

## BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN DONDURULARAK DEPOLANAN USKUMRU (*SCOMBER SCOMBRUS*) KIYMASINDAKİ KALİTE DEĞİŞİMLERİNE ETKİSİ

Berna Özalp Özen<sup>1\*</sup>, Ayla Soyer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Atatürk Orman Çiftliği Müdürlüğü, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 27.02.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 05.05.2016

Kabul tarihi / Accepted: 05.06.2016

### Özet

Bu çalışmada, dondurularak depolanan uskumru kıymasının bazı kalite özelliklerine yeşil çay (YÇE), üzüm çekirdeği (ÜÇE) ve nar kabuğu (NKE) ekstraktlarının etkisi incelenmiştir. Bitkisel ekstraktların fenolik madde miktarları dikkate alınarak, son üründe toplam fenolik madde miktarı 100 mg/kg olacak şekilde örnekler hazırlanmıştır. Donmuş depolama sırasında bitkisel ekstraktların etkinliği, sentetik antioksidan (BHT) içeren ve hiçbir katkı içermeyen kontrol (K) örnekler ile karşılaştırılmıştır. Bitkisel ekstrakt ilavesi ve dondurma işlemi birlikte toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısını azaltmıştır ( $P<0.01$ ). Depolama sonunda TAPB sayısı en düşük NKE ilaveli örneklerde ( $3.23 \log \text{KOB/g}$ ) belirlenmiştir ( $P<0.01$ ). Ekstrakt ilavesi, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve trimetilamin nitrojeni (TMA-N) oluşumunu sınırladığıdır ( $P<0.01$ ). TAPB sayısı, TMA-N ve TVB-N miktarları dikkate alındığında nar kabuğu ekstraktı ilavesi dondurularak depolanan kıyma uskumruların kalitesini korumada altı ay süreyle etkili olmuştur. Elde edilen sonuçlar, NKE ve ÜÇE'nin dondurularak depolanan uskumru kıymasının kalitesinin daha uzun süre korunması açısından uygun doğal antimikrobiyel katkıları olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yeşil çay ekstraktı, nar kabuğu ekstraktı, üzüm çekirdeği ekstraktı, uskumru, kalite, donmuş depolama.

## EFFECTS OF PLANT EXTRACTS ON QUALITY ALTERATION IN MACKEREL (*SCOMBER SCOMBRUS*) MINCE DURING FROZEN STORAGE

### Abstract

The effect of green tea (GTE), grape seed (GSE) and pomegranate rind (PRE) extract addition on quality of mackerel mince during frozen storage were investigated. Considering the quantity of plant materials phenolic content, total phenolic content of the final product was adjusted to 100 mg/kg for mince samples. Effect of plant extracts was compared with a synthetic antioxidant (BHT) and control (without any antioxidant) mince samples. Freezing process and extract treatment slowed down microbial growth ( $P<0.01$ ). At the end of frozen storage, PRE samples significantly lowered ( $3.23 \log \text{CFU/g}$ ) total viable count than other samples ( $P<0.01$ ). The increase in total volatile basic nitrogen (TVB-N) and trimethylamine nitrogen (TMA-N) contents was limited by extract addition during frozen storage ( $P<0.01$ ). According to microbial growth, and TMA-N and TVB-N contents, pomegranate rind extract retained their good quality characteristics of mackerel mince during six months of frozen storage. Among the plant extract sources used in the study, GSE and PRE had better results than GTE for prolonged protection of the quality during storage.

**Keywords:** Green tea extract, pomegranate rind extract, grape seed extract, mackerel, quality, frozen storage.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ bozalpozen@hotmail.com,

☎ (+90) 312 211 0262,

☎ (+90) 312 211 0262

## GİRİŞ

Gıdaların düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmeleri, bir taraftan mikroorganizmaların çoğalmalarını ve faaliyetini yavaşlatırken diğer taraftan kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların hızını sınırlayarak gıdaların bozulmalarını geciktiren bir uygulamadır. Düşük sıcaklıklarda muhafaza, üründe istenmeyen mikrobiyolojik değişimleri sınırlamakta ve biyokimyasal reaksiyonları geciktirmektedir. Bununla birlikte uzun depolama sürelerinde, ürünün niteliğine bağlı olarak bazı kalite kayıpları meydana gelmektedir. Düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen balıklarda kalite kaybına neden olan en önemli faktörler mikrobiyolojik faaliyet, lipid oksidasyonu, protein oksidasyonu ve protein denatürasyonudur. Avlandıktan sonra su ürünlerinde kalite, otolitik faaliyetlerle, sonradan kontamine olan mikroorganizmaların çoğalması ve proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin kaybolması nedenleriyle hızla azalmaktadır (1, 2). Balıkta meydana gelen otoliz, peptidlerin ve serbest aminoasitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Meydana gelen bu bileşikler mikrobiyel çoğalma için uygun besin ortamını oluşturarak üründe kalite kayıplarına neden olmaktadır. Balık etinde meydana gelen bakteriyel bozulma et renginin de değişmesine yol açarak duysal kalitenin azalmasında etkilidir (3). Balık etinde depolama ömrünü uzatmak amacıyla sentetik katkı maddelerinin kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır (4-6). Sentetik katkı maddelerinin [Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), tersiyer bütill hidroksi kinon (TBHQ)] karsinojenik etkilerinin ortaya konulması (7, 8), doğal kaynakların kullanımını gündeme getirmiştir. Bu amaçla yüksek oranda antimikrobiyel ve antioksidan özellik gösteren bitkisel ekstraktların kullanılmasına yönelik çalışmalar artmıştır (9-16). Balıkların taze olarak raf ömürleri genel olarak balığın başlangıç mikroorganizma sayısına ve depolama koşullarına bağlı olmakla birlikte oldukça sınırlıdır. Balık etlerinin de diğer gıdalar gibi, tüketime hazır gıda haline getirilmesi için depolama sırasında yaşanan problemlerin ve ekonomik kayıpların azaltılmasına yönelik araştırmalar önemlidir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda geliştirilecek yeni ürünlerin uzun raf ömrüne sahip olmaları, balık etininin her yerde ve her mevsim tüketilmesine imkan sağlayacaktır. Bu açıdan dondurularak depolanan yağlı balıklarda

