

PROPOLİS EKSTRAKTI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BALIK YAĞINDA LİPİT OKSİDASYONU DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

İlknur Uçak*

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Niğde, Türkiye

Geliş / Received: 28.02.2018; Kabul / Accepted: 01.04.2018; Online baskı / Published online: 18.05.2018

Uçak, İ. (2018). Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (3): 523-532 doi: 10.15237/gida.GD18031

Uçak, İ. (2018). *Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract. GIDA (2018) 43 (3): 523-532 doi: 10.15237/gida.GD18031*

ÖZ

Bu çalışma, propolis ekstraktının balık yağında doğal antioksidan olarak kullanımını üzerine odaklanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (100, 500, 1.000 mg/kg) propolis ekstraktı ve sentetik antioksidan olarak bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT, 100 mg/kg) balık yağına eklenerek hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında lipit oksidasyonu düzeyi belirlenmiştir. Depolama süresince peroksit değeri, UV-spektrum değerleri (UV₂₃₂ ve UV₂₇₀), tiyobarbitürik asit (TBARS) değeri ve para-anisidin değeri incelenmiştir. Depolama boyunca propolis ekstraktı ilaveli gruplarda peroksit değeri, UV₂₃₂ ve UV₂₇₀ değeri, TBARS değeri ve para-anisidin değeri kontrol grubu ve BHT ilaveli gruptan daha düşük düzeylerde bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, 500 ve 1.000 mg/kg konsantrasyonlarında propolis ekstraktı ilave edilmiş balık yağı örneklerinde oksidasyon düzeyinin daha düşük olduğunu ve en etkili konsantrasyonun 1.000 mg/kg olduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile, propolis ekstraktının balık yağında oksidatif stabiliteyi sağlamada doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği gösterilmektedir.

Anahtar kelimeler: Balık yağı, propolis ekstraktı, lipit oksidasyonu, doğal antioksidan, oksidatif bozulma

DETERMINATION OF THE LIPID OXIDATION LEVEL IN FISH OIL ENRICHED WITH PROPOLIS EXTRACT

ABSTRACT

This study focused on the utilization of propolis extract as a natural antioxidant in fish oil. Propolis extract at different concentrations (100, 500, 1,000 mg/kg) and butylated hydroxytoluene (BHT, 100 mg/kg) as synthetic antioxidant were added to fish oil in order to determine the lipid oxidation level under accelerated oxidation conditions. Peroxide value, UV-spectrum values (UV₂₃₂ and UV₂₇₀), thiobarbituric acid (TBARS) value and para-anisidine value were investigated during the storage. Peroxide value, UV₂₃₂ and UV₂₇₀ value, TBARS value and para-anisidine value of groups which supplemented with the propolis extract was found lower than the control group and BHT added group throughout the storage period. The results show that the oxidation level in fish oil samples supplemented with 500 and 1.000 mg/kg propolis extract lower, and the most effective concentration is 1.000 mg/kg propolis extract. This study indicated that the propolis extract might be used as a natural source in order to provide oxidative stability in fish oil.

Keywords: Fish oil, propolis extract, lipid oxidation, natural antioxidant, oxidative deterioration

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ilknurucak@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 225 3044,

☎ (+90) 388 225 4440

GİRİŞ

Balık yağı; insan sağlığına olan yararlı etkileri ve büyüme ve gelişme için gerekli olan besin maddelerinden olan uzun zincirli omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içermesi nedeni ile son yıllarda gittikçe artan bir önem kazanmıştır. Bu uzun zincirli yağ asitlerinden özellikle eikosapentaenoik (EPA, C20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n-3) kardiyovasküler hastalıkları ve bazı kanser türleri riskini azaltma, sinir sistemi fonksiyonlarına ve vücut gelişimine katkı sağlama gibi insan sağlığına pek çok faydalı etkiden sorumlu olarak kabul edilmiştir (Shahidi, 2015). Balık yağının, insan sağlığına olan yararlı etkileri ve besleyici değerinin yüksek olması nedeni ile kalitesi ve stabilitesi de önem kazanmaktadır. Yağ asitlerinin oksidasyona karşı hassasiyeti doymamışlık derecesi ile artmaktadır. Yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren balık yağı da istenmeyen koku, aroma ve renkle sonuçlanan oksidatif bozulmalara karşı oldukça hassastır.

