

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

İlyas ÖZOĞUL

***SPIRULİNA PLATENSİS* ve *CHLORELLA VULGARİS*' DEN
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN SOĞUK DEPOLANAN
(4±1°C) SARDALYA (*Sardinella aurita*) FİLETOLARI
ÜZERİNDEKİ ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİ**

**SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI**

ADANA-2018

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


***SPİRULİNA PLATENSİS* ve *CHLORELLA VULGARİS*' DEN ELDE
EDİLEN EKSTRAKTLARIN SOĞUK DEPOLANAN (4±1°C) SARDALYA
(*Sardinella aurita*) FİLETOLARI ÜZERİNDEKİ ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ**


İlyas ÖZOĞUL


DOKTORA TEZİ

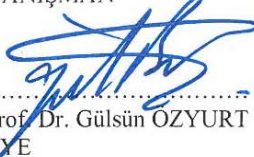
SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI


Bu 28/12/2018 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.


Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
DANIŞMAN


Prof. Dr. Abdurahman POLAT
ÜYE


Prof. Dr. İsmail AKYOL
ÜYE


Prof. Dr. Gülsün ÖZYURT
ÜYE


Dr. Öğr. Üyesi Esra BALIKÇI
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2015-4059

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

***SPİRULİNA PLATENSİS* ve *CHLORELLA VULGARİS*' DEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN SOĞUK DEPOLANAN (4±1°C) SARDALYA (*Sardinella aurita*) FİLETOLARI ÜZERİNDEKİ ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ**

İlyas ÖZOĞUL

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
Yıl: 2018, Sayfa: 125
Jüri : Prof. Abdurrahman POLAT
: Prof.Dr. Gülsün ÖZYURT
: Prof.Dr. İsmail AKYOL
: Dr. Öğr.Üyesi Esra BALIKÇI

Bu çalışmada *Spirulina plantensis* ve *Chlorella vulgaris*'in sulu ekstraktlarının (%1) vakum paketlenmiş 4±1 °C'de depolanan sardalya (*Sardinella aurita*) filetosu üzerindeki duysal (çiğ ve pişmiş), kimyasal (yağ asitleri, TVB-N, TBA, PV, FFA, pH, amonyak ve biyojen aminler) ve mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofil ve psikrofil bakteri sayısı, toplam koliform ve laktik asit bakteri sayısı ve patojen varlığı) etkileri araştırılmıştır. *Chlorella* ve *Spirulina* ekstraktlarının ana bileşeni sırasıyla %31.19 ve %67.64 değeri ile 3,5-dichloro-6-nitrocholestane ve dioctylamine olarak bulunmuştur. Araştırma sonucunda sardalyanın duysal raf ömrü kontrol grubu için 6 gün, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için 9 gün olarak belirlenmiştir. TVB-N değeri kontrol grubunda 11. günde, *Spirulina* grubunda 15. günde ve *Chlorella* grubunda ise 13. günde 35 mg/100 g'ı aşmıştır. Başlangıç TBA değeri 0.51 mg MDA/kg olup, depolama süresince tüm gruplarda 3 mg MDA/kg' ın altında kalmıştır. Depolama süresince *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı uygulanan gruplarda PV kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olmuştur. Sardalya etinde başlıca bulunan biyojenik aminler putresin, kadeverin, histamin, tiramin ve TMA olmuştur. En yüksek histamin değerleri depolama sonunda kontrol (54.18 mg/100g) grubunda gözlenmiştir. 7 log kob/g olarak önerilen TAMB limitine kontrol ve *Spirulina* grubu için 13. günde ulaşmıştır. Çalışma sonucunda kullanılan ekstraktların sardalya filetosunda lipit oksidasyonunu ve bakteriyel gelişimi engellediği, balıkta daha uzun raf ömrü sağladığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sardalya, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, antioksidan, antimikrobiyal

ABSTRACT

PhD THESIS

**ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL EFFECTS OF SPIRULINA
PLATENSIS AND CHLORELLA VULGARIS EXTRACTS ON SARDINE
(*Sardinella aurita*) FILLETS STORED AT CHILL TEMPERATURE
(4±1°C)**

İlyas ÖZOĞUL

**CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FISHERIES AND FISH PROCESSING
TECHNOLOGY**

Supervisor : Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
Year: 2018, Sayfa:125
Jury : Prof. Abdurahman POLAT
: Prof.Dr. Gülsün ÖZYURT
: Prof.Dr. İsmail AKYOL
: Asst. Prof. Dr. Esra BALIKÇI

In this study, the influence of water extracts of *Spirulina plantensis* and *Chlorella vulgaris* (1%) on sensory (raw ve cooked), chemical (fatty acids, TVB-N, TBA, PV, FFA, pH, ammonia and biogenic amine) and microbiological (total aerobic mesophilic and psychrophilic viable count, coliform and lactic acid bacteria count and presence of food-borne pathogens) changes was investigated in vacuum packaged sardine fillets stored at 4±1 °C. Main components in extracts of *Chlorella* and *Spirulina* were 3,5-dichloro-6-nitrocholestane (31.19%) and dioctylamine (67.64%), respectively. The study result showed sensory shelf life of 6 days for control, and 9 days for *Spirulina* and *Chlorella* groups. Upper TVB- N limit of 35 mg/100 g was exceeded at 11, 13 and 15 day, for control, *Chlorella* and *Spirulina* group respectively. Initial TBA value was 0.51 mg MDA/kg and remained below 3 mg MDA/kg for all group during storage periods. *Spirulina* and *Chlorella* groups had lower content of PV than that of control during storage. Main biogenic amines found sardine fillets were putrescine, cadaverine, histamine, tyramine and TMA. The highest histamine accumulation was observed for control group at the end of storage period, with value of 54.18 mg/100g. The microbiological limit value of 7 log cfu/g was reached at 13 days for control and *Spirulina* group. As a result, the extracts used prevented lipid oxidation and induced lower bacterial load in sardine fillets.