antioksidan ve antimikrobiyel etkiye sahip doğal kaynakların et kalitesi üzerine etkilerinin belirleneceği araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, şarap üretiminde yan ürün olarak ortaya çıkan üzüm çekirdeği, nar suyu üretiminde yan ürün olarak ortaya çıkan nar kabuğu ve yeşil çay kullanılarak hazırlanan ekstraktların kıyma uskumruya ilave edilmesi ve donmuş depolama süresince bu ekstraktların mikrobiyel yüke, TVB-N, TMA-N oluşumuna, renk ve duysal özelliklere etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Et materyali

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

### Bitkisel ekstraktlar

Araştırmada doğal ekstrakt kaynağı olarak laboratuvarında hazırlanan yeşil çay, nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ekstraktları kullanılmıştır. Yeni hasat edilmiş yeşil çay (*Camellia sinensis*) yaprakları, vakum ambalaj içerisinde Rize'den getirilmiştir. Üzüm çekirdekleri Kavaklıdere Şarap A.Ş.'den (Ankara) temin edilmiştir. Bu amaçla, Kalecik Karası (*Vitis vinifera*) üzümlerin şaraba işlenmesinden sonra geride kalan atığın kurutulması ile elde edilen çekirdekler kullanılmıştır. Nar kabuğu ekstraktı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde nar meyvelerinin (*Punica granatum*) nar suyuna işlenmesinden sonra geride kalan kabuklar kullanılarak hazırlanmıştır. Araştırmada sentetik antioksidan kaynağı olarak ise bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

### Bitkisel ekstraktlarının hazırlanışı

Bitkisel ekstraktların elde edilmesinde Naveena vd. (17) tarafından önerilen ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Taze olarak elde edilen yeşil çay yaprakları ve nar kabukları yaklaşık 1 cm<sup>2</sup> boyutlarındaki parçalara ayrıldıktan sonra, üzüm

çekirdekleri ise elde edildiği şekli ile 60°C'deki etüvde kurutulmuştur. Kurutma işlemi yeşil çay yaprakları için 3 saat, üzüm çekirdekleri için 12 saat ve nar kabukları için ise 48 saat sürmüştür. Kurutma süresinin belirlenmesinde kurutulmuş materyalin kolaylıkla öğütülebileceği nem düzeyine kadar kurutulması esas alınmıştır. Kurutulmuş materyal, yüksek yoğunluklu polietilen ambalaj materyali ile ambalajlandıktan sonra ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilene kadar -40°C'deki derin dondurucuda (MDF-U5411 Model, Sanyo, Kore) depolanmıştır. Ekstraksiyon işleminden önce, kurutulmuş materyal laboratuvar tipi değirmende öğütülmüştür. Ekstraksiyon çözeltisi olarak destile su kullanılmıştır. 20 g kurutulmuş ve öğütülmüş nar kabuğu ve üzüm çekirdeği ile 40 g yeşil çay, 500 mL kaynamış haldeki destile su ile çalkalanmalı su banyosunda 5 dakika süre ile çalkalanmıştır. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra hızla soğutulmuş denemede kullanılmıştır. Hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Singleton ve Rossi (18) tarafından geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemiyle karakterize edilmiştir. Denemede kullanılan YÇE'nin 22.08 g gallik asit eşdeğeri/kg, NKE'nin 114.27 g gallik asit eşdeğeri/kg, ÜÇE'nin ise 33.75 g gallik asit eşdeğeri/kg düzeyinde fenolik madde içerdiği belirlenmiştir. Denemenin kurulması sırasında ürüne ilave edilecek bitkisel ekstraktların miktarları, son üründe toplam fenolik madde miktarı 100 mg/kg olacak şekilde ayarlanmıştır.

### Balık Kıymalarının Hazırlanışı

Solungaç, sindirim içeriği, kılçık vs.den arındırılıp soğuk su ile yıkanan balıklardan derili filetolar yapılmıştır. Elde edilen filetolar 4 mm çaplı kıyma makinesi (Moulinex, Fransa) aynasından geçirilerek kıyma haline getirilmiş ve 5 gruba ayrılmıştır. Üç gruba daha önceden belirlenen düzeylerde yeşil çay (YÇE), nar kabuğu (NKE) ve üzüm çekirdeği (ÜÇE) ekstraktları, dördüncü gruba sentetik antioksidan olarak BHT ilave edilmiştir. BHT'nin su ile karışabilen çözeltisini hazırlamak amacıyla etil alkol (%96, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Beşinci gruba ise antioksidan kaynağı ilavesiz kontrol grubu (K) oluşturulmuştur. Oluşturulan tüm gruplar beş dakika elle yoğrulmuş ve 9 cm çap ve 1.5 cm kalınlıkta

