizelge 4.37 Dondurularak depolanan köftelerin a* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^c 15.27±0.49 _A	^{bc} 16.43±2.13 _A	^b 16.92±0.28 _A	^a 17.84±0.52 _A
1	^b 12.79±1.21 _B	^a 16.01±0.43 _A	^a 15.42±0.71 _A	^a 16.80±0.07 _A
2	^b 12.53±0.07 _B	^a 16.35±0.84 _A	^a 14.50±0.27 _{AB}	^a 15.83±1.90 _{AB}
3	^b 10.53±0.01 _C	^a 13.89±0.68 _B	^a 13.81±0.41 _B	^a 14.53±0.74 _B
4	^b 10.11±0.13 _C	^b 11.16±0.37 _C	^b 12.51±1.24 _{BC}	^a 14.00±0.19 _{BC}
5	^b 9.50±0.70 _{CD}	^b 10.09±0.40 _C	^a 13.52±0.44 _{BC}	^a 13.11±0.09 _{BC}
6	^c 8.04±1.56 _D	^c 8.74±1.59 _D	^b 10.45±0.74 _D	^a 12.24±2.67 _D

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-D}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.16 Dondurularak depolama sırasında köftelerin a* değerinde meydana gelen değişimler

Süre uzadıkça a* değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bu durum, dondurularak depolanan köftelerde sürenin pigment oksidasyonunu artırdığı gerçeğini ortaya koymaktadır. İnteraksiyonun etkisi incelendiğinde; sürenin etkisi 1. aydan 4. aya kadar K ile diğer örnekler arasında (BHT, MYE1 ve MYE2) önemli (P<0.01), BHT, MYE1 ve MYE2 örnekleri arasında önemsiz (P>0.01), 6. ayda ise en yüksek a* değerine sahip MYE2 örnekleri ile diğer uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.01) (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.38 Dondurularak depolanan köftelerin a* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.963	0.96**
Depolama Süresi (S)	6	76.653	76.46**
UxS	18	1.791	1.79**
Hata	28	1.003	
Toplam	55		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

Dondurularak depolanan K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinin b* değerinde depolama süresince meydana gelen değişmeler çizelge 4.39’da ve şekil 4.22’de gösterilmektedir. Depolama başlangıcında K, BHT, MYE1, MYE2 gruplarında b* değerleri sırasıyla 15.57, 17.03, 13.24, 10.70 iken depolamanın 6. ayında bu değerler sırasıyla 11.99, 14.45, 10.88 ve 9.46 olmuştur. Depolama sonunda tüm örneklerin b* değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bu azalma en fazla K örneğinde, en az MYE2 örneğinde olmuştur (Şekil 4.22).

Yapılan varyans analizi sonucu, uygulamanın, depolama süresinin ve interaksiyonun b* değerindeki değişimi önemli düzeyde (P<0.01) etkilediğini göstermiştir (Çizelge 4.40).

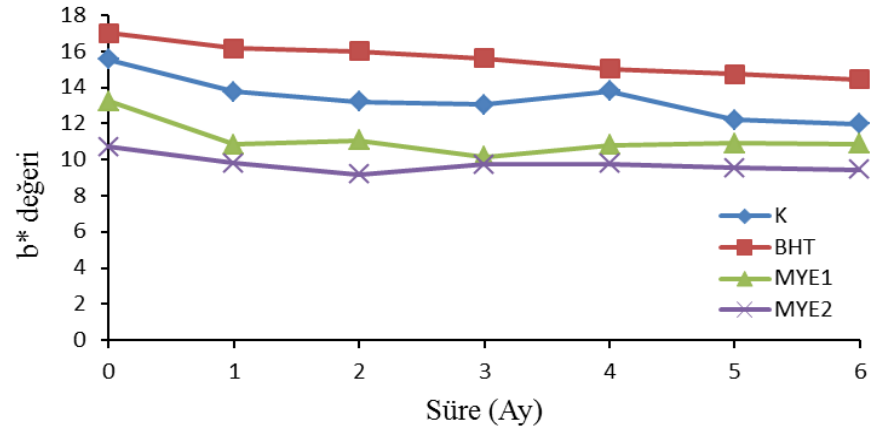
Çizelge 4.39 Dondurularak depolanan köftelerin b* değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^b 15.57±2.56 _A	^a 17.03±0.02 _A	^c 13.24±0.80 _A	^d 10.70±1.20 _A
1	^b 13.77±0.28 _B	^a 16.18±1.23 _A	^c 10.85±1.07 _B	^c 9.81±0.24 _B
2	^b 13.23±0.04 _B	^a 16.02±2.06 _A	^c 11.07±0.89 _B	^c 9.18±0.23 _B
3	^b 13.06±0.57 _B	^a 15.62±1.14 _A	^c 10.17±1.67 _B	^c 9.73±0.80 _B
4	^b 13.81±1.12 _B	^a 15.05±1.13 _{AB}	^c 10.82±0.12 _B	^c 9.78±0.02 _B
5	^b 12.20±0.63 _C	^a 14.75±0.69 _B	^c 10.90±0.65 _B	^c 9.54±0.01 _B
6	^b 11.99±0.03 _C	^a 14.45±0.79 _B	^c 10.88±0.55 _B	^c 9.46±1.07 _B

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-C}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.17 Dondurularak depolama sırasında köftelerin b* değerinde meydana gelen değişimler

İnteraksiyonun etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.39), 0. günde, en düşük b* değeri MYE2’de, en yüksek BHT’ li örnekte olmuş ve tüm örneklerin b* değerleri arasında önemli farklar ($P<0.01$) saptanmıştır. Fakat depolamanın 1. ayından itibaren MYE1 ve MYE2 örneklerinin b* değerleri arasında önemli bir değişim ($P>0.01$) gözlenmemiş, bu örneklerle diğer uygulamalar arasında ise önemli değişimler gözlenmiştir ($P<0.01$). Uygulamanın süreye karşı etkisine bakıldığında, K örneklerde 1 ay ile 4. ay arası ve 5.-6. ay arası değişimler önemsiz ($P>0.01$), 0., 1.-4. ve 5.-6. ay değerleri arasındaki değişimler önemli ($P<0.01$) olmuştur. Sarılık değerinde en fazla düşüş, oksidasyonun da en fazla gerçekleştiği K örneklerde gözlenmiştir. BHT’li örneklerde ilk 4 ay b* değerlerindeki değişim önemli olmaz iken ($P>0.01$), ilk 3 ay değerleri ile 5. ve 6. ay değerleri arasında önemli azalmalar ($P<0.01$) gözlenmiştir. MYE1 ve MYE2 örneklerinde ise b* değerinde 0 ay ile 1. ay ve sonrasındaki değerler arasında fark oluşmuş, 1. aydan 6. aya b* değerleri önemli düzeyde değişmemiştir ($P>0.01$) (Çizelge 4.39).

Bitkisel ekstrakt içeren örneklerin b* değerlerinde depolama sırasında çok az değişim olması, bu ekstraktın oksidasyonu önleyici etkisi ile açıklanabilir. Sürenin ve uygulamanın ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 Çizelge 16’da verilmiştir.

Çizelge 4.40 Dondurularak depolanan köftelerin b* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	57.8768	58.88**
Depolama Süresi (S)	6	8.5848	8.73**
UxS	18	2.0636	2.10**
Hata	28	0.9829	
Toplam	55		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

4.3.7 Peroksit değeri

BHT, MYE1, MYE2 içeren ve hiçbir katkı içermeyen K köfte örneklerinde dondurularak depolama sırasında PD sonuçlarında meydana gelen değişimler meq O₂/kg yağ olarak çizelge 4.41’de ve şekil 4.23’te verilmiştir. Depolama başlangıcında elde edilen PD sonuçları meqO₂/kg yağ olarak K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinde sırasıyla 0.98, 0.45, 0.54 ve 0.51 olarak belirlenmiştir. Depolama sırasında tüm örneklerde peroksit oluşumu artış göstermiş ve 6. ayda sırasıyla sırasıyla 2.01, 0.91, 0.90 ve 0.82 olmuştur.