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu başlangıç, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Başlangıç fazında moleküler oksijen çoklu doymamış yağ asitleri ile birleşerek peroksit ve serbest radikalleri oluşturmaktadır. Başlangıç aşamasının reaktif ürünleri diğer lipit molekülleri ile bir araya gelerek başka reaktif bileşikler meydana getirmektedir. Aktif metilen grupları varlığında peroksitler de stabil olamamakta, dihidroperoksitlere ve ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmektedir. Doymamış aldehitler ve ketonlar ileri otooksidasyona maruz kalmakta ve kabul edilmeyen kötü kokulara yol açan uçucu bileşikler meydana gelmektedir (Hsieh ve Kinsella, 1989; Kanner ve Rosenthal, 1992; Yanishlieva ve Marinova, 2001; Kolanowski vd., 2007). Yağların hava, ışık, sıcaklık gibi çevresel faktörlere maruz kalmasıyla birlikte istenmeyen tat, ransid koku ve renk hatta toksik bileşikler ortaya çıkmaktadır (Kanner ve Rosenthal, 1992; Shaidi ve Wanasundara, 2002; Alonso vd., 2007). Oksidatif bozulmanın diğer olumsuz etkisi de, toksik olabilecek oksidasyon ürünlerinden dolayı sağlık risklerinin ortaya çıkmasıdır. Oksidasyonun önlenmesi amacı ile butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), butillendirilmiş hidroksianisol

(BHA) ve propil gallat (PG) gibi çeşitli sentetik koruyucular kullanılırken, doğal kaynaklardan elde edilen farklı antioksidanların kullanımına yönelik eğilimler artmaktadır (Kindleysides vd., 2012).

Propolis; bal arılarının ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından toplayarak arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçinemi maddeleri ve bitki öz sularını, baş kısımlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan birtakım enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde oluşturdukları reçinemi yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür (Bozkurt, 2010). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle %45-50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır (Karaman, 2009). Bu organik bileşikler arasında fenolik bileşikler ve esterleri, flavonoidlerin bütün formları (flavonollar, flavonlar, flavononlar, dihidroflavonollar ve kalkonlar), terpenler, β -steroidler, aromatik aldehitler ve alkoller bulunur (Viuda-Martos, 2008). Propolis üzerinde yapılan çalışmalar antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antitümör, anestetik, sitostatik etki, immünomodülatör, hepatokuruyucu, antitümör ve antibiyotik vb. özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Bozkurt, 2010). Propolis ham halde kullanılamaz. Bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Bu ekstraksiyon sürecinde inert maddeler uzaklaştırılmalı, yararlı etkileri propolisin diğer bileşenlerinden çok daha fazla olan polifenolik kısımlar ise korunmalıdır (Pietta, 2002). Farklı çözücüler, farklı bileşenleri çözüp ekstrakte ettiği için ekstraksiyon metodları, propolisin aktivitesini etkileyebilmektedir. Ekstraksiyonda en yaygın kullanılan çözücüler, farklı konsantrasyonlardaki etanol, metanol ve sudur (Nakajima vd., 2007). Propolisin içeriğinde bulunan bileşiklerin çoğu lipofilik özelliktedir. Bu bileşikleri etanol kullanarak ekstrakte etmek kolay olduğu için propolisin etanollü ekstraktı iyi bilinmektedir ve bu nedenle daha cazip hale gelmiştir (Nakajima vd., 2007).

Bu çalışmada, propolisin güçlü antioksidan özelliğinden dolayı balık yağında oksidatif bozulmayı önlemek amacıyla sentetik antioksidanlara alternatif olarak kullanımı hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, balık yağına farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı eklenmiş ve hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında oksidasyon düzeyinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan propolis 2017 yılı yaz mevsiminde Adana yöresinden toplanmıştır. Balık (hamsi) yağı, Samsun ilinde bulunan ticari bir firmadan (Sürsan Su Ürünleri San. Tic. A.Ş) temin edilmiştir.

Yöntem

Propolis ekstraktının hazırlanması ve balık yağına eklenmesi

Propolis laboratuvara getirilerek serin ve karanlık bir ortamda ekstraksiyon işlemine kadar bekletilmiştir. Ham propolis laboratuvar tipi parçalayıcı ile parçalandıktan sonra 3 mm çaplı elekten geçirilerek standardize edilmiştir. Propolis parçaları uygun hacimdeki erlenlere aktarıldıktan sonra Tabaraki vd. (2012) tarafından belirlenen yöntemle göre ultrasonik su banyosu (Kudos-HP series, China) yardımı ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik banyo frekansı 250 W ve 40 kHz olarak ayarlanmış, hazırlanan etanol (%70) ve propolis çözeltisi (1/10, g/ml) oda sıcaklığında bulunan ultrasonik su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiştir. Etanol ile ekstrakte edilmiş propolis

ekstraktları kaba filtre kâğıdı ile süzülükten sonra 0.22 µm çaplı (Merck millipore) filtrelerden geçirilmiştir. Etanolik propolis ekstraktları rotary evaporatöre (IKA, HB-10 digital, Germany) aktararak ve ekstraktlarda bulunan etanol 45°C'de uçurularak propolis ekstraktları elde edilmiştir. Propolis ekstraktları, kullanılıncaya kadar -80°C'ye ayarlanmış ultra derin dondurucuda (Symphony, VWR DW) muhafaza edilmiştir. Balık yağı, 5 gruba ayrılmış ve örnekler kontrol (propolis ekstraktı ve BHT ilavesiz), BHT (100 mg/kg BHT ilaveli), PE1 (100 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli), PE5 (500 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli) ve PE10 (1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli) şeklinde adlandırılarak 2 ml'lik ışık geçirmeyen koyu renkli eppendorf tüplere alınarak sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış inkübatörde (Binder ED 53) 21 gün süre ile depolanmışlardır. Depolama sırasında meydana gelen oksidatif değişimlerin belirlenmesi amacıyla üç günlük periyotlarla analizler yapılmıştır.