(yaklaşık 90 g ağırlık) şekillendirilmiştir. Paslanmaz çelik, delikli tepsilere dizilen örnekler, -18°C sıcaklığa dondurulmuştur. Dondurma işlemi, hava akımlı dondurucuda (FRIGOSCANDIA LABoFREEZE, İsveç) sabit hava hızında (2.5 m/s) gerçekleştirilmiştir. Dondurma işlemi için dondurucu kabin iç sıcaklığı -35°C'ye ayarlanmıştır. Tepsidaki örneklerden ortadaki birinin merkezine, üst ve alt yüzeylerine 3 adet thermo-couple yerleştirilerek sıcaklık düşüşü dijital göstergeli kaydedici ile takip edilmiştir. Ulaşılmak istenen son sıcaklık (-18°C) için dengeleme, strafor termos kaplarda yapılmıştır. Örnekler yüksek yoğunluklu polietilen torbalara yerleştirilerek -18°C'de 6 ay depolanmıştır.

### Kıyma Örneklerde Yapılan Analizler

#### Toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısı

Hazırlanan örneklerden aseptik koşullarda 10 g alınıp, steril Stomacher poşetlere konulmuş ve üzerine 90 mL steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (% 1 pepton, % 0.5 NaCl) ilave edilerek, stomacherde (Seward 400 Londra, İngiltere) 230 rpm'de 2.5 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojenattan steril peptonlu fizyolojik su ile ardışık dilüsyonlar hazırlanarak, steril petri kutularına dökme yöntemiyle ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak Plate Count Agar (Merck) kullanılmış, petriler 4°C'de 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. Sonuçlar log KOB/g et olarak verilmiştir (19).

#### Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) miktarı

Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) miktarı, Goulas ve Kontominas (20) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Homojen hale getirilen balık etinden 10 g tartılmış ve 50 mL destile su ile homojenize edilmiştir. Karışım 200 mL destile su kullanılarak kjeldahl balonuna aktarıldıktan sonra 2 g MgO ilave edilmiş ve köpürmeyi önlemek amacıyla 1-2 damla silikon yağı damlatılmıştır. Destilasyon ünitesinin çıkış borusuna, içerisinde 25 mL %3'lük borik asit ve 0.04 mL metil kırmızısı/metilen mavisi indikatörü ilave edilmiş erlenmayer yerleştirilerek destilasyon başlatılmıştır. Destilasyon işlemine erlenmayerde 125 mL destilat toplanıncaya kadar devam edilmiş, elde edilen destilat, 0.1 N HCl çözeltisi ile titre edilmiştir. Örnekteki TVB-N miktarı "mg/100g et" olarak hesaplanmıştır.

### **Trimetilamin nitrojeni (TMA-N) miktarı**

Trimetilamin nitrojeni miktarı, Boland ve Paige (21)'in önerdiği yonteme göre belirlenmiştir. Homojen hale getirilen 10 g örnek, 90 mL % 7.5'lik triklorasetik asit ile karıştırılmış, 4 mL homojenat bir test tüp içerisine aktarılmıştır. Üzerine 1 mL formaldehit, 10 mL susuz toluen ve 3 mL potasyum karbonat çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. Tüp içerisinden 5 mL toluen fazı alınarak bir başka test tüpüne aktarılmış, üzerine 5 mL pikrik asit çalışma çözeltisi (%0.02'lik) ilave edilmiştir. İçerik vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra 410 nm'ye ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, CA, ABD) şahite karşı okunmuştur. TMA-N miktarı, trimetilamonyum hidroklorür (Merck, Almanya) kullanılarak hazırlanan standart eğri yardımıyla "mg/100g et" olarak hesaplanmıştır.

### **Renk ölçümü**

Örneklerin yüzey renkleri, Minolta renk ölçüm cihazı (Minolta CR-400, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Renk ölçümünde kullanılacak dondurulmuş örnekler buzdolabında bir süre bekletilerek buz tabakası tamamen çözündürüldükten sonra yüzeyden üç farklı noktada renk ölçümü yapılmıştır. Ölçüm sonucunda CIE  $L^*$  (parlaklık),  $a^*$  (kırmızılık),  $b^*$  (sarılık) değerleri belirlenmiştir.

### **Duyusal değerlendirme**

Hazırlanan örnekler donmuş depolama süresinin başında ve sonunda çiğ olarak duysal analize tabi tutulmuştur. Örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme için kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Örnekler iyice havalandırılmış duysal analiz laboratuvarında, sarı ışık altında taze balık, ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokuları yönlerinden değerlendirilmiştir. Değerlendirmede 10 puanlı hedonik ölçek kullanılmıştır. Taze balık kokusu özelliği değerlendirilirken, 10 puan özelliğin yoğun olarak algılandığı, 0 puan ise özelliğin hiç algılanmadığı kabul edilmiş; ransit, yağsı, boya ve kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu özellikleri değerlendirilirken ise, 10 puan özelliğin hiç algılanmadığı, 0 puan ise yoğun olarak algılandığı kabul edilerek değerlendirme yapılmıştır (22).