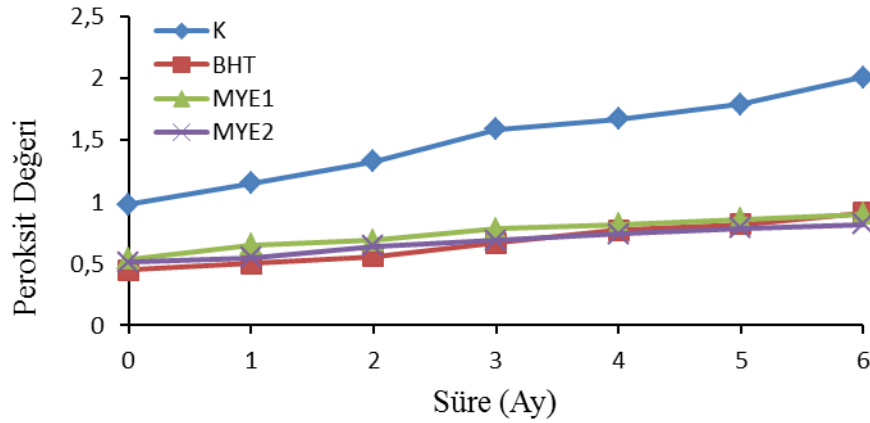
Çizelge 4.41 Dondurularak depolanan köftelerin peroksit değeri (meqO₂/kg yağ) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ortalama
0	0.98±0.16	0.45±0.02	0.54±0.04	0.51±0.05	^d 0.62±0.24
1	1.15±0.33	0.50±0.06	0.65±0.04	0.55±0.03	^d 0.71±0.30
2	1.33±0.27	0.56±0.06	0.69±0.02	0.64±0.02	^{cd} 0.80±0.34
3	1.59±0.24	0.67±0.04	0.78±0.04	0.69±0.03	^{bc} 0.93±0.42
4	1.67±0.24	0.77±0.02	0.82±0.04	0.74±0.06	^{abc} 1.00±0.43
5	1.79±0.25	0.82±0.04	0.86±0.03	0.79±0.04	^{ab} 1.06±0.46
6	2.01±0.44	0.91±0.04	0.90±0.01	0.82±0.04	^a 1.16±0.55
Ortalama	1.50±0.41 _A	0.67±0.17 _B	0.75±0.13 _B	0.67±0.12 _B	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{A-B}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{a-d}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.18 Dondurularak depolama sırasında köftelerin Peroksit değerinde meydana gelen değişimler

Peroksit değeri, depolama başlangıcında en yüksek K örneğinde (0.98) en düşük ise BHT örneğinde (0.45) tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca PD değeri tüm gruplarda oksidasyona bağlı olarak artış göstermiş, depolama sonunda en yüksek PD herhangi bir antioksidan kaynağı içermeyen K örneğinde (2.01) belirlenirken, BHT ve MYE1 örneklerinin PD sonuçları birbirine çok yakın bulunmuş, en düşük PD ise MYE2 örneğinde (0.82) belirlenmiştir.

Yapılan varyans analizi sonucu, PD değerine; depolama süresinin ve uygulama şeklinin etkisinin önemli ($P < 0.01$) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.42).

Uygulamanın etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.41), en yüksek PD'ne sahip K örneği ile antioksidan kaynağı içeren örneklerin PD'leri arasındaki fark önemli bulunmuş ($P < 0.01$), ancak BHT, MYE1 ve MYE2 ilavesi PD oluşumunu aynı düzeylerde azaltmışlardır ($P > 0.01$). Peroksit oluşumuna sürenin etkisi, 0., 1., 2. 3. aylarda ve 3., 4., 5., ve 6. aylarda önemli olmayan düzeylerde ($P > 0.01$) artmış, fakat başlangıç değerleri ile (0., 1. ve 2. aylar) son aylardaki değerler (4., 5. ve 6. aylar) arasındaki farklar önemli ($P < 0.01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.42 Dondurularak depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	2.29572	107.32**
Depolama Süresi (S)	6	0.30498	14.26**
UxS	18	0.02784	1.30
Hata	28	0.02139	
Toplam	55		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

4.3.8 *p*-Anisidin değeri

K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinin *p*-An değerinde dondurularak depolama süresince meydana gelen değişimler ve çizelge 4.43'te ve şekil 4.24'te gösterilmektedir. Depolamanın başlangıcında 0. ayda, K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinin *p*-An değerleri sırasıyla 23.51, 13.95, 19.40 ve 16.05 iken depolamanın 6. ayında bu değerler sırasıyla 49.84, 19.22, 31.94 ve 26.33 olmuştur. Tüm örneklerin *p*-An değerlerinde depolama sonuna kadar artış gözlenmektedir. Yapılan varyans analizi sonucu, *p*-An değerine; sürenin ve uygulama şeklinin etkisinin önemli olduğunu (P<0.01) göstermiştir (Çizelge 4.44).

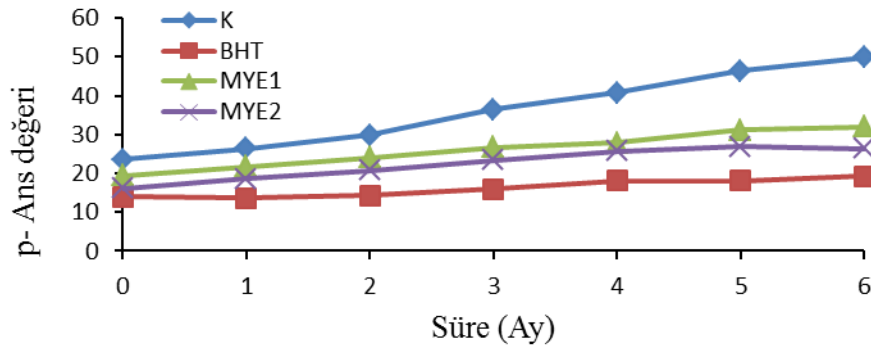
Çizelge 4.43 Dondurularak depolanan köftelerin *p*-anisidin değeri ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 23.51±1.50 _E	^c 13.95±0.70 _C	^b 19.40±1.21 _F	^{bc} 16.05±0.72 _D
1	^a 26.44±0.97 _{DE}	^c 13.60±1.22 _C	^b 21.70±1.57 _{EF}	^b 18.68±0.18 _{CD}
2	^a 29.90±2.48 _D	^c 14.31±0.50 _{BC}	^b 24.10±0.92 _{DE}	^b 20.82±0.90 _{BC}
3	^a 36.40±2.99 _C	^c 16.00±0.14 _{BC}	^b 26.75±1.39 _{CD}	^b 23.47±1.04 _{AB}
4	^a 40.77±1.10 _B	^c 18.13±0.72 _{AB}	^b 27.92±0.35 _{BC}	^b 25.68±0.25 _A
5	^a 46.39±2.66 _A	^d 18.10±0.91 _{AB}	^b 31.20±0.86 _{AB}	^c 26.82±0.48 _A
6	^a 49.84±2.25 _A	^d 19.22±0.25 _A	^b 31.94±0.68 _A	^c 26.33±1.70 _A

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-b}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-D}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.19 Dondurularak depolama sırasında köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimler

Çizelge 4.44 Dondurularak depolanan köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	978.31	559.88**
Depolama Süresi (S)	6	220.41	126.14**
UxS	18	23.68	13.55 **
Hata	28	1.75	
Toplam	55		