Peroksit analizi

Balık yağı örneklerinde peroksit analizi AOAC (1990)'nın belirttiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. 30 ml kloroform-glasiel asetik asit çözeltisi (kloroform/glasiel asetik asit, 3/2) içerisinde yaklaşık 2 g yağ karıştırılarak üzerine 1 ml doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisinden eklenmiştir. Çözelti karıştırıldıktan sonra 5 dakika karanlıkta bekletilmiş ve üzerine 75 ml saf su ve birkaç damla nişasta çözeltisi eklenerek 0.1 M sodyum tiosulfat (Na₂S₂O₃) çözeltisi ile titre edilmiştir. Örneklerin peroksit değerleri Eşitlik 1'de verilen formüle göre hesaplanıp meq/kg cinsinden ifade edilmiştir.

$$PV \text{ (meq/ kg)} = K \times (V - V_0) \times 12.69 \times 78.8 / w \quad (\text{Eşitlik 1})$$

K titrasyonda harcanan Na₂S₂O₃'ün konsantrasyonu (mol/l), V titrasyonda harcanan Na₂S₂O₃'ün miktarı (ml), w balık yağının ağırlığı (g)

Tiyobarbitürikasit (TBARS) sayısı

Yağ örneklerinde bulunan malondialdehitin TBA reaktifi ile renk vermesi prensibine dayanarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır (AOCS, 1998). n-bütanol içerisinde çözülen yağ örneğinden 5 ml alınmış ve aynı miktarda TBA reaktifi ile karıştırılmıştır. Reaksiyona girmesi

amacıyla 120 dakika 95°C su banyosunda tutulmuştur. Hızla soğutulan örnekler, 530 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Evolution 160 UV-vis, Thermo Scientific) olarak ölçülerek Eşitlik 2'de verilen formülle hesaplanan sonuçlar mg malondialdehit/kg örnek olarak ifade edilmiştir.

$$TBA = 50 \times (\text{Yağ örneğinin absorbansı} - \text{Blank absorbansı}) / \text{örnek ağırlığı (mg)} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Para-anisidin değeri (p-Av)

Yağ örneklerinden 0.5 g alınarak 25 ml n-hekzan içerisinde çözülmüştür (A1). Çözeltilerden alınan 5 ml üzerine 1 ml para-anisidin standardı eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiştir (A2). Örneklerle ait para-anisidin

$$p-Av = 25 (1.2 \times (A2 - A1)) / \text{örnek ağırlığı}$$

(Eşitlik 3)

A1= Para-anisidin eklenmeden önce 350 nm'deki absorpsiyon

A2= Para-anisidin eklendikten sonra 350 nm'deki absorpsiyon

UV spektrum analizi

Balık yağlarının depolanması sırasında meydana gelen oksidasyon ürünlerinin tespiti amacıyla UV spektrum analizi gerçekleştirilmiştir. İzo-oktan içerisinde her seferinde aynı miktar yağ tartılarak tekrarlanan UV spektrum ölçümünde 232 nm (UV232-konjuge dien) ile 270 nm (UV270-konjuge trien) dalga boyları arasında spektrum çizilmiştir. Balık yağında gerçekleşen oksidasyona bağlı olarak grafikte ortaya çıkan UV emilimindeki değişimler gözlemlenmiştir (IUPAC, 1987b).

İstatistiksel analiz ve değerlendirmeler

Çalışma iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlara varyans analizi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulup, %5 önem düzeyinde karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler için SAS yazılımı (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