### **İstatistik analiz**

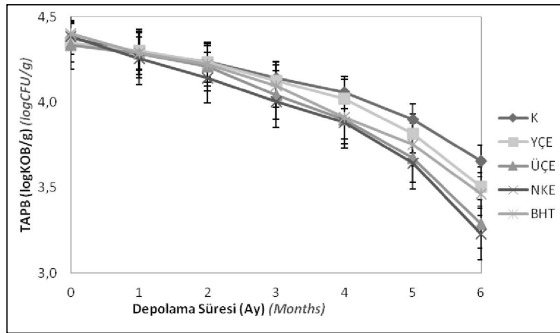
Depolama süresince uskumru kıymasına ilave edilen bitkisel ekstraktların seçilen kalite özelliklerine etkileri tesadüf parselleri deneme tertibinde faktöriyel düzende varyans analizi tekniği uygulanarak değerlendirilmiştir. Araştırma sırasında elde edilen veriler, deneme desenine uygun olarak hazırlanan tablolar halinde Minitab® paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucuna göre gruplar arası farklılıklar önemli bulunduğu, Duncan çoklu karşılaştırma testi (MSTAT) kullanılarak farklılıklar gösterilmiştir (%1 veya %5) (23). İstatistik değerlendirme, her bir tekerrürde aynı analiz için belirlenen 2 paralelin ortalaması üzerinden ve 2 tekerrür ortalaması dikkate alınarak yapılmıştır. Renk tayininde her bir tekerrürde 3 farklı noktada okuma yapılmış ve 2 tekerrür ortalaması alınarak istatistik değerlendirmede kullanılmıştır. Deneme kapsamında çalışılan parametreler arasındaki korelasyonlar Pearson korelasyon katsayısı (R) analizi ile MINITAB (Windows Release 13® MINITAB, 2000) programı kullanılarak belirlenmiştir.

### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

#### **Toplam aerob psikrofil bakteri sayısı**

Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama süresince belirlenen TAPB sayısı (logKOB/g et) şekil 1'de görülmektedir. TAPB sonuçları incelendiğinde, tüm örneklerde uzayan depolama süresine bağlı olarak azalma olduğu görülmektedir. Depolama süresinin başlangıcında 4.37 logKOB/g et olan TAPB sayısı, 6 ay sonunda 3.43 logKOB/g et bulunmuştur. TAPB sayısında meydana gelen bu azalmanın, dondurma işleminin mikroorganizmalar üzerine olan tahrip edici etkisinden ve uygulanan antioksidan kaynaklarının antibakteriyel aktivitelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolama süresinin başında gruplar arasında psikrofil mikroorganizma yükü açısından farklılık olmadığı ( $P>0.01$ ), 6 aylık depolama süresi sonunda ise K grubu örneklerin en yüksek TAPB sayısına sahip olduğu (3.66 logKOB/g et), bunu sırasıyla YÇE (3.51 logKOB/g et), BHT (3.46 logKOB/g et), ÜÇE (3.29 logKOB/g et) ve NKE (3.23 logKOB/g et) içeren grupların izlediği belirlenmiştir ( $P<0.01$ ).

Balıkta gıda güvenliği açısından izin verilen mikrobiyel yük 6.0 logKOB/g et'dir (24). Elde edilen sonuçlar ÜÇE ve NKE ilavesinin depolamanın 3. ayından itibaren etkili olduğunu ve diğer gruplara kıyasla ÜÇE VE NKE uygulanan balıkların daha düşük mikrobiyel yüke sahip oldukları belirlenmiştir. Bu durumun ÜÇE ve NKE'nın yüksek antimikrobiyel aktivitesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. ÜÇE ve NKE'nın antimikrobiyel etkisi soğukta depolanan birçok et ve et ürünüde ortaya konmuştur (25, 26, 27). Özoğul ve Uçar (28) -18°C'de dondurularak depolanan kolyoz burgerlerinin kalitesine doğal ekstraktların (kekik, yeşil çay, adaçayı ve defne ekstraktı) etkisini araştırdıkları çalışmada, toplam psikrofil sayısının uzayan depolama süresine bağlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, %0.6 düzeyinde uygulanan kekik ve yeşil çay ekstraktının toplam psikrofil sayısını azaltmada diğer uygulamalardan daha etkili olduğu da gösterilmiştir (28). Uljas ve Ingham (29), dondurma işlemi sırasında oluşan buz kristallerinin bakterilerin hücre zarlarına zarar vermesine bağlı olarak depolama sırasında psikrofilik bakteri sayısının azaldığını belirlemişlerdir. Doğal ekstraktların antimikrobiyel etkilerinin gıda uygulamalarında azaldığı, düşük pH değerine sahip gıdalarda söz konusu etkinin daha yüksek olduğu ve ekstraktın gıda içerisindeki çözünürlüğü veya dokuya penetrasyonunun antimikrobiyel aktiviteyi önemli düzeyde etkilediği bilinmektedir (30, 31).



Şekil 1. Bitkisel ekstrakt ilavesinin ve dondurularak depolama süresinin uskumru kıymasının toplam aerob psikrofil bakteri (TAPB) sayısına etkisi

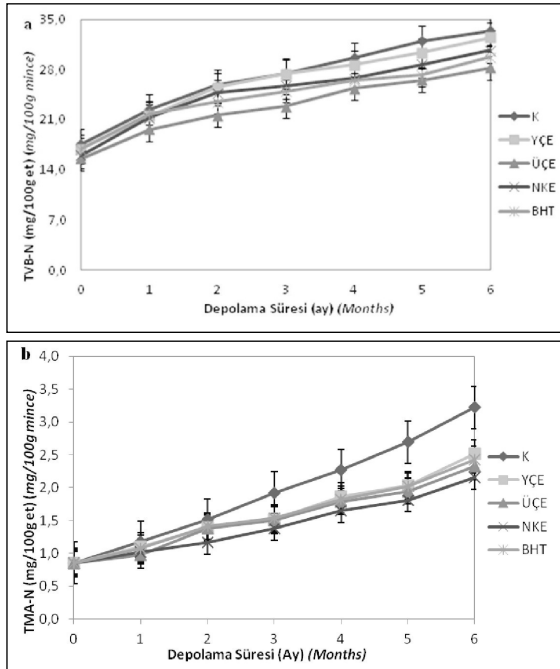
Figure 1. Effects of natural extracts and frozen storage on total aerobic psychrotrophic bacteria (TAPB) counts in minced mackerel.