Keywords: Sardine, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, antioxidant, antimicrobial

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Günümüzde, özellikle gelişmiş ülkelerde insanlar, beslenmelerine çok dikkat etmekte ve beslenme rejimlerinde sağlık açısından uygun gıdaları seçmeye özen göstermektedirler. Bu gıdalar içerisinde de ilk sırayı çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin olan balık ve diğer su ürünleri almaktadır. Balık eti sindirimi kolaydır yüksek protein içerir ve özellikle lizin ve izolösin açısından zengindir. Yağ içeriği bakımından $\omega 3$, $\omega 6$ doymamış yağ asitleri ve özellikle EPA ve DHA nedeniyle mükemmel bir gıdadır. Ayrıca vitaminlerden niasin, folik asit, A, D, E ve K vitaminlerince zengindir.

Geçmişten günümüze kadar gıdaların bozulmasını engellemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerle hem mikrobiyolojik hemde kimyasal bozulmayı engellemek amaçlanmıştır. Kimyasal bozulmanın nedenlerinin başında lipitoksidasyonu gelmektedir. Lipit oksidasyonu ürünün gıda endüstrisinde çok önemli bir sorundur. Lipit oksidasyonu lezzet, doku, raf ömrü, görünüm ve beslenme profili gibi gıdaların kalite özelliklerinde istenmeyen değişikliklere neden olur. Gıda maddelerinde olduğu gibi balıklar da otolitik, oksidatif ve bakteriyel bozulmaya maruz kalabilmektedir. Balığın kalite kaybına yol açan oksidatif lipit bozulmalarını engellemek için yapılacak en önemli işlemlerden biri üründe antioksidan maddelerin kullanımınıdır. Antioksidanlar gıda maddelerindeki lipit oksidasyonunu yavaşlatarak daha uzun bir raf ömrü sağlamaktadır. Bu çalışmada bu amaçla alglerden doğal antioksidanlar elde edilerek balık muhafazasında kullanılabilme potansiyeli araştırılmıştır.

Kuru toz *Chlorella vulgaris* hücreleri %10 (w/v) saf su ile karıştırılıp, 100 °C' de 20 dk kaynatılmıştır. Daha sonra bu örnekler 4 °C'de 7200 RPM'de 20 dk santrifüj edilerek üst fazları alınarak filtre (whatman no:1) edilmiştir. Üst faz liyoflizatörde kurutulduktan sonra *C. vulgaris* ekstresi elde edilmiştir.

Toz halindeki *Spirulina platensis*'den 3 g alınarak 100 ml ultra saf suyun içerisinde 24 saat oda sıcaklığında sürekli karıştırılmıştır. Karışım daha sonra 4 °C'de 5000 RPM'de 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar Whatman no:1 filtre kağıdı ile süzölmüştür. Ardından örnekler liyoflizatör ile kurutulmuştur.

Elde edilen bu antioksidanlar %1 oranında sardalya (*Sardina aurita*) balığı üzerine uygulanarak soğuk depolama süresince balığın duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite değişimlerinin etkisine bakılmıştır. Sardalya 2017 Kasım ayında Mersin körfezinden taze olarak temin edilmiştir. Balıklar avlanır avlanmaz buzda depolanmış ve 8 saat içerisinde Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojileri Laboratuvarına getirilmiştir. Balıkların ortalama ağırlıkları 34.0 ± 1.85 g iken ortalama boyları 15.0 ± 1.80 cm olarak ölçölmüştür. Bu çalışmada toplam 12 kg balık eti kullanılmıştır.

Taze olarak elde edilen sardalyalar laboratuvara ulaşır ulaşmaz iç organları temizlendikten sonra fileto haline getirilmiştir. Filetolar daha sonra 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu steril saf sudan geçirilmiştir. *Spirulina* ve *Chlorella* grupları ise antioksidan ekstraktı içeren steril saf su içerisinde 5 dakika bekletilmiştir. Tüm gruplar için, her bir paket içerisinde 8 balık filetosu olacak şekilde, balık filetoları 90 µm kalınlığında polyamid bazlı paketlerde vakum paketleme makinası ile paketlenmiştir.

Çalışmada sardalya balıklarının kas dokularının besinsel kompozisyon düzeyleri araştırılmış ve protein, lipit, nem ve ham kül oranları sırasıyla; % 19.49, % 1.47, % 77.68 ve %1.36 olarak belirlenmiştir.

Yağ asidi analizleri sonucunda her grupta yüksek oranlarda tespit edilen doymuş yağ asitleri (SFA) miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0) olarak belirlenmişken, yüksek oranlarda belirlenen tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), vaksenik asit (C18:1n7), eikozenoik asit (C20:1n9) olarak belirlenmiştir. Yüksek oranlar da tespit edilen çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ise linoleik asit (C18:2n6), linolenik asit (C18:3n3), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve

dekosahexaenoik asit (DHA, C22:6n3) olmuştur. Antioksidan ilaveli grupların depolama sonundaki PUFA, MUFA ve SFA içeriklerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu, aynı zamanda yapılan kimyasal analiz (PV, TBA ve FFA) sonuçlarına göre alg ekstraktlarının sardalya filetolarında oksidasyonu geciktirdiği belirlenmiş ve bu durumun Spirulinanın ve Chlorellanın antioksidan özelliğinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Duyusal analiz sonuçlarına göre sardalyanın raf ömrü kontrol grubu için 6 gün, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için ise 9 gün olarak belirlenmiştir. Sardalyanın soğuk depolama süresince pişirilmiş olarak değerlendirilmesi görünüm, renk, koku, doku yapısı ve lezzet değişimlerine bakılarak yapılmıştır. Depolama süresince pişmiş balık etinin görünüm değerleri düşüş göstermiş olup, en hızlı düşüşler kontrol grubunda gözlenmiştir.