**P<0.01 düzeyinde önemli.

K örneklerinin, depolamanın başlangıcından 5. ayna kadar antioksidan içeren örneklerden önemli düzeyde yüksek ($P<0.01$) *p*-An değerine sahip olduğu görülmektedir. Depolamanın 6. ayında ise grupların *p*-An değerleri arasında istatistiksel olarak fark önemsiz ($P>0.01$) bulunmuştur. Antioksidan içeren örneklerin hepsinde süreye bağlı olarak *p*-An değerleri artmış, fakat bu artışlar K örneklerindeki kadar yüksek olmamıştır. En düşük *p*-An değerine sahip BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinde son aylardaki (4., 5. ve 6. aylar) *p*-An değerleri arasında önemli farklar gözlenmemiştir ($P>0.01$) (Çizelge 4.43). Köftelerin *p*-An değerine antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin ayrı ayrı etkisini gösteren Duncan sonuçları Ek 2 çizelge 17’de verilmiştir. İkincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu en iyi BHT engellerken, bunu MYE2 ve MYE1 örnekleri izlemiştir. Tüm örneklerin *p*-An değerleri arasında önemli farklar ($P<0.01$) belirlenmiştir. Sürenin etkisi incelendiğinde, köftelerin *p*-An değerleri 5. aya kadar önemli düzeylerde ($P<0.01$) artmış, 5. ve 6. aylar arasında ise değişmemiştir ($P>0.01$).

4.3.9 Tiyoobarbitürik asit reaktif maddesi miktarı

Dondurularak depolanan köftelerde depolama boyunca belirlenen TBARM sonuçları mg MDA/kg köfte olarak çizelge 4.45'te ve şekil 4.25'te gösterilmektedir. Depolama başlangıcında (0. ay), K, BHT, MYE1, MYE2 örneklerinin TBARM sonuçları sırasıyla 0.49, 0.38, 0.44 ve 0.43 iken, depolama boyunca tüm örneklerde giderek artmış ve depolamanın 6. ayında sırasıyla 2.05, 0.76, 0.85 ve 0.82 olmuştur. Depolama sırasında TBARM en fazla K örneklerinde oluşmuş ve özellikle 3. aydan sonra hızlı artmıştır (Çizelge 4.25). BHT, MYE1 ve MYE2 ilavesi TBARM oluşumunu baskılamıştır.

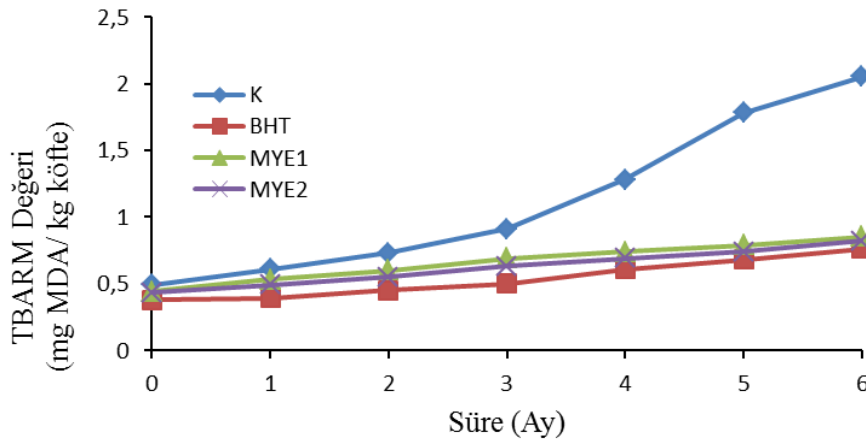
Çizelge 4.45 Dondurularak depolanan köftelerin TBARM (mg MDA/kg köfte) ve uygulama x süre etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (ay)	Uygulama ⁽¹⁾			
	K	BHT	MYE1	MYE2
0	^a 0.49±0.01 _F	^a 0.38±0.04 _C	^a 0.44±0.01 _D	^a 0.43±0.04 _E
1	^a 0.61±0.05 _{EF}	^b 0.39±0.06 _C	^{ab} 0.53±0.04 _{CD}	^{ab} 0.49±0.05 _{DE}
2	^a 0.73±0.08 _E	^b 0.45±0.04 _{BC}	^{ab} 0.60±0.06 _{BC}	^b 0.55±0.04 _{CDE}
3	^a 0.91±0.09 _D	^c 0.50±0.06 _{BC}	^b 0.69±0.08 _{AB}	^{bc} 0.63±0.04 _{BCD}
4	^a 1.28±0.08 _C	^b 0.61±0.06 _{AB}	^b 0.74±0.08 _{AB}	^b 0.69±0.07 _{ABC}
5	^a 1.78±0.11 _B	^b 0.68±0.04 _A	^b 0.79±0.08 _A	^b 0.74±0.04 _{AB}
6	^a 2.05±0.09 _A	^b 0.76±0.03 _A	^b 0.85±0.06 _A	^b 0.82±0.03 _A

⁽¹⁾ Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-c} İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).

^{A-F} İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01).



Şekil 4.20 Dondurularak depolama sırasında köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TBARM sonucuna, depolama süresinin ve köfteye ilave edilen antioksidan kaynaklarının (MYE ve BHT) ve uygulama x süre interaksiyonunun önemli etkisi olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.46). Uygulamanın etkisi incelendiğinde, en yüksekten en düşüğe sıralama K, MYE1, MYE2 ve BHT şeklindedir. K ile diğer uygulamalar arasındaki fark önemli bulunurken ($P<0.01$), MYE1 ve MYE2 örnekleri arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($P>0.01$) (Ek2 Çizelge 18). En düşük TBARM, BHT'li örneklerde saptanmıştır. Sürenin etkisine bakıldığında (Ek 2, Çizelge 18), ilk 2 ay değerleri arasındaki fark önemsiz ($P>0.01$), 3. aydan 6. aya kadar oluşan malonaldehit miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Süre uzadıkça malonaldehit oluşumu artmıştır. İnteraksiyonun etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.45), K örneklerinde ilk 2 ay değerleri arasında önemsiz artışlar ($P>0.01$), 2. aydan sonra ise 6. aya kadara önemli artışlar ($P<0.01$) gözlenmiştir. TBARM miktarı MYE2 örneklerinde İlk 2 ay, 1-3 ay, 4-6 aylar arasında önemsiz ($P>0.01$), 6. ay ile ilk 3 ay değerleri arasında önemli ($P<0.01$) olmuştur. MYE1 örnekleri de MYE2 örneklerinden daha yüksek TBARM değerlerine sahip olmuş ama K örneklerinden daha düşük değerler içermişlerdir. MYE1 örneklerinde TBARM miktarları 0. ay ile 2. ay ve sonraki aylarda önemli düzeylerde artmış ($P<0.01$), 3-6 ay sonuçları arasında ise önemli artışlar olmamıştır ($P>0.01$). TBARM sonuçları en düşük BHT'li örneklerde belirlenmiş ve depolama sırasında çok az artışlar gözlenmiştir. Bu artışlar ilk üç ay, 2-4 aylar ve 4-6. aylar arasında önemsiz düzeylerde ($P>0.01$), başlangıç sonuçları ile (0. ve 1. ay) 4., 5. ve 6. ay sonuçları arasında ise önemli düzeylerde ($P<0.01$) olmuştur. Bu sonuçlar antioksidan uygulamasının dondurularak depolanan köftelerde malonaldehit oluşumunu önemli düzeyde azalttığını göstermiştir.

Çizelge 4.46 Dondurularak depolanan köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Uygulama (U)	3	0.95729	258.85**
Depolama Süresi (S)	6	0.52763	142.67**
UxS	18	0.10796	29.19**
Hata	28	0.00370	
Toplam	55		

** $P<0.01$ düzeyinde önemli.

4.3.10 Duyusal değerlendirme

BHT, MYE1, MYE2 ilave edilen ve antioksidan kaynağı ilave edilmeden üretilen kontrol köfte örneklerinde dondurarak depolama sırasında duyusal özelliklerde meydana gelen değişimler renk, ransit koku, kötü koku ve genel beğeni yönlerinden incelenmiştir. Değerlendirme çiğ örneklerde yapılmıştır.