### Toplam uçucu bazik nitrojen ve trimetilamin nitrojeni miktarı

Farklı bitkisel ekstraktlar ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama süresince belirlenen

TVB-N ve TMA-N miktarları şekil 2'de verilmiştir. Depolama süresi uzadıkça örneklerin TVB-N ve TMA-N miktarlarının arttığı belirlenmiştir. TVB-N oluşumuna ÜÇE ve NKE ilavesinin etkisi depolama başlangıcında görülmüş ve bu örneklerin TVB-N içerikleri diğer örneklerden önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Donmuş depolama sonunda ise K (33.43 mg/100 g et) örneklerin en yüksek TVB-N miktarına sahip olduğu, bunu sırasıyla YÇE (32.44 mg/100 g et), NKE (30.68 mg/100g et), BHT (29.70 mg/100 g et) ve ÜÇE (28.22 mg/100 g et) içeren grupların izlediği tespit edilmiştir ( $P<0.01$ ). Genellikle TVB-N miktarı 100 g ette 35-40 mg düzeylerine ulaştığında balık bozulmuş olarak nitelendirilmektedir (32). Özoğul vd. (33) morina türü balıklar için TVB-N limit değerinin 30 mg/100 g et olduğunu, 6 ay süre ile depolanan sardalya filetolarında bu sınır değerini aşılmadığını, TVB-N değeri açısından 2 dakika süre ile uygulanan %2 biberiye ekstraktının diğer uygulamalara kıyasla daha etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada, kritik limit 35 mg TVB-N/100 g balık olarak kabul edilirse, donmuş depolama esnasında bu sınırın aşılmadığı, altı aylık depolama sonrasında tüm örneklerin TVB-N miktarı açısından tüketime uygun oldukları belirlenmiştir. Depolama süresince K örneklerin TMA-N miktarlarının diğer örneklerden yüksek, NKE uygulanan örneklerin ise düşük olduğu şekil 2b'de görülmektedir. Depolama süresinin başında örnekler arasında farklılık olmadığı ( $P>0.01$ ), uzayan depolama süresince antioksidanların etkinliklerini göstererek TMA-N oluşumunu sınırlandırdıkları tespit edilmiştir ( $P<0.01$ ). Depolama sonunda K grubuna ait balıkların (3.22 mg/100 g et) en yüksek TMA-N miktarına sahip olduğu, bu grubu sırasıyla YÇE (2.51 mg/100 g et), BHT (2.44 mg/100 g et), ÜÇE (2.33 mg/100 g et) ve NKE (2.15 mg/100 g et) içeren örneklerin izlediği belirlenmiştir ( $P<0.01$ ). Uzayan depolama süresi ile artan TMA-N miktarının NKE ilavesi ile sınırlandırılabilceği belirlenmiştir. Balık türü, avlanma mevsimi ve depolama koşulları TMA-N miktarını etkilenmektedir (34). TMA-N düzeyine göre kalite sınıflandırılması; "4 mg/100g TMA-N'a kadar iyi, 10mg/100g TMA-N'a kadar pazarlanabilir, 12 mg/100g TMA-N bozulmuş" olarak gösterilmektedir (35, 36). Bu kalite sınıflandırılması dikkate alındığında, tüm uygulamalarda depolama süresince TMA-N değerinin 4 mg/100g TMA-N'dan düşük olduğu,

söz konusu balıkların TMA-N açısından "güvenilir" oldukları belirlenmiştir. Benzer şekilde, dondurularak depolanan balık burgerlerde kontrol grubu dışındaki diğer uygulamalarda TVB-N miktarının 9 aylık depolama süresi sonunda sınır değerlerin altında olduğu, antioksidan ekstrakt uygulamasının TVB-N oluşumunu sınırladığı gösterilmiştir (28).



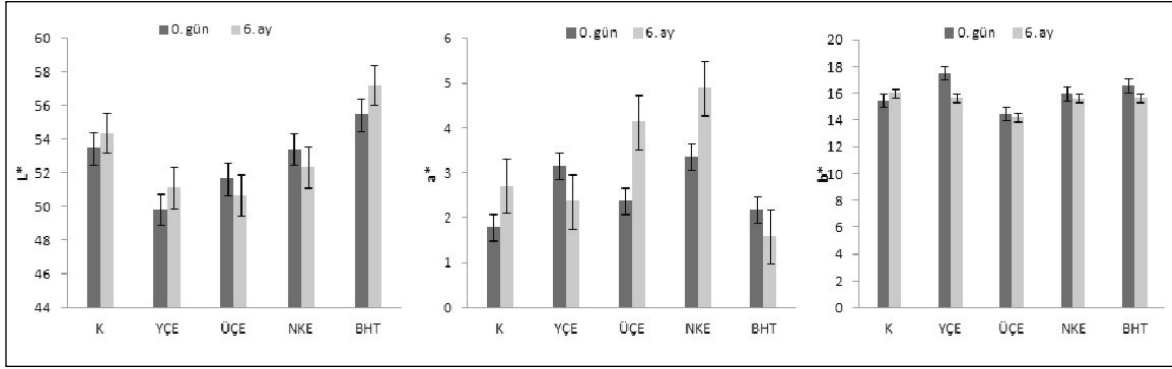
Şekil 2. Bitkisel ekstrakt ilavesinin ve dondurularak depolama süresinin uskumru kıymasının toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) (a) ve trimetilamin nitrojeni (TMA-N) (b) miktarına etkisi

Figure 2. Effects of natural extracts and frozen storage on total volatile basic nitrogen (TVB-N) (a) and trimethylamin nitrogen (TMA-N) (b) in minced mackerel.