Mikrobiyolojik sonuçlar (TAMB, toplam psikrofil bakteri sayısı, toplam koliform bakteri sayısı, toplam laktik asit bakteri sayısı), kontrol örneklerinin daha fazla mikrobiyal bozulma sergilediği ve uygulama gruplarının tüm mikrobiyolojik değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve bu durumun duysal ve biyokimyasal bulgular ile yakın bir uyum içinde olduğunu göstermiştir.

Yapılan bu araştırmada *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı uygulamasının sardalyanın raf ömrünü kontrol grubuna göre 3 gün daha uzattığı görülmüştür. Bu raf ömrünün uzama sebebinin ise alglerin antioksidan ve antimikrobiyal özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca geniş bilgi birikimi ve deneyimiyle bana ışık tutan ilk danışman hocam Prof. Dr. Abdurrahman POLAT ve diğer danışman hocam Doç Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA'ya, çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL, Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL, Arş. Gör. Dr. Yılmaz UÇAR, Arş. Gör. Dr. Mustafa DURMUŞ, Biyolog Dr. Ali Rıza KÖŞKER'e, Zootekni öğrencileri Uğur SALTANLAR ve Merve BOSTANCI'ya, materyal temininde yardımcı olan diğer laboratuvar arkadaşlarıma, tezin yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen diğer Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, tezin düzenlenmesinde yardımcı olan Mehmet Ali AÇIK'a,

Maddi ve manevi desteğiyle bana her zaman yardımcı olan tez çalışmam sırasında her türlü desteği sağlayan başta eşim Havva Betül olmak üzere, çocuklarım Yusuf Çınar ve Erva Pınar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
RESİMLER DİZİNİ.....	XVI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Antioksidanlar	7
2.1.1. Antioksidanların Etki Mekanizması.....	8
2.1.2 Antioksidan Çeşitleri.....	10
2.2. Algler	12
2.2.1. <i>Spirulina platensis</i>	12
2.2.2. <i>Chlorella vulgaris</i>	14
2.3. Algal Antioksidanlarla ilgili Çalışmalar	15
2.4. Sardalya Kalitesi ile İlgili Çalışmalar	18
2.5. Biyojenik Aminler	21
3. MATERYAL VE METOD	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Çalışmada kullanılan alg örnekleri.....	23
3.1.2. Balık	23
3.2. Metotlar.....	24
3.2.1. Alglerin Minarel ve Toksik Metal Analizi.....	24
3.2.2. <i>Chlorella vulgaris</i> ekstraksiyonu	24
3.2.3. <i>Spirulina platensis</i> ekstraksiyonu	26

3.2.4. <i>C. vulgaris</i> ve <i>S. platensis</i> Ekstraktlarının Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi.....	26
3.2.5. Sardalyaya Antioksidan Uygulanması ve Depolama Koşulları	27
3.2.6. Besin Değerleri Analizi.....	29
3.2.6.1. Ham Protein Analizi.....	29
3.2.6.2. Lipit Analizi	30
3.2.6.3. Ham Kül Analizi	31
3.2.6.4. Nem Analizi	31
3.2.6.5. Yağ Asitleri Analizi	32
3.2.7. Duyusal Analiz.....	33
3.2.7.1. Çiğ Sardalyanın Duyusal Değerlendirilmesi.....	33
3.2.7.2. Pişirilmiş sardalyanın Duyusal Analizi	34
3.2.8. Kimyasal Kalite Analizleri.....	35
3.2.8.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini.....	35
3.2.8.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Tayini	36
3.2.8.3. Peroksit Sayısı.....	36
3.2.8.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi.....	37
3.2.8.5. pH Analizi	37
3.2.9. Biyojenik Amin Analizi	38
3.2.9.1. Biyojen Amin Analizi için Örneğin Ekstrakte Edilmesi	38
3.2.9.2. Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması	39
3.2.9.3. Balık Örneklerinin ve Standart Amin Solüsyonlarının Türevlendirme Prosedürü	39
3.2.9.4. Kromatografik koşullar	40
3.2.9.5. Ekipman ve Kolon.....	41
3.2.10. Mikrobiyolojik Analiz.....	41
3.2.10.1. Toplam Bakteri Sayımı	41
3.2.10.2. Toplam Koliform Bakteriler.....	42
3.2.10.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı.....	42

3.2.10.4. E. coli analizi.....	42
3.2.10.5. Staphylococcus aureus Aranması.....	43
3.2.10.6. Salmonella Aranması.....	43
3.2.10.7. Listeria monocytogenes Aranması.....	43
3.2.11. İstatistik Analizler.....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Spirulina spp. ve Chlorella spp. 'nin mineral ve toksik metal içerikleri.....	45
4.2. Ekstraktların Kimyasal Kompozisyonları.....	47
4.2.1. Chlorella vulgaris Ekstraktının Kimyasal Kompozisyonu.....	47
4.2.2. Spirulina platensis Ekstraktının Kimyasal Bileşenleri.....	50
4.3. Sardalyanın Kimyasal Kompozisyonu.....	53
4.3.1. Besin Değerleri.....	53
4.3.2. Sardalyanın yağ asitlerindeki değişimleri.....	54
4.4. Duyusal değerlendirme.....	62
4.4.1. Çiğ Sardalyanın Duyusal Değerlendirmesi.....	62
4.4.2. Pişmiş Sardalyanın Duyusal Değerlendirmesi.....	67
4.5. Kimyasal Değerlendirme.....	71
4.5.1. Toplam Uçucu Bazik Azot.....	71
4.5.2 Tiyobarbitürük Asit Sayısı (TBA).....	72
4.5.3. Peroksit sayısı (PV).....	74
4.5.4 Serbest Yağ Asitleri.....	75
4.5.5. pH Değeri.....	77
4.5.6. Biyojenik Aminler.....	78
4.6. Mikrobiyolojik Değişimler.....	83
4.6.1. Toplam Aerobik Mezofil Bakteri (TAMB) Sayısı.....	83
4.6.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayısı.....	85
4.6.3. Toplam Koliform Sayısı.....	86
4.6.4. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı.....	88
4.6.5. Sardalya Etinde Patojen Varlığı.....	89