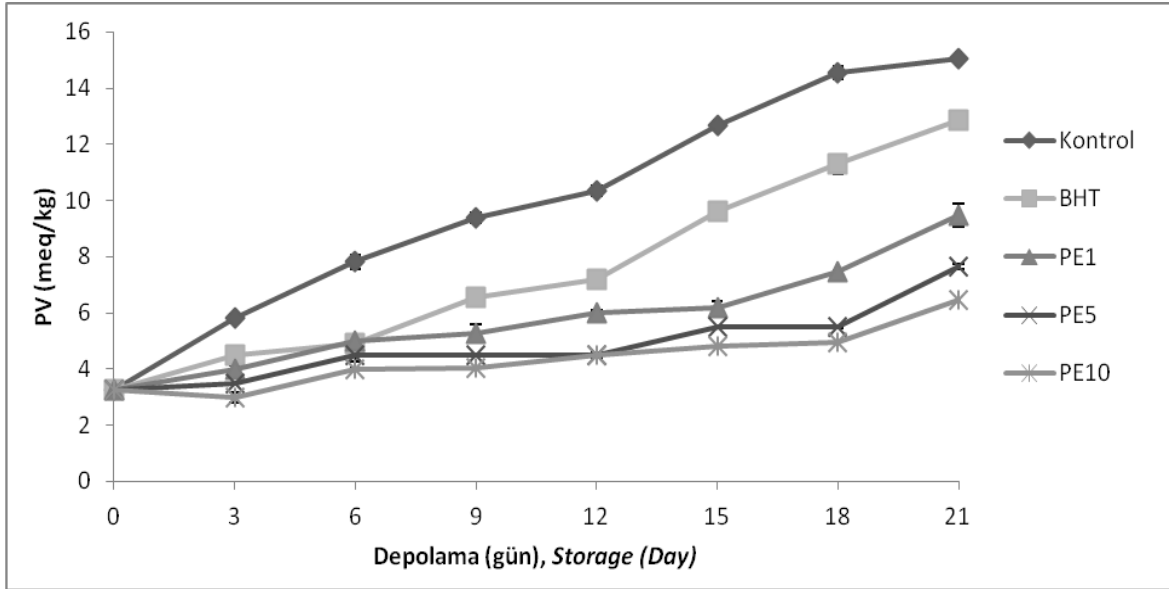
Peroksit değeri

Peroksit değeri, yağlarda oksidasyonun başlangıç düzeyinin ölçülmesinde kullanılmakta olup (Iqbal vd., 2008) birincil oksidasyon ürünleridir. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) içeren balık yağının depolama süresince peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 1'de verilmiştir. Balık yağında başlangıç peroksit değeri 3.28 meq/kg olarak bulunmuştur. Depolama süresince tüm gruplarda peroksit değeri artış göstermiş, fakat propolis ekstraktı ilaveli gruplarda bu artış kontrol grubu ve BHT içeren gruba göre daha düşük düzeyde olmuştur. Kontrol grubu, BHT içeren grup ve propolis ilaveli gruplar arasında depolama boyunca önemli derecede ($P < 0.05$) farklılıklar

değeri 350 nm'deki spektrofotometrik (Evolution 160 UV-vis, Thermo Scientific) ölçümlerle elde edilen absorpsiyon değerleri yardımıyla Eşitlik 3'te verilen formülle hesaplanarak belirlenmiştir (IUPAC, 1987a).

gözlenmiş ve depolama sonunda en yüksek peroksit değerleri sırasıyla 15.04 ve 12.88 meq/kg olarak kontrol grubu ve BHT içeren grupta gözlenmiştir. İyi kalitede bir balık yağının peroksit değerinin 5 meq/kg'dan daha düşük olması önerilmektedir (Hamilton vd., 1998). Kontrol grubu ve BHT ilave grup bu değeri sırasıyla 3. (5.82 meq/kg) ve 9. (6.54 meq/kg) günlerde aşmıştır. Depolama boyunca önemli derecede ($P < 0.05$) en düşük peroksit değerleri 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli gruplarda gözlenmiş ve depolama sonunda sırasıyla 7.65 ve 6.46 meq/kg'a ulaşmıştır.

Topuz vd. (2015) tarafından nar kabuğu ekstraktı ilaveli balık yağında 500 ve 1.000 mg/kg konsantrasyonlarında ekstrakt eklenmiş gruplarda daha düşük peroksit değerleri gözlenmiştir. Marinova ve Yanishlieva (1997), farklı konsantrasyonlarda nane ekstraktı ekleyerek hızlandırılmış sıcaklık koşullarında depoladıkları ayçiçeği yağında kontrol grubu ve BHT ilaveli gruba göre daha düşük peroksit değerleri gözlemlenmişlerdir. Bir başka çalışmada Wang vd. (2011) karnosik asit ile zenginleştirdikleri balık yağında peroksit değerlerini depolamanın 24. gününde kontrol grubunda 24.67 meq/kg ve karnosik asit ilaveli grupta 22 meq/kg olarak bulmuşlardır. Peroksit değerleri göz önünde bulundurulduğunda, kullanılabilir limiti 100 mg/kg olan BHT eklenen grupla kıyaslandığında 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilavesinin birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geciktirmede önemli derecede etkili olduğu görülmüştür.