### Enstrümental renk

Farklı bitkisel ekstrakt ilave edilen uskumru kıymasında donmuş depolama başlangıcında ve sonunda belirlenen  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri şekil 3'te verilmiştir. Depolama başlangıcında en yüksek  $L^*$  değerleri BHT'li (55.46) ve K (53.45) örneklerde, en düşük ise YÇE'li (49.84) ve ÜÇE'li (51.67) örneklerde belirlenmiştir. Depolama başlangıcında  $L^*$  değeri arasındaki bu farkın kullanılan ekstraktın renginden kaynaklandığı düşünülmektedir. İlerleyen depolama süresine bağlı olarak  $L^*$  değerinin NKE'li ve ÜÇE'li örneklerde azaldığı, K, YÇE ve BHT ilave edilen

örneklerde arttığı belirlenmiştir. NKE ve ÜÇE'nin yüksek antioksidan etkisinin,  $L^*$  değerindeki azalmada etkili olduğu düşünülmektedir. Örneklerin  $b^*$  değerleri ise depolama başında 14.48 ile 17.52 arasında değişirken, depolama sonunda K örneklerde artış (16.04), antioksidan kaynağı ilave edilen örneklerde ise azalış gözlenmiştir. Bitkisel antioksidan kaynağı ilavesi, uskumru kıymaların dondurularak depolanması sırasında renk değerlerini etkilemiştir. Bunlar içerisinde NKE ve ÜÇE, depolama sonunda  $L^*$  ve  $b^*$  değerlerinde azalmaya ve  $a^*$  değerlerinde artışa neden olarak kıyma etteki pigment formlarını korumada etkili olmuşlardır. Nitekim, Lee vd. (37), antioksidanların metmyoglobin oluşumunu engelleyerek et ürünlerinde meydana gelen renk değişimini sınırladığını göstermişlerdir. Sanchez-Alonso vd. (38), farklı konsantrasyonlarda beyaz üzüm lifi içeren çiğ örneklerin  $a^*$  değerinde donmuş depolama süresince değişim olmadığını ( $P>0.01$ ), ancak ekstrakt içermeyen kontrol örneklerinin  $a^*$  değerlerinin önemli düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir ( $P<0.01$ ).  $b^*$  değeri ise lif içeren örneklerde değişmemiş, ancak K örneklerinde depolama süresince artış göstermiştir. Bu durum kırmızılık değerinin azalması ve oksijene olan heme proteinlerin okside olan pigmentlerden (met-heme proteinler-kahverengi) farklı olarak parlak renk vermesiyle açıklanmıştır (38). Sanchez-Alonso ve Borderias (39) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kıyma istavrit örneklerine ilave edilen üzüm lifinin çiğ örneklerle arasında önemli bir farklılığa neden olmadığı ( $P>0.01$ ) ve söz konusu örneklerin 6.40-7.10 arasında değişen  $a^*$  değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Brannan (40) tarafından yapılan çalışmada ise, tavuk but etlerine %0.1 düzeyinde üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin hazırlanan köftelerin renklerinin daha koyu ( $L^*$ ), daha kırmızı ( $a^*$ ) ve daha az sarı ( $b^*$ ) olmalarına neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda elde edilen veriler bir kısım literatür bilgisi ile benzerlik gösterdiği gibi, bazı verilerden de farklılık göstermektedir. Bu durumun ilave edilen ekstraktın elde edilme yönteminden, uygulanan ekstrakt konsantrasyonundan, ekstraktların kendi renklerinden ve farklı düzeydeki antioksidan ve antimikrobiyel etkinliklerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3. Bitkisel ekstrekt ilavesinin ve dondurularak depolama süresinin uskumru kıymasının renk değerlerine ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) etkisi  
Figure 3. Effects of natural extracts and frozen storage on color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) in minced mackerel