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	91
KAYNAKLAR.....	103
ÖZGEÇMİŞ.....	125



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Gaz Kromatografisi Koşulları.....	33
Çizelge 3.2. Çiğ Sardalya Filetosunun Duyusal Değerlendirme Tablosu (Mendes ve ark. 2008)	34
Çizelge 3.3. Pişmiş sardalya filetosunun duyusal değerlendirme tablosu (Koning ve Mol, 1979)	35
Çizelge 3.4. Biyojen aminlerin ayrıştırılması için kullanılan HPLC gradient profili	41
Çizelge 4.1. <i>Spirulina</i> spp. ve <i>Chlorella</i> spp. türlerinin makro element değerleri (µg/g)	45
Çizelge 4.2. <i>Spirulina</i> sp. ve <i>Chlorella</i> sp. türlerinin iz element seviyesi (µg/g)	46
Çizelge 4.3. <i>Spirulina</i> spp. ve <i>Chlorella</i> spp. türlerinin toksik element seviyesi (µg/g)	47
Çizelge 4.4. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Kimyasal Kompozisyonu.....	48
Çizelge 4.5. <i>Spirulina platensis</i> Ekstraktının Kimyasal Kompozisyonu	51
Çizelge 4.6. Araştırmada kullanılan taze sardalya filetosunun temel besin değerleri	53
Çizelge 4.7. Sardalyanın soğuk depolanması süresince doymuş yağ asitlerindeki (SFA) değişimleri.....	55
Çizelge 4.8. Sardalyanın soğuk depolanması süresince tekli doymamış yağ asitlerindeki (MUFA) değişimleri.....	57
Çizelge 4.9. Sardalyanın soğuk depolanması süresince çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) değişimleri	59
Çizelge 4.10. Sardalyanın soğuk depolanması süresince yağ asitlerin oranlarındaki değişimleri	61
Çizelge 4.11. Sardalya balığının soğuk depolanması süresince TVB-N değerlerindeki değişimleri (mg/100g).....	71

Çizelge 4.12. Sardalyanın soğuk depolanması süresince TBA değerindeki değişimleri	73
Çizelge 4.13. Sardalyanın soğuk depolanması süresince peroksit sayısındaki (PV) değişimleri.....	75
Çizelge 4.14. Sardalyanın soğuk depolanması süresince serbest yağ asitlerindeki değişimi.....	76
Çizelge 4.15. Sardalyanın soğuk depolanması süresince pH değerindeki değişimleri	77
Çizelge 4.16. Soğuk depolanan sardalyanın depolama süresince amonyak ve biyojen aminlerdeki değişimleri	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1.	Gıdalarda kullanılan antioksidanlar.....	8
Şekil 2.2.	Antioksidanın etki mekanizması (Josse, 1987).	9
Şekil 2.3.	Hücre içindeki antioksidan sistem.....	10
Şekil 2.4.	Gıdalarda kullanılan sentetik antioksidanlar	11
Şekil 2.5.	<i>Spirulina plantesis</i> 'in genel görünümü	14
Şekil 2.6.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in genel görünümü	15
Şekil 2.7.	Biyojenik aminler	21
Şekil 3.1.	Biyojenik Amin Ekstraksiyonu	38
Şekil 3.2.	Balık ekstraktının türevlendirilmesi	40
Şekil 4.1.	Soğukta depolanan çiğ sardalyanın dış görünüşündeki değişimler	62
Şekil 4.2.	Soğukta depolanan çiğ sardalyanın koku değişimleri	64
Şekil 4.3.	Soğukta depolanan çiğ sardalyanın doku sertliğindeki değişimleri	65
Şekil 4.4.	Soğukta depolanan çiğ sardalyanın et rengindeki değişimler	66
Şekil 4.5.	Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın görünümündeki değişimler	67
Şekil 4.6.	Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın renk değişimleri.....	68
Şekil 4.7.	Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın koku değişimleri.....	69
Şekil 4.8.	Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın doku yapısındaki değişimleri	70
Şekil 4.9.	Soğuk depolanan sardalyanın toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı.....	84
Şekil 4.10.	Soğuk depolanan sardalyanın toplam psikrofil sayısı	86
Şekil 4.11.	Soğuk depolanan sardalyanın toplam koliform sayısındaki değişimleri	87

Şekil 4.12. Soğuk depolanan sardalyanın toplam laktik asit bakteri sayısındaki değişimleri 88



RESİMLER DİZİNİ**SAYFA**

Resim 3.1. Çalışmada kullanılan sardalya (<i>Sardinella aurita</i>)	23
Resim 3.2. Çalışmada kullanılan liyoflizatör ve genel özellikleri	25
Resim 3.3. <i>Chlorella vulgaris</i> ekstraktı	25
Resim 3.4. <i>Spirulina platensis</i> ekstraktı.....	26
Resim 3.5. Çalışmada kullanılan GC-MS	27
Resim 3.6. Sardalya filetolarına <i>Spirulina platensis</i> ekstraktı uygulaması.....	28
Resim 3.7. Sardalya filetolarına <i>Chlorella vulgaris</i> ekstraktı uygulaması	28
Resim 3.8. Vakum paketlenmiş sardalya filetoları	29
Resim 3.9. Gaz Kromatografisi genel görünümü	32