Dondurularak depolama boyunca örneklerle ait renk puanı değişimi çizelge 4.47’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.47 Dondurarak depolanan köftelerin duyusal değerlendirme puan ortalamaları ve uygulama x depolama süresi etkileşimini gösteren Duncan sonuçları

Süre (gün)	Uygulama ⁽¹⁾				
	K	BHT	MYE1	MYE2	Ort.
Renk					
0	^a 6.60±0.00 _A	^a 6.70±0.14 _A	^a 6.40±0.28 _A	^a 6.40±0.28 _A	6.53±0.21
3	^a 6.40±0.00 _{AB}	^a 6.60±0.00 _A	^{ab} 6.10±0.14 _A	^b 5.60±0.28 _B	6.18±0.42
6	^a 5.90±0.14 _B	^a 5.60±0.28 _B	^a 6.00±0.00 _A	^a 5.40±0.28 _B	5.73±0.30
Ort.	6.30±0.33	6.30±0.56	6.17±0.23	5.80±0.52	
Ransit koku					
0	6.80±0.00	6.80±0.00	6.80±0.00	6.70±0.14	6.78±0.07 _A
3	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00 _A
6	5.70±0.14	6.20±0.57	6.50±0.42	6.40±0.28	6.20±0.44 _B
Ort.	6.50±0.63	6.67±0.45	6.77±0.29	6.70±0.30	
Kötü koku					
0	6.80±0.00	6.80±0.00	6.80±0.00	6.70±0.14	6.40±0.54 _B
3	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00	7.00±0.00 _A
6	5.70±0.14	6.20±0.57	6.50±0.42	6.40±0.28	6.95±0.09 _A
Ort.	6.57±0.73	6.86±0.23	6.88±0.20	6.83±0.27	
Genel beğeni					
0	6.55±0.21	6.50±0.14	6.40±0.00	6.50±0.14	6.49±0.12 _A
3	6.50±0.14	6.50±0.14	6.70±0.14	6.40±0.00	6.53±0.15 _A
6	5.70±0.14	5.90±0.14	6.00±0.57	5.90±0.42	5.88±0.30 _B
Ort.	6.25±0.45	6.30±0.33	6.37±0.41	6.27±0.35	

⁽¹⁾Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

^{a-b}İlgili satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01/P>0.05).

^{A-B}İlgili sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01/P>0.05).

Depolama başlangıcında (0. ay); K, BHT, MYE1 ve MYE2 örneklerinin renk puan ortalamaları sırasıyla 6.60, 6.70, 6.40, 6.40 iken depolamanın 3. ve 6. aylarında giderek düşmüş ve fakat hala iyi düzeyde olup, 6. ayda sırasıyla 5.90, 5.60, 6.00 ve 5.40 olmuştur. Yapılan varyans analizi sonucu; renk puanlarına uygulama, uygulama x süre interaksyonunun %5 düzeyinde, sürenin etkisinin ise %1 düzeyinde etkili olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.48).

Çizelge 4.48 Dondurarak depolanan köftelerin duyusal puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri
Renk			
Uygulama (U)	3	1.0050	8.74*
Depolama Süresi (S)	2	2.5733	33.57**
UxS	6	0.7200	3.13*
Hata	12	0.4600	
Toplam	23		
Ransit koku			
Uygulama (U)	3	0.2317	1.49
Depolama Süresi (S)	2	2.7233	26.35**
UxS	6	0.5433	1.75
Hata	12	0.6200	
Toplam	23		
Kötü koku			
Uygulama (U)	3	0.3669	1.07
Depolama Süresi (S)	2	1.7580	7.69*
UxS	6	0.3438	0.50
Hata	12	1.3709	
Toplam	23		
Genel beğeni			
Uygulama (U)	3	0.0480	0.28
Depolama Süresi (S)	2	2.1308	18.66**
UxS	6	0.1658	0.48
Hata	12	0.6850	
Toplam	23		

*P<0.05, düzeyinde, **P<0.01 düzeyinde önemli.

Renk üzerine uygulamanın etkisi K, BHT ve MYE1 örnekleri arasında önemsiz ($P>0.05$), bu örneklerle MYE2 örnekleri arasında önemli ($P<0.05$) olmuştur. Depolamanın 6. ayında en düşük renk ortalamasına MYE2 (5.80) örnekleri sahip olmuştur (Ek 2, Çizelge 19). Sürenin etkisi her analiz döneminde bir önceki dönemden önemli düzeyde ($P<0.01$) düşük olmuştur (Ek 2, Çizelge 19). Yani süre renk oksidasyonunu artırarak rengin daha az beğenilmesine neden olmuştur. İnteraksiyonun etkisi incelendiğinde, 0. ve 6. ay renk puanları uygulamalar arasında önemsiz ($P>0.05$), 6. ayda K, BHT ve MYE1 örnekleri arasında önemsiz, K ve BHT ile MYE2 örnekleri arasında önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Renk puanları 6. ayda bile beğenilir düzeydedir (Çizelge 4.47).

Dondurularak depolana köftelerin 0., 3. ve 6. ayda ransit koku puan ortalamaları incelendiğinde (Çizelge 4.47), 0. ve 3. aylarda yüksek puanlar verilirken (6.70-7.00), 6. ayda K örnekleri en düşük (5.70), MYE1 örnekleri en yüksek (6.50) puan ortalamasına sahip olmuşlardır. Uygulamanın, depolama süresinin ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisini gösteren varyans analizi sonucu (Çizelge 4.48), sadece depolama süresinin etkisini göstermiştir ($P<0.01$). Bu etki 0. ve 3. aylar arasında önemsiz ($P>0.01$), bu aylarla 6. ay arasında önemli düzeyde ($P<0.01$) olmuştur. Süre uzadıkça (6. ay), ransit koku algılanması artmaktadır. Bununla birlikte hala yüksek puan ortalamaları, dondurarak depolamanın ransit koku oluşumunu geciktirdiğini göstermektedir.

Kötü koku puan ortalamalarına ait sonuçlar çizelge 4.47’de görülmektedir. Depolama başlangıcında tüm örneklerde kötü koku algılanmamış ve 6.40-6.80 aralığında yüksek puanlar verilmiştir. Depolamanın 3. ayında da yüksek puanlar verilmesi, kötü kokunun algılanmadığını, hatta donmuş örneklerde, başlangıç değerlerinden daha yüksek puanlar aldığını (7.00) göstermektedir. Depolamanın 6. ayında ise en düşük puan ortalaması K örneklerde (5.70), en yüksek ise MYE1 örneklerinde (6.50) olmuştur. Yapılan varyans analizi sonucu, kötü koku oluşumuna uygulamanın ve uygulama x süre interaksiyonunun etkisinin önemli düzeylerde olmadığını ($P>0.05$), sürenin etkisinin ise önemli olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir (Çizelge 4.48). Sürenin etkisi, başlangıç ile 3. ve

6. aylar arasında önemli ($P<0.05$), 3. ve 6. aylar arasında önemsizdir ($P>0.05$) (Çizelge 4.47).

Dondurularak depolanan köfte örneklerin çiğ halde genel beğeni puan ortalamaları, depolama başlangıcında 6.40-6.55 aralığında, 6. ayda ise 5.70-6.00 aralığında değişmiştir. Depolamanın 6. ayında K örnekleri 5.70 ile en düşük, MYE1 örnekleri 6.00 ile en yüksek puan ortalamasına sahiptir (Çizelge 4.47). Yapılan varyans analizi sonucu genel beğeni puanlarına depolama süresinin etkili olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.48). Bu etki 0. ve 3. aylar arasında önemsiz ($P>0.01$), bu aylarla 6. ay arasında önemli ($P<0.01$) olmuştur. Yani BHT ve farklı düzeylerde MYE ilavesi köftelerin beğenilmesini olumsuz etkilememiştir.