### Duyusal değerlendirme

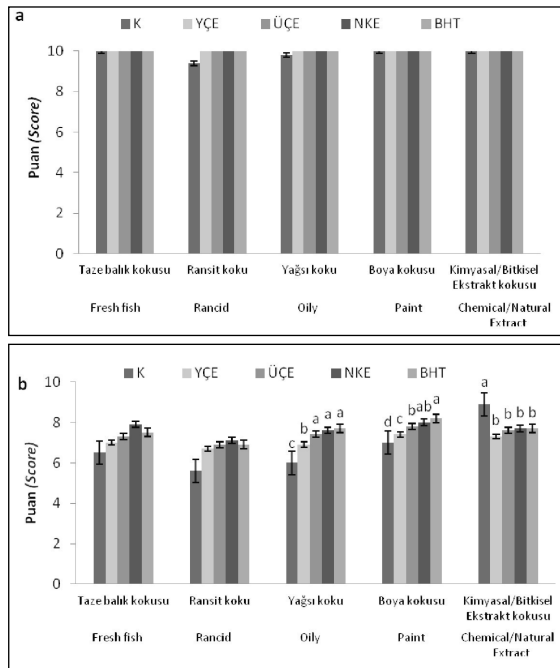
Hazırlanan kıyma uskumrular donmuş depolama süresince çığ olarak duysal analize tabi tutulmuş ve örnekler koku özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Dondurularak depolanan uskumru kıymalarında depolama süresinin başında ve sonunda panelistler tarafından verilen puanların ortalamaları şekil 4'te görülmektedir. Depolamanın başında gruplar arasında önemli farklılıklar bulunmadığı ( $P>0.01$ ), duysal analizde incelenen özellikler açısından tüm grupların panelistler tarafından beğenildiği şekil 4a'da görülmektedir. Depolama süresi sonunda ise K grubuna ait balıkların taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu özellikleri açısından diğer gruplara kıyasla daha az beğenildiği; kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu yönünden ise daha yüksek puan aldığı görülmektedir. Bu durumun, ilave edilen ekstraktların ve BHT'nin balık dokusuna penetrasyonu ve buradaki oksidatif değişimler üzerine etkileri ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Bitkisel ekstrakt ve BHT ilave edilmeyen uskumrulara kimyasal/bitkisel ekstrakt kokusu algılanmamıştır. Kontrol örneklerde ransit koku yoğun bir şekilde hissedilirken (5.60), NKE uygulamasının ransit kokunun algılanmasını engellediği (7.10) belirlenmiştir. Oksidatif reaksiyonlar sonucu artan yağsı koku kontrol örneklerde daha fazla hissedilmiştir. Yağsı koku özelliği açısından ÜÇE, NKE ve BHT uygulamaları arasında farklılık olmadığı da ( $P>0.01$ ) belirlenmiştir. Boya kokusu kontrol örneklerde verilen düşük puanlarla daha fazla hissedilmiştir ( $P<0.01$ ). Panelistler taze balık, ransit, yağsı ve boya kokusu özelliklerini değerlendirdiklerinde, K grubu balıklara daha

düşük puanlar vermişlerdir. Bu durum bitkisel ekstrakt ilavesinin kıyma örneklerde istenmeyen kokunun oluşumunu engellemesi ile açıklanabilir. Ayrıca elde edilen veriler, donmuş depolanan kıyma örneklerin depolama süresi sonunda koku özellikleri açısından tüketime uygun olduğunu da göstermektedir. Duyusal değerlendirmeler sonucunda belirlenen taze balık kokusu özelliği ile TAPB sayısı ve TMA-N miktarı arasında ( $r=-0.896$ ,  $P<0.05$ ;  $r=-0.919$ ,  $P<0.05$ ), ransit koku özelliği ile TMA-N miktarı arasında ( $r=-0.984$ ,  $P<0.01$ ) ve yağsı koku özelliği ile TMA-N miktarı arasında ( $r=-0.913$ ,  $P<0.05$ ) önemli korelasyonlar olduğu da belirlenmiştir.

Donmuş depolama süresince uskumru kıymalarında oksidasyon, mikrobiyel faaliyet ve pigment denatürasyonuna bağlı olarak kalite kayıpları meydana gelmektedir. Yapılan bu çalışmada, depolama süresince uskumru kıymalarının iyi hijyenik özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir. TPAB sayısını azaltmada en etkili kaynağın NKE olduğu tespit edilmiş; bu durum, NKE'nin yüksek antimikrobiyel aktivitesiyle açıklanmıştır. Bitkisel ekstrakt ilavesi, ilave edilen bitkisel materyalin antimikrobiyel aktivitesine bağlı olarak donmuş depolama ile artan TVB-N, TMA-N miktarlarını baskılamıştır. 6 aylık donmuş depolama sonrasında balıklar, TVB-N miktarı açısından "tüketime uygun", TMA-N miktarı açısından ise "iyi" niteliktedir. Dondurularak depolanan kıyma örneklerde TMA-N miktarı ile TAPB sayısı arasında önemli düzeyde korelasyon ( $r=0.892$ ;  $P<0.05$ ) olduğu da belirlenmiştir. Duyusal analiz sonuçları değerlendirildiğinde, NKE'nin panelistler tarafından daha fazla beğenildiği de tespit edilmiştir. Sonuç



olarak, yağlı bir balık olan uskumrudan elde edilen kıymaların doğal antioksidan ve antimikrobiyel içeriği yüksek katkıları uygulanarak dondurulması, depolama sırasında kalite özelliklerinin daha uzun süre korunmasında etkili olmuştur. Elde edilen sonuçlar ÜÇE ve NKE ilavesinin uskumru kıymalarında daha iyi bir koruma sağladığını göstermiştir.



Şekil 4. Bitkisel ekstraktlarla muamele edilen uskumru kıymasının depolama süresinin başında (0.gün) (a) ve 6 ay dondurularak depolanması sonrası (b) duyuşal değerlendirme sonuçları

a-d: İlgili özellikte, farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P<0.01$ )

Figure 4. Results of sensory evaluation of mackerel mince applied with different plant extracts at the beginning of the storage (day 0)(a) and after 6 months (b) frozen storage a-d: Different letters on the bar within the same attributes denote the significant differences ( $P<0.01$ ).

## KAYNAKLAR

1. Sikorski ZE, Kolakowska A, Burt JR. 1990. Post-harvest biochemical and microbial changes. In: *Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation*. Sikorski ZE (ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 55-75.
2. Haard NF. 1992. Technological aspects of extending prime quality of seafood: A Review. *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 1(3/4), 9-27.