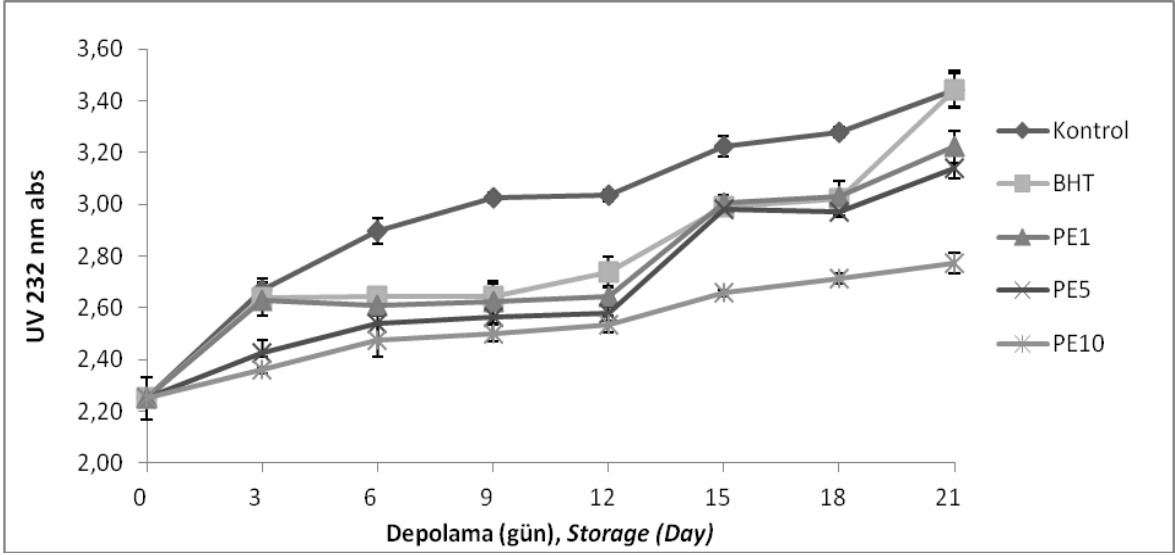
Şekil 1. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler.* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 1. Changes in peroxide value (PV) of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). * BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Konjuge dien (UV₂₃₂) ve konjuge trien (UV₂₇₀) değerleri

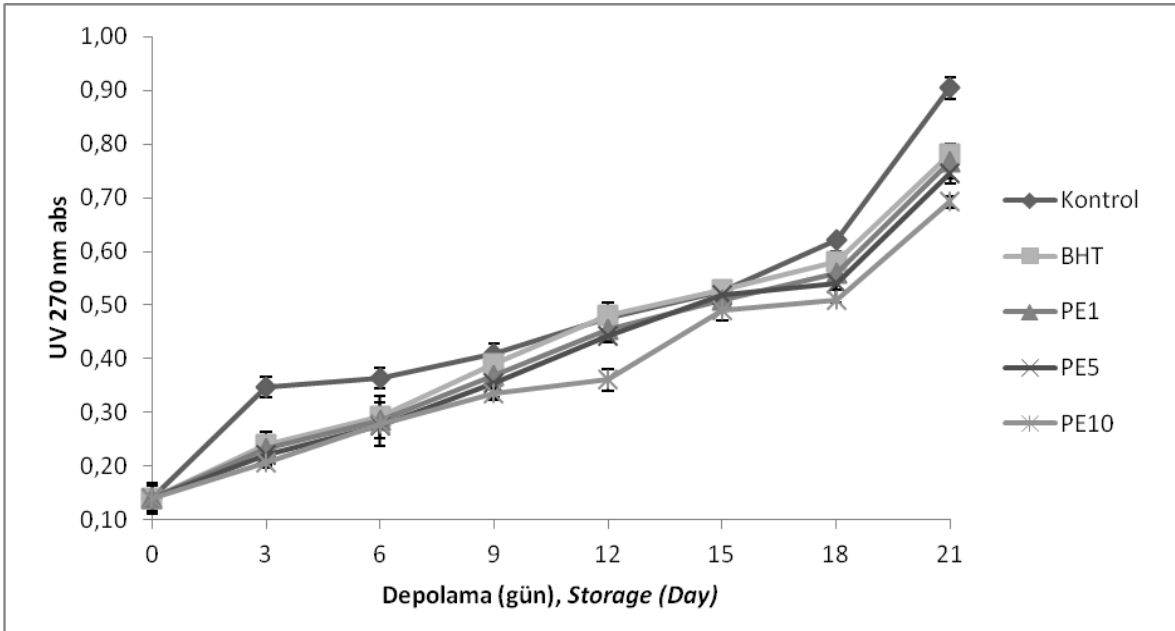
UV₂₃₂ ve UV₂₇₀ değerlerinin ölçülmesi, yağlarda oksidatif bozulmanın ve kullanılan antioksidanların etkinliğinin belirlenmesinde önemli parametrelerdir (Iqbal vd., 2008). Şekil 2 ve Şekil 3 hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında depolanan kontrol, BHT ilaveli ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) ilaveli balık yağında konjuge dienlerin ve konjuge trienlerin oluşumunu göstermektedir. Depolamanın başında, balık yağında UV₂₃₂ değeri 2.15 olarak bulunmuş ve en yüksek değer depolamanın sonunda kontrol grubunda (3.45) gözlenmiştir. Kontrol grubu, BHT ilaveli ve propolis ekstraktı ilaveli gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0.05$) farklılıklar gözlemlenmiştir. En düşük UV₂₃₂ değerleri 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli grupta gözlemlenmiş ve depolama sonunda diğer gruplara göre önemli derecede ($P < 0.05$) düşük bulunmuştur (2.77). Bu da, 1.000 mg/kg konsantrasyonda kullanılan propolis ekstraktının oksidasyon düzeyini düşürmede oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