5. SONUÇ

İki farklı konsantrasyonda (%0.5 ve %1) maviyemiş liyofilize ekstraktı ilavesinin köftelerin soğukta ve dondurularak depolanması sırasında bazı kalite özelliklerine etkileri aşağıda özetlenmiştir;

- ✓ Maviyemişten elde edilen sulu ekstraktlar, liyofilizasyonla konsantre edilerek, etkili bir doğal antioksidan ve antimikrobiyel katkı maddesi elde edilmiştir.
- ✓ TAMB, TAPB ve duyusal analiz sonuçları MYE ilavesi ile soğukta depolanan köftelerin raf ömrünün 2-3 gün uzatılabileceğini göstermiştir.
- ✓ MYE'nin %0.5 ve %1 düzeylerinde ilavesi köftede Enterobacteriaceae grubuna ait türlerin gelişmesini baskılamaktadır ve bu baskılama yüksek konsantrasyonda daha fazla olmaktadır.
- ✓ Antioksidan ilavesi, soğukta depolanan köftelerde lipid oksidasyonunu geciktirmektedir. Birincil oksidasyon ürünü peroksitlerin oluşumunu BHT, MYE1 ve MYE2 aynı düzeyde geciktirmektedir. İkincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu önlemede (TBARM ve *p*-An sonuçları) en etkili antioksidan BHT'dir. BHT'yi aynı etki düzeyinde %0.5 ve %1 MYE izlemektedir.
- ✓ Soğukta depolanan köftelerde ransit koku oluşumunu MYE ilavesi BHT'den daha iyi engellemektedir. Kötü koku oluşumunu MYE ilavesi geciktirmektedir. MYE'li örnekler mikrobiyolojik sonuçlara göre 8. günde, duyusal değerlendirme sonuçlarına göre 10. günde reddedilmiştir.
- ✓ Dondurularak 6 ay depolanan köftelerde en düşük TAMB ve TAPB sayılarına, BHT ilaveli köfteler sahip olmuştur. İki farklı konsantrasyonda MYE ilavesi önemli bir fark oluşturmamıştır. Köftelerin Enterobacteriaceae ve LAB yüklerinde donmuş depolama sırasında gözlenen azalmaya antioksidan

ilavesinin etkisi yoktur. Köfteler 6. ayda bile mikrobiyolojik açıdan iyi durumdadır.

- ✓ Dondurularak depolanan köftelerde, BHT, %0.5 MYE ve %1 MYE ilavesi peroksit oluşumunu eşit düzeyde engellemiştir. İkincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu (*p*-An ve TBARM sonuçları) en fazla BHT engellemektedir. Oksidasyon ürünlerinin oluşumunu MYE1 ve MYE2 de antioksidan içermeyen örneklerden çok daha iyi engellemektedir.
- ✓ Bu çalışma ile maviyemiş ekstraktı ilk kez bir et ürününde kullanılmış, antioksidan ve antimikrobiyel etkisi belirlenmiştir. Bu doğal antioksidan/antimikrobiyel katkı maddesinin diğer et ürünlerinde de etkinliğinin belirlenmesine yönelik çalışmalar gereklidir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, S.Y. 2009. Niçin Üzümsü Meyveler? III. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Sütçü İmam Üniversitesi, 10-12 Haziran, Bildiriler Kitabı, 1-9, Kahramanmaraş.
- Ahn, D. U., Olson, D. G., Lee, J. I., Jo, C., Wu, C. and Chen, X. 1998. Packaging and irradiation effects on lipid oxidation and volatiles in pork patties. *Journal of Food Science*, 63 15-19.
- Ahn, J., Grun, 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.
- Akbulut, M., Baykal, H. ve Şavşatlı, Y. 2014. Rize ili Sütlüce Köyü Ekolojik Koşullarında Farklı Maviyemiş Çeşitleri (*Vaccinium corymbosum* L.) ve Yöreden Selekte Edilen Çay Üzümleri (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Tiplerinin Fenolojik, Pomolojik ve Agronomik Özelliklerinin İncelenmesi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7 (1), 47-52.
- Albuquerque, A. J. R., Silva, P. M. F., Cavalcante, A. L. F. A. and Sampaio, F. C. 2013. Polyphenols as a source of antimicrobial agents against human pathogens, In: *Plant Extracts*. Nova Science Publishers. Giordano, A. And Costa, A. (eds.), 281, Brazil.
- Al-Zoreky, N.S. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 13, 24-28.
- Anonymous, 1986. *Microorganisms in foods.2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications* (2nd ed.), ICMSF. Toronto: University of Toronto Press.
- 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 derivatives* (7th ed.), IUPAC. Oxford. UK: Blackwell Scientific Publications. Method number 2.504. Pp. 143-144
- Anonymous. 1998. *Bacteriological Analytical Manual*. 8th edn., Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg. MD.
- Anonymous, 2000. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Williams, S., Ed., Arlington, VA.
- Anonymous. 2014. Web Sitesi: <http://www.fao.org>, Erişim Tarihi: 19.04.2014
- Arihara, K. 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74 (1), 219-229.

- 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.
- Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I. and Savvaidis, I. N. 2009. Combined effect of vacuum packaging and oregano essential oil on the shelf life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4°C. *Food Microbiology*, 26, 166-172.
- Bailey, M. E. 1988. Inhibition of warmed-over flavor. with emphasis on Maillard reaction products. *Journal of Food Technology*, 42(6), 123-126.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., Dung, N. T., Huh, M. K. and Kang, S. C. 2008. *In vitro* inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora*. *Journal of Food Science*, 73, 314-320.
- Bligh, E. and Dyer, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
- Brewer, M. S. and Harbers, C. A. Z. 1991. Effect of packaging on color and physical characteristics of ground pork in long- term frozen storage. *Journal of Food Science*, 56 (2), 363-370.
- Calvo, M., Dolores Segas, M. and Luisa Garcia, M. 2009. Effects of irradiation and storage on the physico-chemical and sensory properties of hamburgers enriched with lycopene. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (10), 1983-1989.
- Carno, J., Beltran, J. A. and Roscales, P. 2008. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*, 80, 1086-1091.
- Cemeroğlu, B. ve Acar, J. 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 6, 508.
- Cemeroğlu, B., Yemencioğlu, A. ve Özkan, M. 2001. Meyve ve Sebzelerin Bileşimi- Soğukta Depolanmaları. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 24, 328.
- Ceylan, E. and Fung, D. Y. C. 2004. Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12, 1-55.
- Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D. and Stohs, S. J. 2004. Inhibition of *Helicobacter pylori* in vitro by various berry extracts with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265, 19-26.
- Connor, A. M., Luby, J. J., Hancock, J. F., Berkheimer, S. and Hanson, E. J. 2002. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 893-898.

- Côté, J., Caillet, S., Doyon, G., Sylvain, J. F. and Lacroix, M. 2010. Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, 666-679.
- Cushnie, T. P. T. and Lamb, A. J. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38, 99-107.
- Çelik, H. ve Ateş, S. 2009. Kültürü yapılan *Vaccinium* türleri ve sağlık açısından yararları, III. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Sütçü İmam Üniversitesi, 10-12 Haziran, Bildiriler Kitabı, 314-325, Kahramanmaraş.
- Çelik, H. 2012. Türkiye’ de yabanmersini terim karmaşasının çözümü. kültürü yapılan ve yapılmayan *Vaccinium* türleri, IV. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Akdeniz Üniversitesi, 3-5 Ekim, Bildiriler Kitabı, Antalya.
- Çelik, H., Özgen, M. ve Saraçoğlu, O. 2012. Organik ve Standart Olarak Yetiştirilen Bazı Yüksek Boylu Maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* L.) Çeşitlerinin Fitokimyasal İçerikleri ile Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 18, 167-176.
- Çoban, Ö. ve Patır, B. 2010. Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2), 7-19.
- Daglia, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 174-181.
- Dave, D. and Ghaly, A. E. 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510.
- 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, 64 – 72.
- Devatkal, S. K., Naveena, B. M. 2010. Effect of salt. kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goatmeat during refrigerated storage. *Meat Science*, 85(2), 306-311.
- El-Alim, S. S. L. A., Lugasi, A., Ho’va’ri, J. and Dworscha’k, E. 1999. Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 277-285.
- Erkmen, O. ve Bozoğlu, T. F. 2008. Food Microbiology 3. Food preservation. İlke Yayınevi- Gazi Üniversitesi Vakfı, 52- 56, Ankara.