1. GİRİŞ

Gıdaların işlenmesi, depolanması, ısı muamelesine tabi tutulması ve nihai ürünün depolanması süresince meydana gelen lipit oksidasyonu, gıda ürünlerinin bozulmasına neden olan temel tepkimelerden birisidir. Lipit oksidasyonu gıdaların tat, yapı ve koku değişimlere neden olan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksitlerini oluşturan bir dizi zincir reaksiyonu içermektedir (Sarkardei ve Howell, 2008). Bu tepkimenin substratı doymamış yağ asitleridir. Bunların gıdalardaki başlıca örnekleri oleik, linoleik, linolenik ve araşidonik asittir ve sırası ile 1, 2, 3 ve 4 çift bağ içermektedir. Tepkime başlangıç enerjisini ışık, ısı gibi kaynaklardan aldıktan sonra otokatalitik olarak yürümekte ve sonuç olarak gıdanın tadını ve kokusunu olumsuz yönde etkileyen aldehit, keton gibi bir dizi bileşikler oluşmaktadır. Bu tepkimeye oksidatif acılaşıma da denilmektedir. Bir ürünün lezzeti ve aroması, her hangi bir gıdanın tercih edilmemesinde önemli bir ölçüt olabilmektedir. Lipit oksidasyon ürünleri protein gibi diğer gıda bileşenlerini etkileyebilmektedir (Karpinska ve ark., 2001).

Balık eti, besleyici değeri yüksek olmasına rağmen bozulmaya karşı direnci oldukça düşüktür. Balık kasında bağ doku yapısının zayıf olması, yüksek enzim aktivitesi, su tutma kapasitesine sahip olması balık etini bozulmaya karşı hassas kılmaktadır (Özden ve Gökoglu, 1996). Balıkta kas dokuyu parçalayan proteolitik enzimler, kas dokuyu parçalayarak dokuda yumuşamaya sebep olmakta, ilerleyen bozulma ile birlikte bakteri enzimleride devreye girmektedir. Enzim ve bakterilerden başka havadaki oksijen, balık yağlarını okside ederek acılaşımaya neden olur. Bu durum yağlı balıklarda daha yoğun gözlenmektedir (Serdaroglu ve Deniz, 2001). Su ürünlerinde yaygın olarak bulunan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) oksidasyona karşı oldukça hassas olup, depolama sürecinde balığın tekstürü ve besinsel değeri değişimlerinin yanında, balıkta kötü koku ve acı tada neden olmaktadır (Olafsdottir ve ark., 1997). Su ürünleri dahil tüm gıda endüstrisinde oksidasyonu engellemek amacıyla antioksidan maddeler

kullanılmaktadır. Serbest radikallerin olumsuz etkilerini durduran veya yok eden maddelere antioksidan denir. Antioksidanlar gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini korumak amacıyla da kullanılır (Keskin ve Erkmen, 1987). İnsanların kendi faydalarına kullanmaya başladığı doğal kaynaklar arasında mikroorganizmaların çok önemli bir yeri vardır. Son yıllarda siyono bakter ve mikro alg üretimi ve işlenmesi ile ilgili çalışmalarda önemli artışlar gözlenmektedir (Mendiola ve ark., 2007). Algler tedavi amacıyla çok uzun yıllardan beri kullanılmaktadırlar. Mikro alglerle ilgili yoğun araştırmalar ise 1980 lerde başlamış ve son 10 yılda mikro algler detaylı araştırmaların odağı haline gelmişlerdir. Bunun nedeni; enzim aktivitesini ve hücre kültürlerini baz alan yeni denemelerin geliştirilmesi ve az miktarda mikro alg kullanarak daha çok ekstrakt ve bileşiğin araştırılmasının hedeflenmesidir. (Glombitza ve Koch, 1989). Mikroalgler β karoten, astaksantin, DHA ve EPA gibi PUFA ve β glukan gibi polisakkarit bileşiklerini içerdiğinden dolayı geniş pazar boyuna sahiptir (Priyadarshani ve Rath, 2012). Makroalg ve mikroalglerden elde edilen moleküllerin antiviral, antibiyotik, antikanser, antibakteriyel, antifungal, antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra kandaki kolesterolün düşmesi, enzim inhibisyonu ve farklı farmakolojik etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bu doğal ürünler sadece ilaç hammaddesi olarak değil, sentetik moleküllerin yapımında yapı taşı olarak da görev almaktadırlar (El-Sheekh ve ark., 2006). Ticari olarak kullanılan en önemli mikroalg türleri *Isochrysis*, *Dunaliella*, *Chaetoceros*, *Chlorella* ve *Spirulina*'dır (Priyadarshani ve Rath, 2012).

Bir *Spirulina* üyesi olan *Spirulina platensis*, küçük hücreli silindirik trikomların kendi uzunluğu sarmal şekilde dizilişi ile bilinen ipliksi bir siyanobakteridir. Siyanobakterilerin beslenmesi oldukça basittir. Besin ortamında vitaminlerin bulunması gerekli değildir Beslenmek için azot kaynağı olarak nitrat ya da amonyak kullanır. Beslenmek için vitamene ihtiyacı yoktur (Dalay ve ark., 2008). *S. platensis*, yüksek protein ve diğer besleyici elementler içeriği nedeniyle uzun zamandan beri açık havuzlarda güneş enerjisini kullanarak yetiştirilmektedir. S