Balık yağında başlangıçta 0.14 olarak bulunan UV₂₇₀ değerleri, Topuz vd. (2015) tarafından hamsi yağında gözlemlenen değerden (0.28) oldukça düşük düzeyde bulunmuştur. Kontrol grubu ve propolis ekstraktı ilaveli gruplar arasında önemli derecede ($P < 0.05$) farklılıklar gözlemlenirken, BHT ilaveli grup ve kontrol grubuna ait UV₂₇₀ değerleri propolis ekstraktı ilaveli gruplardan daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Depolamanın başından itibaren tüm gruplarda UV₂₇₀ değerlerinde artış gözlemlenmiş ve depolama sonunda en yüksek değer (0.91) kontrol grubunda bulunmuştur. UV₂₇₀ değerlerinde gözlemlenen bu artış, hidroperoksitler ve konjuge dienler gibi birincil oksidasyon ürünlerinden konjuge trienlerin oluşması şeklinde açıklanabilir. Iqbal vd. (2008) hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında yaptıkları bir çalışmada, 1.000 mg/kg düzeyinde nar kabuğu ekstraktı ekledikleri ayçiçeği yağında konjuge trien değerlerinin kontrol, BHT ilaveli ve farklı konsantrasyonlarda (250, 500 mg/kg) nar kabuğu ekstraktı ilaveli gruplardan daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 2. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince UV₂₃₂ nm absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler.* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 2. Changes in UV₂₃₂ nm absorbance values of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). * BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE



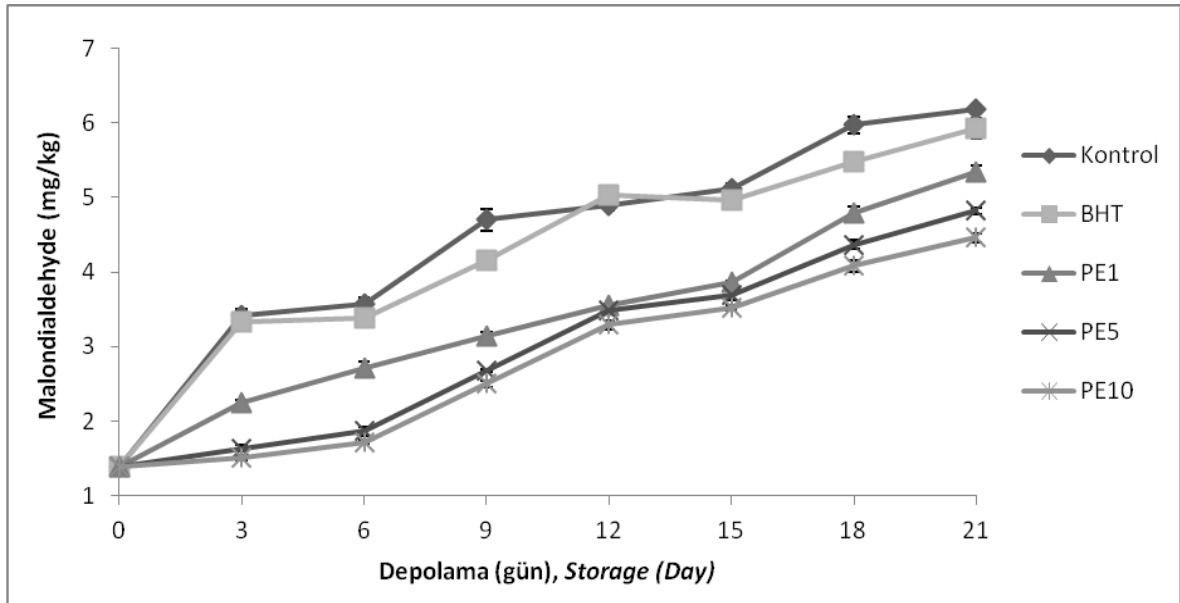
Şekil 3. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince UV₂₇₀ nm absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler.* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 3. Changes in UV₂₇₀ nm absorbance values of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). * BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Tiyobarbitürik asit (TBARS) değeri

Tiyobarbitürik asit (TBARS), aldehitler veya karboniller gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesinde yaygın kullanılan bir yöntemdir (Shahidi ve Wanasundara, 1998). BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) ilave edilmiş balık yağının TBARS değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4'te verilmiştir. Balık yağında başlangıç TBARS değeri 1.39 mgMA/kg olarak bulunmuştur. Depolama boyunca TBARS değerleri tüm gruplarda sürekli bir artış göstermiştir, ancak bu artış propolis ekstraktı ilaveli gruplarda daha düşük düzeyde olmuştur. Depolama sonunda önemli derecede ($P < 0.05$) en yüksek değerler sırası ile kontrol (6.18 mgMA/kg) ve BHT ilaveli (5.93 mgMA/kg) gruplarda gözlenmiştir. Taze bir balıkta TBARS değeri 3-5 mgMA/kg arasında olmalıdır, ancak 5-8 mgMA/kg düzeyi de buzda depolanan balıklar için kabul edilebilir limit değer olarak değerlendirilmektedir (Nunes vd., 1992). Depolama süresince en düşük TBARS değerleri 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı içeren gruplarda gözlemlenmiş ve her iki grupta da bu