- Ersus, S. ve Yurdagel, Ü. 2006. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Antosiyaninlerin Kimyasal Yapısı ve Stabilitelerini Etkileyen Faktörler (Chemical Composition and Factors Affecting the Stability of Anthocyanins in Fruit and Vegetables). Dünya Gıda, 10, 78-87.
- Ertas, H. 1982. Bazı sucuk, salam ve sosislerin malonaldehit miktarı üzerinde bir çalışma. Gıda, 3, 109-113.
- Ertas, H. 1998. Vakum ambalajlı köftelerin Depolama stabilitesine BHT 'nin ve donmuş depolama süresinin etkileri. Gıda, 23(5), 315-21.
- 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.
- Fernandez-Lopez, J., Sevilla, L., Sayas-Barbera, E., Navarro, C., Marin, F. and Perez-Alvarez, J. A. 2003. Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked pork meat. Journal of Food Science, 68, 660–664.
- Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J. A. and Kuri, V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. Meat Science, 69(3), 371–380.
- Fernández, J. M. and Perez, J. A. 2005. Meat products as functional foods. A Review. Journal of Food Science, 70, 2.
- Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A. and Savvaidis, I. N. 2010. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf life of refrigerated trout fillets. Food Microbiology, 27, 115-121.
- Garrido, M.D., Auqui, M., Marti, N. and Linares, M.B. 2011. Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. LWT-Food Science and Technology, 44, 2238-2243.
- Gallo, M., Ferracane, R. and Naviglio, D. 2012. Antioxidant addition to prevent lipid and protein oxidation in chicken meat mixed with supercritical extracts of *Echinacea angustifolia*. The Journal of Supercritical Fluids, 72, 198-204.
- Gutierrez, J., Rodriguez, G., Barry-Ryan, C. and Bourke, P. 2008. Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: Antimicrobial and sensory screening. Journal of Food Protection, 71, 1846-1854.
- Güven, N. 2010. Düşük Yağlı Hamburger Üretiminde Havuç Lifi Kullanım Olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 82, Ankara

- Ho, C. P., Huffman, D. L., Bradford, D. D., Egbert, W. R., Mikel, W. B. and Jones, W. R. 1995. Storage stability of vacuum packaged frozen pork sausage containing soy protein concentrate. corraegenon or antioxidants. *Journal of Food Science*, 60 (2), 257-261.
- Huang, W. Y., Zhang, H. C., Liu, W. X. and Li, C. Y. 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University Science (Biomedicine & Biotechnology)*, 13, 94-102.
- .
- Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. and Speers, R. A. 1987. Anthocyanins as Food Colorants- A Review. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 201-247.
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramirez, J. D. and Pérez-Pérez, M. C. I. 2011. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 889-894.
- Joshi, S. S., Howell, A. B. and D'Souza, D. H. 2014. *Cronobacter sakazakii* reduction by blueberry proanthocyanidins. *Food Microbiology*, 39, 127-131.
- Kalt, W. 2006. Health benefits of blueberries. In: *Blueberries for Growers, Gardeners and Promoters*. Childers, N.F and Lyrene, P. M. (eds), Dr. Norman F. Childers Publications, 3906, 182-183, N.W.
- Kalt, W., Joseph, J. A. and Shukitt-Hale, B. 2007. Blueberries and human health: A review of current research. *Journal of American Pomological Society*, 61, 151-160.
- Kalt, W., Lawand, C., Ryan, D. A. J., McDonald, J. E., Donner, H. and Forney, C. F. 2003. Oxygen radical absorbing capacity. anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during ripening and storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(6), 917-923.
- Kanatt, S. R., Chander, R., Radhakrishna, P. and Sharma. A. 2005. Potato peel extract-a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed lamb meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1499-1504.
- 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. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science*, 36, 169-174.

- Karpinska, M., Borowski, J. and Danowska-Oziewicz, M. 2000. Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in a freezer. *Nahrung*, 44, 38-41.
- Karpinska, M., Borowski, J. and Danowska-Oziewicks, M. 2001. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chemistry*, 72, 5-9.
- Khayat, A. and Schwall, D. 1983. Lipid oxidation in seafood. *Food Technology*, 37 (7), 130-140.
- Kim, S. J., Cho, A. R. and Han, J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, 29, 112-120.
- Koca, İ. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 121, 447–450.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2005. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30(4), 229-236.
- Labuza, T. P. 1971. Kinetics of Lipid Oxidation in Foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 2, 355.
- Lacombe, A., Wu, V. C., White, J., Tadepalli, S. and Andre, E. E. 2012. The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 30, 124-131.
- Ladikos, D. and Lougovois, V. 1990. Lipid oxidation in muscle foods. *Food Chemistry*, 35, 295-314.
- Lee, C. M., Trevino, B. and Chaiyawat, M. 1996. A simple and rapid solvent extraction method for determining total lipids in fish tissue. *Journal of AOAC International*, 79, 487–492.
- Leygonie, C., Britz, T. J. and Hoffman, L. C. 2012. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91, 93–98.
- Lohachoompol, V., Mulholland, M., Srzednicki, G. and Craske, J. 2008. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, 111, 249-254.
- Lorenzo, J. M., González-Rodríguez, R. M., Sánchez, M., Amado, I. R. and Franco, D. 2013. Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene. BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage “chorizo. *Food Research International*, 54, 611–620.

- McCarthy, T. L., Kerry, J. P., Kerry, J. F., Lynch, P. B. and Buckley, D. J. 2001. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Science*, 57, 177-184.
- Miguel, M. G. 2011. Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01 (06), 7-15.
- Miller, A. J., Ackerman, S. A. and Palumbo, S. 1980. Effects of frozen storage on functionality of meat for processing. *Journal of Food Science*, 45, 1466-1470.
- 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.
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K. and Kerry, J. P. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49, 73-86.
- Moyer, R. A., Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B. and Wrolstad, R. E. 2002. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 519-525.
- Muela, E., Sanudo, C., Campo, M. M., Medel, I. and Beltran, J. A. 2012. Effect of freezing method and frozen storage duration on lamb sensory quality. *Meat Science*, 90(1), 209-215.
- Nile, S. H. and Park, S. W. 2014. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30, 134-144.
- Ntzmani, A. G., Giatrakou, V. I. and Savvaidis, N.I. 2010. Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4°C: Microbiological and sensory evolution. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 187-196.
- Norberto, S., Silva, S., Meireles, M., Faria, A., Pintado, M. and Calhau C. 2013. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. *Journal of Functional Foods*, 5, 1518-1528.
- Ofek, I., Goldhar, J. and Sharon, N. 1996. Anti-*Escherichia coli* adhesin activity of cranberry and blueberry juices. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 408, 179-183.
- Over, K. F., Hettiarachchy, N., Johnson, M. G. and Davis, B. 2009. Effect of organic acids and plant extracts on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* in broth culture model and chicken meat systems. *Journal of Food Science*, 74, 515-521.