plantensis gıda endüstrisinde, bazı kimyasal madde üretiminde ve hayvan yemi üretiminde kullanılmaktadır. Zor koşullarda yaşadığından açık alanlarda ekonomik olarak üretilmesinde başarı sağlanmış, az sayıda türden biridir. Açık havuzlarda hücre konsantrasyonu düşüktür. *S. platensis*'in karotenoidler, gamma-linoleik asit ve fikosiyeninler gibi yüksek katma değerli maddeleri yüksek miktarda biriktirdiği fark edildiğinden beri organizmanın potansiyel üretimi bu ürünler üzerine yoğunlaşmıştır (Dalay ve ark., 2008). *Spirulina* spp., tiamin, riboflavin, niasin, beta karoten ve doğadaki en zengin bitkisel B12 içeriğine sahiptir. Vücutta emilim oranı yüksek kalsiyum ve zengin demir içeriğine sahiptir (Çağlak ve ark., 2005). *Spirulina* zengin bir mikro besleyici, antioksidan, aminoasit, vitamin ve mineral kaynağıdır. *Spirulina*; protein oranı % 65 ile herhangi bir doğal besin maddesinden çok daha fazla protein içerir ayrıca protein sindirilme derecesi yüksektir ve yağ oranı %15-20 dir. Doymamış yağ asitleri oranı yüksektir (Çağlak ve ark., 2005). Yapılan bir araştırmada spirulinanın immün sistemi güçlendirdiği saptanmıştır. Kozmetik, tıp ve gıda endüstrisinde gıda katkısı olarak kullanılmaktadır. İnsan gıdası olarak *S. planensis*'in kullanım alanları şekerleme, tatlı süt ürünleri meşrubat, unlu mamülleri, ve et endüstrisinde kullanılabilir (Hosseini ve ark., 2013). Farklı araştırmalarda *S. platensis*'in antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Özdemir ve ark. (2004) *S. platensis*'in uçucu bileşiklerinde 15 farklı bileşen bulunduğunu ve bu bileşenlerin %39'unun heptadecane ve %34'ünün tetradecane'den oluştuğunu bildirilmiştir. *S. platensis*'in metanol ekstraktının özellikle *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmalara karşı diklorometan, petroleum eter, etil asetat ekstratları ve uçucu bileşenlerden daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Özdemir ve ark., 2004). *S. platensis*'den saflaştırılmış fikosiyenin *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, hastane mikrobları ve *Staphylococcus aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Sarada ve ark., 2011). Spirulinanın antioksidan özelliğinin ana kaynağının ise içeriğindeki birçok maddenin yanı sıra temel olarak

fikosiyaninden geldiği bildirilmiştir. Fikosiyanin denilen pigmentin antioksidan özelliği yanı sıra serbest radikallerin yok edilmesinde, yangı giderici ve neuroprotektif etkilerin bulunduğu saptanmıştır (Romay ve ark. 1998, 2003).

Chlorella klorofile sahip tek hücreli alg cinsidir. Bu yüzden kloroplastlarında yeşil fotosentetik pigmentlerden klorofil a ve b yi içerirler. Bu mikroalgler arasında özellikle *Chlorella vulgaris*'in ilaç ve gıda endüstrisinde önemli potansiyel uygulamalara sahip olduğu bildirilmiştir (Rodrigues-Garcia ve Guin-Guerrero, 2008). Kurutulmuş *C. vulgaris* örneklerinin %5 nem, %45 protein, %20 lipit, %20 karbonhidrat, %5 lif, %10 mineral ve vitamin içeriği bulunmuştur. Tek hücreli alglerden *C. vulgaris* tıbbi özelliklerinden dolayı pek çok biyoaktif madde içerir. *C. vulgaris* üzerine yapılan deneysel çalışmalarda bu mikroalglerin protein sentezinde enzimatik aktivite (Morris ve ark. 2007), immünstimulant etki, antibakteriyel (Vijayavel ve ark., 2007), antioksidan (Rodriguez-Garcia ve Guil-Guerrero, 2008) ve antitümör özellik gösterdiği rapor edilmiştir. *C. vulgaris*'in bazı fonksiyonel aktiviteleri yerine getirecek antioksidan maddeleri içerdiği bilinmektedir. Bu antioksidan maddeler arasında başta lutein olmak üzere, R-karoten, askorbik asit ve R-tokoferol gibi bileşikler bulunur (Vijayavel ve ark., 2007). *C. vulgaris*'in kuru hücre ağırlığının 2-4 mg/g lutein içerdiği ve luteinin hem bir gıda boyası hemde kanser önleyici güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu kabul edilmiştir (Mendes ve ark., 1995). *C. vulgaris*'in güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu bu özelliklerinin kimyasal kompozisyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir. *C. vulgaris*'in etanol ekstraktındaki başlıca bileşenleri methyl linolenate, ethyl-9,12-octadecadienoate, ethyl-9,12,15-octadecadienoate, ethyl linoleolate, phytol, heptadecane,1-heneicosene, hexadecanoic asit ve oleik asit olmuştur (Rodriguez-Garcia ve Guil-Guerrero, 2008).

Mikroalgler pasta, içecek ve diğer gıdalara besinsel katkı veya doğal gıda renklendiricisi olarak eklenmektedir (Becker, 2004). Başta *C. vulgaris* olmak üzere mikroalglerden ekstreke edilen antioksidanların gıda endüstrisinde kullanım

potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (Priyadarshani ve Rath, 2012). Mikroalglerden *C. vulgaris* ve *S. platensis*'den elde edilen ekstraktların antimikrobiyal ve antioksidan etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yürütülmesine karşın, bu alglerin balıkların raf ömrü üzerine etkisi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada *S. platensis* ve *C. vulgaris*'den elde edilen ekstraktların sardalya filetoları üzerindeki duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