değer 5 mgMA/kg'ı geçmemiştir. Iqbal vd. (2007) sarımsak ekstraktı ekledikleri ayçiçeği yağında hızlandırılmış depolama koşulları altında oksidasyon düzeyini belirlemişlerdir. 24 günlük depolama süresince en düşük TBARS değerlerinin 1.000 mg/kg sarımsak ekstraktı ilave edilmiş ayçiçeği yağında olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer bir çalışmada Topuz vd. (2015), 1.000 mg/kg konsantrasyonunda nar kabuğu ekstraktı ilaveli balık yağında TBARS değerlerinin kontrol grubu ve BHT ilaveli gruba göre daha düşük düzeylerde olduğunu bulmuşlardır. Duman ve Özpolat (2015), sulu propolis ekstraktı ile muamele ettikleri balıkta TBARS değerlerinin depolama süresince kontrol grubundan daha düşük olduğunu ve en etkili konsantrasyonun %0.5 olduğunu gözlemlemişlerdir. Elma kabuğundan ekstrakte edilen fenolik maddelerin balık yağında lipit oksidasyonuna olan etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, elma kabuğu ekstraktı ilave edilmiş balık yağında TBARS değerlerinin α -tokoferol ve BHT eklenmiş gruplardan daha düşük olduğu gözlenmiştir (Sekhon-Loodu vd., 2013).



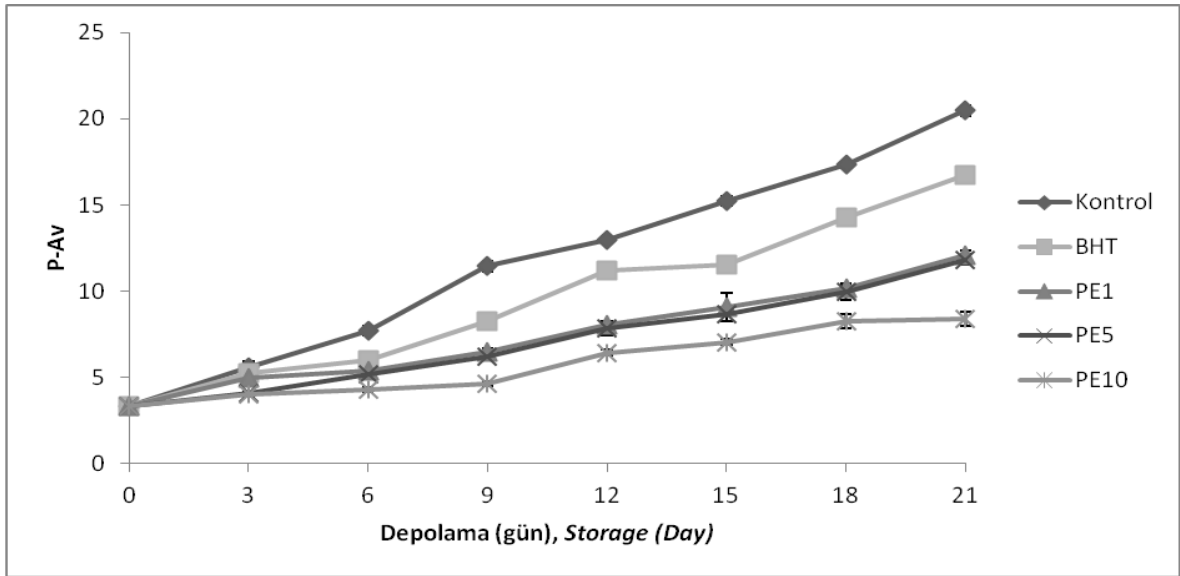
Şekil 4. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince TBARS değerlerinde meydana gelen değişimler.* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 4. Changes in tiobarbituric acid reactive substance values (TBARS) in fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). * BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Para-anisidin değeri

BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı içeren balık yağında para-anisidin değerlerinde gözlenen değişimler Şekil 5'te verilmiştir. Balık yağında başlangıç para-anisidin değeri 3.36 bulunmuştur. Depolamanın başından itibaren tüm gruplarda para-anisidin değeri artış göstermiş ve bu artış kontrol grubu ve BHT ilaveli grupta daha yüksek düzeyde olmuştur. Para-anisidin değeri bakımından kontrol ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı içeren gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) düzeyde farklılıklar bulunmuştur. Depolama sonunda en yüksek para-anisidin değeri sırasıyla kontrol grubu (20.47) ve BHT eklenmiş grupta (16.74) gözlenmiştir. Para-anisidin değeri, yağlarda oluşan uçucu olmayan karbonil bileşikleri ve hidroperoksit yıkım ürünleri

gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Balık yağına propolis ekstraktının eklenmesi, lipit oksidasyonunu önemli derecede geciktirmiş ve depolama sonunda önemli derecede ($P < 0.05$) en düşük para-anisidin değeri 1.000 mg/kg propolis ekstraktı eklenmiş grupta (8.41) gözlenmiştir. Abd El-aal ve Halaweish (2010), farklı konsantrasyonlarda (1.200 mg/kg, 1.600 mg/kg) portakal kabuğu ekstraktı ekledikleri soya yağını 65°C'de depolayarak oksidasyon düzeyini belirlemişlerdir. 1.200 mg/kg konsantrasyonda portakal kabuğu ekstraktı ilave edilen grupta para-anisidin değerinin 5.97 ve 1.600 mg/kg konsantrasyonda ise 5.61 bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuçların kontrol grubu ve BHT eklenen gruptan çok daha düşük düzeylerde olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 5. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince para-anisidin (P-Av) değerlerinde meydana gelen değişimler.* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 5. Changes in para-anisidine values (p-Av) of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). * BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

SONUÇ

Balık yağı, lipit oksidasyonuna karşı oldukça hassas olup, bu durum raf ömrünü sınırlamaktadır. Bu çalışmada balık yağına popolis ekstraktı eklemenin lipit oksidasyonunu geciktirdiği, özellikle 500 ve 1.000 mg/kg

konsantrasyonlarının daha etkili sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Depolama süresince tüm gruplar arasında en düşük oksidasyon düzeyi 1.000 mg/kg konsantrasyonunda propolis ekstraktı ilave edilen grupta görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda propolis ekstraktının balık yağında lipit

oksidasyonunu önlemede doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından "FEB 2016-26-BAGEP" proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Abd El-aal, H.A., Halaweish, F.T. (2010). Food preservative activity of phenolic compounds in orange peel extracts (*Citrus sinensis* L.). *Lucrări Stiințifice - Seria Zootehnie*, 53(15): 233-240.

Alonso, I.S., Escrig, A.J., Calixo, F.S, Borderias, A.J. (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.

AOAC (1990). *Official methods of analysis*. 15th Edition, Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.

AOCS (American Oil Chemists' Society) (1998). AOCS Official Method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct Method. In: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Firestone, D. (Ed.), AOCS, Champaign, III.

Bozkurt, A.F. (2010). Farklı düzeylerde propolis uygulamalarının farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Duman, M., Özpolat, E. (2015). Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. *Food Chem*, 189: 80-85.

Hamilton, R.H., Kalu, C., McNeill, G.P., Padley, F.B., Pierce, J.H. (1998). Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil. *J Am Oil Chem Soc*, 75(7): 813-822.

Hsieh, R.J., Kinsella, J.E. (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products. *Adv Food Nutr Res*, 33: 233-341.

Iqbal, S., Bhangar, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem*, 100: 246-254.

Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., Akbar, J. (2008). Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Res Int*, 41: 194-200.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (1987a). Method Number 2.505., Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrometry. In: Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates, Paquet, C., Hautfenne, A. (Eds), Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, pp: 144-145.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (1987b). Method Number 2.504. Determination of the p-anisidine value (P-Av). In: Standard Methods for the Analysis of Oils. Fats and Derivates, Paquet, C., Hautfenne, A. (Eds), Oxford. UK, Blackwell Scientific Publications, pp. 143-144.

Kanner, J., Rosenthal, I. (1992). An assessment of lipid oxidation in foods. *Pure Appl Chem*, 64(12): 1959-1964.

Karaman, I. (2009). Propolisin kırık iyileşmesi ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Kayseri.

Kindleysides, S., Quek, S.Y., Miller, M.R. (2012). Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. *Food Chem*, 133: 1624-1631.

Kolanowski, W., Jaworska, D., Weissbrodt, J. (2007). Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. *J Sci Food Agric*, 87: 181-191.

Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem*, 58: 245-248.

Nakajima, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2007). Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert

- neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sci*, 80: 370-377.
- Pietta, P.G., Gardana, C., Pietta, A.M. (2002). Analytical methods quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73: 7-20.
- Sekhon-Loodu, S., Warnakulasuriya, S.N., Vasantha Rupasinghe, H.P., Shahidi, F. (2013). Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food Chem*, 140:189-196.
- Shahidi, F. (2015). Omega-3 fatty acids and marine oils in cardiovascular and general health: A critical overview of controversies and realities. *J Funct Foods*, 19: 797-800.
- Shahidi, F., Wanasundara, U.N. (1998). Methods of measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (Eds.), *Food lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, pp. 377–396.
- Shaidi, F., Wanasundara, U.N. (2002). Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: *Food Lipids*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 465-485.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonically assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Sep Purif Technol*, 98: 16-23.
- Topuz, O.K., Yerlikaya, P., Ucak, I., Gumus, B., Buyukbenli, H.A., Gokoglu, N. (2015). Influence of pomegranate peel (*Punica granatum*) extract on lipid oxidation in anchovy fish oil under heat accelerated conditions. *J Food Sci Technol*, 52(1): 625-632.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *J Food Sci*, 73: 117-124.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol*, 103: 752-767.