- Özdemir, H. 2013. Nar kabuğu ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin köfte kalitesine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 90, Ankara.
- Özdemir, H., Soyer, A., Tağı, Ş. ve Turan, M. 2014. Nar kabuğu ekstraktının antimikrobiyel ve antioksidan aktivitesinin köfte kalitesine etkisi. Gıda, 39 (doi:10.15237/gida.GD14052).
- Özgan, A. 2008. Fonksiyonel yumurta eldesinde üzüm çekirdeği yağının kullanım olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Ana Bilim Dalı 58. Adana.
- Öztan, A. 1993. Et Bilimi ve Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 277, Ankara.
- Park, J. Y., Biswas, R., Phillips, R. D. and Chen, J. 2011. Antibacterial activities of blueberry and muscadine phenolic extracts. Journal of Food Science, 76(2), 101-105.
- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C.C., Sellappan, S. and Krewer, G. 2003. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 5497–5503.
- Perez-Alvarez, J. A., Sayes-Barbare, M. E., Fernandez-Lopez, J. and Aranda-Catala, V. 1999. Physicochemical characteristics of Spanish type dry-cured sausage. Food Research International, 32, 599–607.
- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J. and O'Brien, C. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content maturity and variety of *Vaccinium* species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(7), 2686–2693.
- Peremulla, A. V. S. and Hettiarachchy, N. S. 2011. Green tea and grape seed extracts Potential applications in food safety and quality. Food Research International, 44, 827–839.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Hartmann-Schmidlin, S., Kähkönen, M., Heinonen, M., Määtä-Riihinen, K. and Oksman-Caldentey K., M. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. Journal of Applied Microbiology, 98 (4), 991- 1000.
- Qin, Y. Y., Zhang, Z. H., Li, L., Xiong, W., Shi, J. Y., Zhao, T. R. and Fan, J. 2013. Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract. pomegranate juice. and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. Food Science and Biotechnology, 22(4), 1063-1069.

- Rowe, L. J., Maddock, K. R., O'Lonegan, S. M. and Huff-Lonegan, E. 2004. Influence of early post mortem protein oxidation on beef quality. *Journal of Animal Science*, 82, 785–793.
- Sagdic, O., Öztürk, I., Yilmaz, M.T. and Yetim, H. 2011. Effect of grape pomace extracts obtained from different grape varieties on microbial quality of beef patty. *Journal of Food Science*, 76, 515-521.
- 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-Food Science and Technology*, 41(1), 42-50.
- Sebranek, J. G. 1982. Use of cryogenics for muscle foods. *Food Technology*, 36 (4), 121–127.
- Sellappan, S., Akoh, C. C. and Krewer, G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 50, 2432-2438.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D. and Mir, S. A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21–33.
- Shahidi, F., Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67-103.
- 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.
- Shen, X., Sun, X., Xie, Q., Liu, H., Zhao, Y., Pan, Y., Hwang, C. and Wu, V. C. H. 2014. Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts against the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis*. *Food Control*, 35, 159-165.
- Sherwin, E. R. 1990. Antioxidants. *Food Additives*. AL Brannen. PM Davidson and S Salminen (eds), Marcel Dekker Inc., 139-191, New York.
- Silva, S. Costa, E. M., Pereira, M. F. and Pintado, M. E. 2013. Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control*, 34, 645-650.
- 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.
- Soyutemiz, E. 2000. Et ve et ürünlerinde mikrobiyal bozulmalar. *Dünya Yayınları Gıda Dergisi*, Mart, 52-57.

- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principle and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach, New York: Mc. Graw-Hill.
- Tamil Selvi, A., Joseph, G. S. and Jayaprakasha, G. K. 2003. Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus flavus* by *Garcinia indica* extract and its antioxidant activity. Food Microbiology, 20, 455-460.
- Tang, S. Z., Kerry, J. P., Sheehan, D., Buckley, D. J. and Morrissey, P. A. 2001. Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. Meat Science, 57, 331-336.
- Tang, S., Sheehan, D., Buckley, D. J., Morrissey, P. A. and Kerry, J. P. 2001. Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat. poultry and fish muscle. International Journal of Food Science and Technology, 36, 685-692.
- Tokatlı M. 2013. Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 50 s.
- Vazgeçer, B., Ulu, H. ve Öztan, A. 2005. Et ve et ürünlerinde baharatın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. Gıda, 30 (2), 75-81.
- Wang, H., Cao, G. and Prior, R. L. 1996. Oxygen radical absorbing capacity of antocyanins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 304-309.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 304-309.
- Wang, X. Y., Gao, X. L. and Mai, E. M. 2008. Advances in pharmacological studies of *Punica granatum* L., China Medical Herald, 5, 13-15.
- Wang, S. Y., Camp, M. J. and Ehlenfeldt, M. K. 2012. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. Food Chemistry, 132, 1759-1768.
- Wanous, M. P., Olson, D. G. and Kraft, A. A. 1989. Oxidative effects of meat grinder wear on lipids and myoglobin in commercial fresh pork sausage. Journal of Food Science, 54(3), 545-548.
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V. and Solminen, H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. Meat Science, 86, 196-213.
- Wen, A., Delaquis, P., Stanich, K. and Toivonen, P. 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. Food Microbiology, 20, 305-311.

- Xiong, Y. L. 2000. Protein oxidation and implications for muscle food quality. In: Antioxidants in Muscle Foods. E. A. Decker, Faustman, C. and Lopez-Bote, C. J. (eds.) Wiley, 85–111, New York.
- Yalçın, H., Yıldız, H. ve Nergiz, C. 1997. Baharatların kimyasal bileşimi ve gıda sanayiinde kullanımı. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi Seri B Gıda Mühendisliği, 15(1-2), 219-228.
- Yıldız, H. ve Baysal, T. 2003. Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri. Gıda Mühendisliği Dergisi, Mayıs, 29-35.
- Yousef, G. G., Brown, A. F., Funakoshi, Y., Mbeunkui, F., Grace, M. H. and Ballington, J. R. 2013. Efficient quantification of the health-relevant anthocyanin and phenolic acid profiles in commercial cultivars and breeding selections of blueberries (*Vaccinium spp.*). Journal of Agriculture and Food Chemistry, 61, 4806–4815.
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E. J. and Ahn, D.U. 2010. Improving functional value of meat products. Meat Science, 86, 15-31.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry, 64, 555-559.
- Zhou, G. H., Xu, X. L. and Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. Meat Science, 86(1), 119-128.
- Zorba, Ö. ve Kurt, Ş. 2005. Yüksek Basınç Uygulamalarının Et ve Et Ürünleri Kalitesi Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(1), 71-76.

EKLER

EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu

EK 2 Araştırma verilerinin Duncan sonuçları

EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu

Panelistin Adı Soyadı:

Tarih:

*Formu doldurmadan önce “Notlar” kısmını okuyunuz.

KÖFTE DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Örnek Kodu	Renk	Koku (Acılaşma)	Koku (Kokuşma)	Koku (Kötü Koku)	Genel Beğeni

Puanlama 1-7 aralığında yapılacaktır. Değerlendirme puanınızı, ilgili özelliğin bulunduğu kutucuğa yazınız. 7; Çok iyi , 1; Çok kötü

Notlar

Renk : Hoşa gider tipik köfte rengi.

Koku (acılaşma) : koklayarak algılanan acılaşma kokusu.

Koku (kokuşma) : Koklayarak, yüzeyde yapışkanlaşmaya bağlı olarak algılanan kokuşma kokusu.

Koku (Kötü koku) : Koklayarak, algılanan arzu edilmeyen koku.

Genel beğeni : Tüm kriterler dikkate alınarak yapılan değerlendirme.