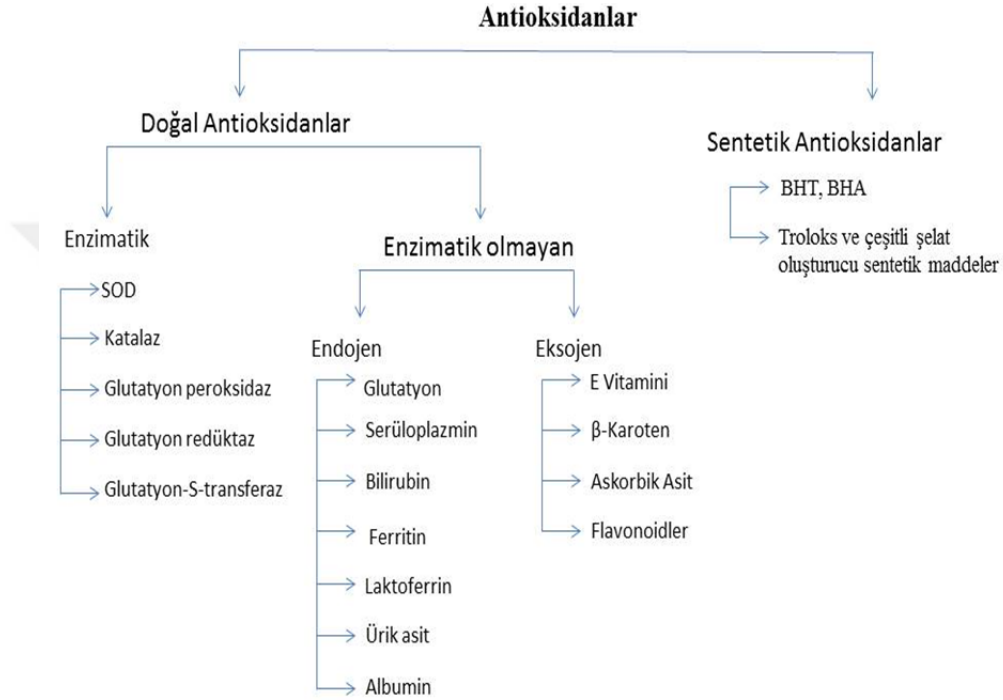


2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Antioksidanlar

Yağlı gıdalarda bazı yıkılma reaksiyonları depolama süresince bozulmaya neden olmaktadır. Gıdalarda ortaya çıkan oksidasyon ürünleri gıdaların besin kalite değerini düşüren başlıca sebeplerdendir (Gordon 2001). Antioksidanlar, oksidasyon başlangıç hızını azaltan maddelerdir. Sentetik ve doğal yüzlerce bileşiğin antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Nawar, 1985). Antioksidan içerikleri ve antioksidanların etkisi, gıda maddelerinin depolama ve muhafaza ortamının ısısına, ışığına, iklime, nemine, cinsine, hasat zamanı ve hasat yöntemlerine, gıdanın işlenmesinin yanısıra toplumun ve kişinin alışkanlıklarına göre farklılık gösterbilmektedir (Cornelli, 2009; Moure ve ark., 2000). Çağımızda endüstriyel işletmelerde gıda maddelerinin raf ömrünü artırmak için çoğunlukla butillenmiş hidroksitoluen (BHT), butillenmişhidroksianisol (BHA), ve propil gallat (PG) ve tert-butil hidrokinon (TBHQ) gibi yapay antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak, antioksidan olarak kullanılan yapay kimyasalların muhtemel zehir etkisi nedeniyle, son yıllarda doğal antioksidanlara ilgi artmaktadır (Vareltzis ve ark. 1997). Kendilerine özgü lezzet ve hoş kokuları, antioksidanve antimikrobiyel özellikleri nedeniyle, daha geniş bioaktif profile sahip olan baharatlar ve bitkiler gıda sektöründe alternatif olarak kullanılabilen doğal antioksidan maddelerdir. Çoğunluğu bitkisel kaynaklı olan yüzlerce doğal madde gıdalarda lipit oksidasyonunu azaltan antioksidan olarak kullanılabilir. Literatürde böyle doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdikleri ve bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır. Hayvansal ürünlerdeki peptitler, amino asitler ve karotenoidler, enzimler, bitkiler ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında gösterilmektedir (Hall, 2001). Doğal antioksidanlar oksidasyonu önleyebileceği, arteroskleroz, malarya, gibi antimitojenik, antikarsinogenik, antiviral, antifungal, antiaging, antibakteriyel, antitrombik ve

antihipertansif, antimetastatik, romatoid artrit, antitümoral, antiülser ve diyabet gibi hastalıkları tedavi edici özelliklerinin olduğunu yapılan in-vivo çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Yılmaz, 2010).

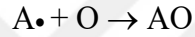
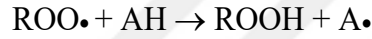
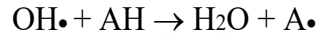
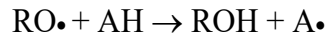
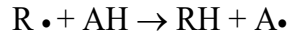


Şekil 2.1. Gıdalarda kullanılan antioksidanlar

2.1.1. Antioksidanların Etki Mekanizması

Antioksidanların etkisi oluşan serbest radikalleri toplayıcı ve giderici etkileri ile bağlamak ve kararlı hale getirmektir. Toplayıcı etki, onarıcı etki, zincir kırıcı etki ve baskılayıcı etki olarak sınıflandırılır. Reaksiyon hızını azaltarak, serbest oksijen radikalleri ile tepkimeye girerek onlara bir hidrojen vererek aktivitelerini azaltan veya etkisiz şekile dönüştüren olaya baskılayıcı etki denir. Bu baskılayıcı etkiye örnek vitaminlerdir. Onarıcı etki de ise protein, yağ ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olan moleküler hasarları onarırlar. Enzimatik etki de organizmadaki süperoksitdismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler ile enzimatik