3. Ünlütürk A, Turantaş F. 1998. *Gıda Mikrobiyolojisi*. Mengi Tan Basımevi, İzmir.
4. Deng JC, Matthews RF, Watson CM. 1977. Effect of chemical and physical treatments on rancidity development of frozen mullet (*Mugil cephalus*) filets. *J. Food Sci.*, 42, 344-347.
5. Boyd LC, Green DP, Giesbrecht FB, King MF. 1993. Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tertbutylhydroquinone and rosemary extract. *J. Sci. Food Agric.*, 61, 87-93.
6. Soyer A, Şahin ME. 1999. Effect of glazing and storage time on lipid oxidation of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 23, 575-584.
7. Wu JM, Lee MH, Ho CT, Chang SS. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59(8); 339-345.
8. Lindberg Madsen H, Bertelsen G. 1995. Spices as antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.*, 6, 271-278.
9. Pazos M, Gallardo JM, Torres JL, Medina I. 2005a. Activity of grape polyphenol as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chem.*, 92, 547-557.
10. Pazos M, González MJ, Gallardo JM, Torres JL. 2005b. Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. *Eur. Food Res. Technol.*, 220, 514-519.
11. Sánchez-Alonso I, Jimenez-Escrig A, Saura-Calixto F, Borderias AJ. 2007. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chem.*, 101, 372-378.
12. Alghazeer R, Saeed S, Howell NK. 2008. Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber scombrus*) in the presence and absence of instant green tea. *Food Chem.*, 108, 801-810.
13. Gökoğlu N, Yerlikaya P. 2008. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 1004-1008
14. Abdel Moneim AE, Dkhil MA, Al-Quraishy S. 2011. Studies on the effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice and peel on liver and kidney in adult male rats. *J. Med. Plants Res.*, 5 (20), 5083-5088.



15. Yehia HM, Elkhadragy MF, and Abdel Moneim AE. 2011. Antimicrobial activity of pomegranate rind peel extracts. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4, 3664-3668.
16. Basiri S, Shekarforoush SS, Aminlari M, Abhari Kh, Berizi E. 2014. Influence of combined vacuum packaging and pomegranate peel extract on shelf life and overall quality of pacific white shrimp (*Peneus vannamei*) during refrigerated storage. *Iranian J. Vet. Res.*, 15(46), 23-29.
17. Naveena BM, Sen AR, Kingsly RP, Singh DB, Kondaiah N. 2008. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 1807-1812.
18. Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.*, 16, 144-158.
19. Anon 1998. Bacteriological Analytical Manual. 8<sup>th</sup> edn, A.O.A.C. International, Gaithersburg, MD.
20. Goulas A, Kontominas MG. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chem.*, 93, 511-520.
21. Boland FE, Paige DD. 1971. Collaborative study of a method for the determination of trimethylamine nitrogen in fish. *J. AOAC Int.*, 54(3); 725-727.
22. Eymard S, Baron CP, Jacobsen C. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chem.*, 114, 57-65.
23. Steel RGD. 1980. Principle and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach. McGraw-Hill Text, New York, 481 p.
24. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (ed). 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed., vol. 2, Williams and Wilkins. Baltimore.
25. Mielnik MB, Olsen E, Vogt V, Adeline D, Skrede G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *LWT Food Sci. Technol.*, 41, 42-50.
26. Kanatt SR, Chander R, Sharma A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 45, 216-222.
27. Qin YY, Zhang ZH, Li L, Xiong W, Shi JY, Zhao, TR, 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 Sci. Biotechnol.*, 22 (4), 1063-1069.
28. Özoğul Y, Uçar Y. 2013. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*) burgers. *Food Bioprocess Technol.*, 6, 1550-1560.
29. Uljas HE, Ingham SC. 1999. Combinations of intervention treatments resulting in 5-log-unit reductions in numbers of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella typhimurium DT 104 organisms in apple cider. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 1924-1929
30. Conner DF, Beuchat LR. 1984 Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Sci.*, 49, 429-434.
31. Hao YY, Brackett RE, Doyle MP. 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. *J. Food Microbiol.*, 15, 367-378.
32. Fagan JD, Gormley TR, Mhuirheartaigh MU. 2003. Effect of freeze-chilling, in comparison with fresh, chilling and freezing, on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 36, 647-655.
33. Özoğul Y, Durmuş M, Balıkcı E, Özoğul F, Ayas D, Yazgan H. 2011. The effects of combination combination of freezing and the use of natural antioxidant technology on the quality of frozen sardine fillets (*Sardinella aurita*). *Int J. Food Sci. Technol.*, 46, 236-242.
34. Ababouch LH, Souibri L, Rhaliby K, Ouahdi O, Battal M, Busta FF. 1996. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. *Food Microbiol.*, 13 (2), 123-132.
35. Nikelson JT, Sinskey AJ. 1972. Microbiology of Food Processing. American Elsevier Publishing Company. New York - Amsterdam - London, 152 p.
36. Kundakçı A. 1989. Kefal ve Lüferin Ön Bekleme Koşullarının Kaliteye Etkileri. *E.Ü. Su Ürünleri Fak. Dergisi*, 6, 23-24.

37. Lee BJ, Hendricks DG, Cornforth DP. 1999. A comparison of carnosine and ascorbic acid on colour and lipid stability in a ground beef patties model system. *Meat Sci.*, 51, 245-253.
38. Sanchez-Alonso I, Jimenez-Escigir A, Saura-Calixto F, Borderias AJ. 2008. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *LWT-Food Sci. Technol.*, 41, 42-50.
39. Sánchez-Alonso I, Borderias AJ. 2008. Technological effect of red grape antioxidant dietary fibre added to minced fish muscle. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 1009-1018
40. Brannan R. 2008. Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *J Food Sci.*, 73 (1), 36-40.