Düşünceler:

EK 2 Araştırma Verilerinin Duncan Sonuçları

Çizelge 1 Soğukta depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	18	6.60±1.51a
BHT	18	5.91±1.15b
MYE1	18	5.81±1.20c
MYE2	18	5.72±1.14d
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	4.64±0.13h
1	8	4.68±0.04h
2	8	5.03±0.21g
3	8	5.34±0.29f
4	8	5.72±0.80e
5	8	6.30±0.76d
6	8	6.80±0.90c
8	8	7.40±0.52b
10	8	8.17±0.18a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 2 Soğukta depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	18	6.08±1.75a
BHT	18	5.42±1.71b
MYE1	18	5.30±1.63c
MYE2	18	5.20±1.55d
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	3.32±0.18h
1	8	3.35±0.17h
2	8	4.35±0.22g
3	8	4.87±0.62f
4	8	5.48±0.84e
5	8	6.13±0.59d
6	8	6.59±0.50c
8	8	7.29±0.41b
10	8	8.12±0.15a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 3 Soğukta depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	18	5.02±1.30a
BHT	18	4.42±0.79b
MYE1	18	4.23±0.64c
MYE2	18	4.22±0.59c
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	3.82±0.03ef
1	8	3.82±0.13ef
2	8	3.75±0.19e
3	8	4.00±0.20e
4	8	4.19±0.29d
5	8	4.34±0.63d
6	8	4.69±0.74c
8	8	5.64±0.86b
10	8	5.99±0.72a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 4 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	18	3.39±0.88a
BHT	18	2.73±0.52b
MYE1	18	2.55±0.50c
MYE2	18	2.43±0.53d
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	2.20±0.36e
1	8	2.16±0.31e
2	8	2.31±0.14e
3	8	2.45±0.12e
4	8	2.75±0.69d
5	8	2.69±0.71d
6	8	3.18±0.52c
8	8	3.53±0.48b
10	8	3.73±0.66a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 5 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	0.87±0.35a
BHT	10	0.58±0.15b
MYE1	10	0.59±0.11b
MYE2	10	0.58±0.10b
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	0.62±0.30b
2	8	0.75±0.32a
4	8	0.72±0.16a
6	8	0.74±0.06a
8	8	0.46±0.11c

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 6 Soğukta depolanan köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	14.59±3.13c
BHT	10	17.47±2.24b
MYE1	10	19.53±4.61a
MYE2	10	19.19±3.18a
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	15.58±2.56c
2	8	16.66±0.96bc
4	8	17.41±2.52b
6	8	19.32±4.58a
8	8	19.51±5.75a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 7 Soğukta depolanan köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		0.82±0.23a
K	10	0.55±0.05c
BHT	10	0.62±0.09b
MYE1	10	0.61±0.17b
MYE2	10	
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	0.49±0.07e
2	8	0.56±0.08d
4	8	0.64±0.09c
6	8	0.73±0.13b
8	8	0.83±0.24a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 8 Soğukta depolanan köftelerin renk puanında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	4.06±2.73c
BHT	10	4.82±2.48b
MYE1	10	5.60±1.03a
MYE2	10	5.46±1.06a
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	6.80±0.11a
3	8	6.53±0.54a
6	8	5.47±0.57b
8	8	3.63±1.85c
10	8	2.50±1.61d

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 9 Soğukta depolanan köftelerin ransit koku puanında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	3.52±2.69c
BHT	10	4.74±2.44b
MYE1	10	5.88±1.28a
MYE2	10	5.89±1.14a
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	7.00±0.00a
3	8	6.60±0.33b
6	8	5.16±1.65c
8	8	3.83±2.06d
10	8	2.42±1.53e

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 10 Soğukta depolanan köftelerin kötü koku puanında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	3.47±2.89c
BHT	10	4.68±2.77b
MYE1	10	5.57±2.12a
MYE2	10	5.58±1.97a
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	7.00±0.00a
3	8	6.90±0.21a
6	8	5.22±2.16b
8	8	3.58±2.26c
10	8	1.42±0.50d

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 11 Soğukta depolanan köftelerin genel beğeni puanında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	10	3.25 ±2.67c
BHT	10	4.52 ±2.82b
MYE1	10	5.45 ±2.07a
MYE2	10	5.42 ±1.95a
Süre (gün) ⁽¹⁾		
0	8	6.95 ±0.05a
3	8	6.48 ±0.49b
6	8	5.03 ±2.12c
8	8	3.46 ±2.37d
10	8	1.38 ±0.42e

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 12 Dondurularak depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	6	4.58±0.29a
BHT	6	3.81±0.52c
MYE1	6	4.11±0.39b
MYE2	6	3.96±0.42bc
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	4.53±0.10a
3	8	4.07±0.49b
6	8	3.74±0.40c

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 13 Dondurularak depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	6	3.79±0.40a
BHT	6	3.62±0.58b
MYE1	6	3.80±0.38a
MYE2	6	3.73±0.51a
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	4.33±0.06a
3	8	3.48±0.14b
6	8	3.39±0.14c

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 14 Dondurularak depolanan köftelerin L* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ^{(1)*}		
K	14	41.16±2.36a
BHT	14	41.78±1.44a
MYE1	14	39.82±1.82b
MYE2	14	38.53±1.71b
Süre (ay) ^{(1)**}		
0	8	40.83±2.63ab
1	8	39.72±2.74bc
2	8	39.43±1.50c
3	8	41.56±2.26ab
4	8	41.32±2.37a
5	8	41.18±1.16ab
6	8	41.19±1.77a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (*P<0.01, ** P<0.05)

Çizelge 15 Dondurularak depolanan köftelerin a* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	14	11.25±3.03b
BHT	14	13.23±3.95a
MYE1	14	13.89±2.78a
MYE2	14	14.91±2.75a
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	16.62±1.81a
1	8	15.23±0.66ab
2	8	14.80±0.94b
3	8	13.19±0.77c
4	8	11.95±0.56d
5	8	11.56±0.58d
6	8	9.87±1.79e

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 16 Dondurularak depolanan köftelerin b* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	14	13.31±1.29b
BHT	14	15.59±1.61a
MYE1	14	11.13±1.77c
MYE2	14	9.74±1.25d
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	14.13±2.80a
1	8	12.65±2.53a
2	8	12.37±1.90b
3	8	12.15±2.14b
4	8	12.37±2.65b
5	8	11.85±1.63b
6	8	11.70±1.39b

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 17 Dondurularak depolanan köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	14	36.18±9.79a
BHT	14	16.19±2.28d
MYE1	14	26.14±4.58b
MYE2	14	22.55±4.04c
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	18.22±3.95f
1	8	20.10±5.05e
2	8	22.28±6.12d
3	8	25.65±7.94c
4	8	28.12±8.73b
5	8	30.63±11.02a
6	8	31.83±12.16a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 18 Dondurularak depolanan köftelerin TBARM değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	14	1.12±0.58a
BHT	14	0.54±0.15c
MYE1	14	0.66±0.15b
MYE2	14	0.62±0.14b
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	0.43±0.05e
1	8	0.50±0.09e
2	8	0.58±0.12e
3	8	0.68±0.17d
4	8	0.83±0.29c
5	8	1.00±0.49b
6	8	1.12±0.58a

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

Çizelge 19 Dondurularak depolanan köftelerin renk puanında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları

Faktör	n	Ortalama±std. sapma
Uygulama ⁽¹⁾		
K	6	6.30±0.33a
BHT	6	6.30±0.56a
MYE1	6	6.17±0.23a
MYE2	6	5.80±0.52b
Süre (ay) ⁽¹⁾		
0	8	0.53±0.21a
3	8	6.18±0.42b
6	8	5.73±0.30c

⁽¹⁾Farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.01)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Fatma IŞIKCI

Doğum Yeri :Karaman

Doğum Tarihi :13.03.1986

Medeni Hal :Bekar

Yabancı Dili :İngilizce

Eğitim Durumu

Lise :Konya/ Ereğli Anadolu Lisesi, 2004

Lisans :Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2010

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Aralık 2014

Çalıştığı Kurum

Etimesgut İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Mart 2011-