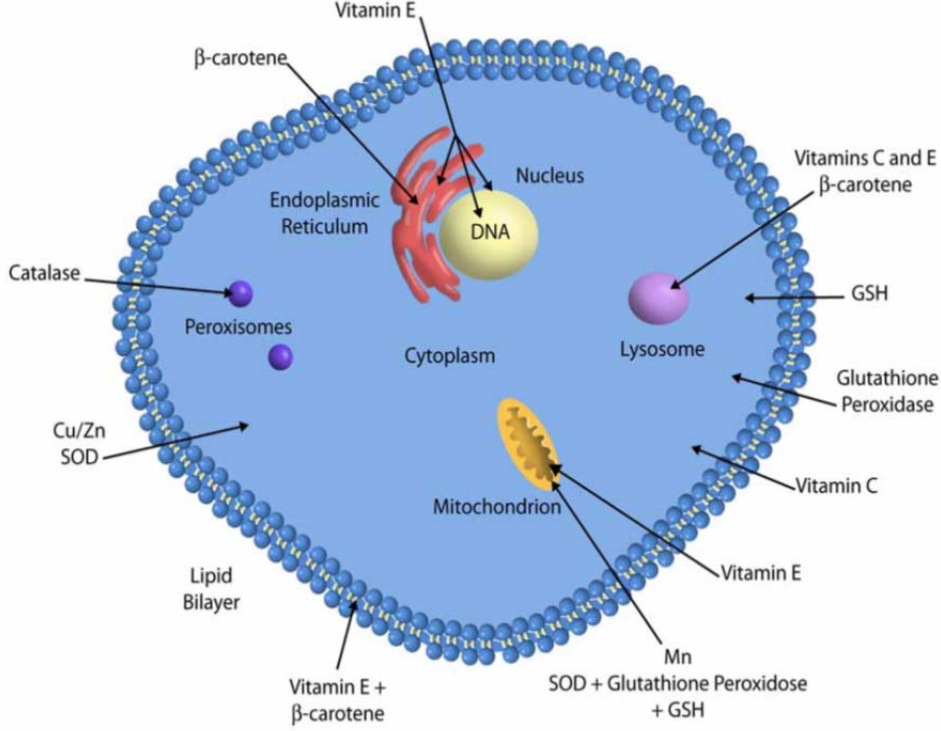
olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etkilerini gösterirler. Serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurup, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayıp yapı zincirlerini bozup işlevini etkisiz hale getirir ise zincir kırıcı etki olarak adlandırılmaktadır.



Şekil 2.2. Antioksidanın etki mekanizması (Josse, 1987).

(Antioksidanın aktif molekülü ($A \bullet$) enerjisini yağ moleküllerine aktarmamakta, genellikle inaktif moleküllere okside olmaktadır (AH: Antioksidan molekülü, $A \bullet$: Aktif antioksidan molekülü, AO: inaktif antioksidan molekülü).

Antioksidanlar sekonder ve primer olarak 2 ana başlıkta sınıflandırılırlar. Primer antioksidanlar lipid radikalleriyle birlikte doğrudan tepkimeye girer ve ürünün olduğu gibi kalmasını sağlar. Sekonder antioksidanlar ise farklı mekanizmalarla oksidasyon seviyesini daha aşağı seviyelere düşürür. Ama bu direkt serbest radikal yok edici özelliğe sahip değildir (Decker ve ark., 2005).

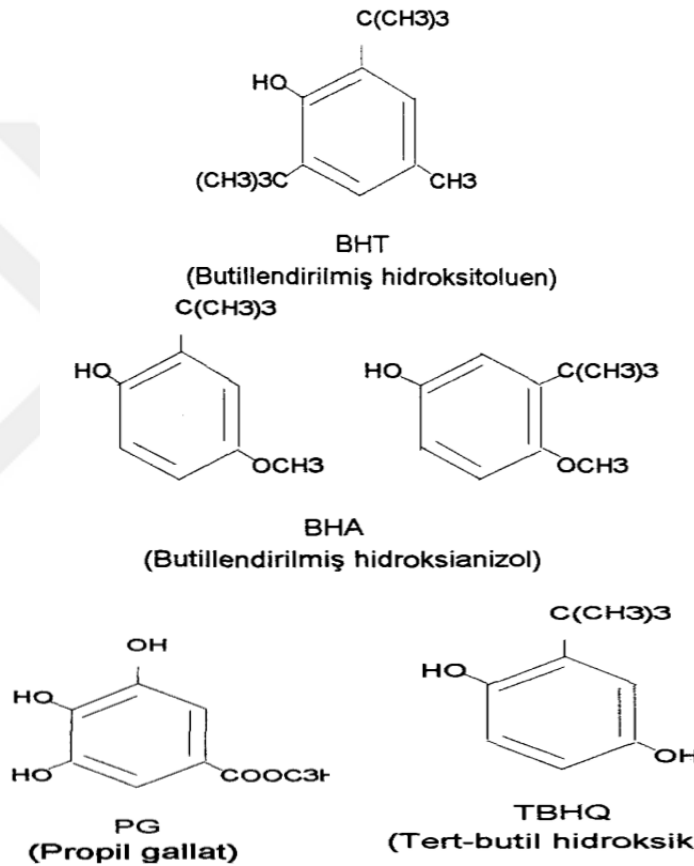


Şekil 2.3. Hücre içindeki antioksidan sistem

2.1.2 Antioksidan Çeşitleri

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır (Gökalp ve ark, 2002). Doğal antioksidanlar, organizma tarafından üretilen (endojen) ya da dışarıdan besinlerle içeriye alınan (ekzojen) yapılardır. Fakat organizmanın doğal antioksidan üretimi yaş ilerledikçe azalır (Taner, 2005). Doğal antioksidanlar sentetik antioksidanlara göre daha etkilidir. Tokoferoller, fenolik bileşikler, askorbik asit ve karotenoidler gıdalardaki en önemli antioksidan bileşenlerdir (Nichenametla, 2006; Perera ve Yen, 2007). Bunların dışında ürik asit, hemoglobin, transferin, miyoglobin, laktoferrin, ferritin, melatonin, glutatyon, metiyonin ve bilirubin gibi moleküller de gıdalarda var olan antioksidan özelliğe sahip kimyasallardır (Günaydın ve Çelebi, 2003).

Sentetik antioksidanların ana odağının gıda oksidasyonu olduğu, özellikle yağ asitlerinin oksidasyonun önlenmesi amacıyla kullanıldığı belirtilmiştir. Günümüzde, işlenmiş gıdaların neredeyse tamamı sentetik antioksidanlar içermektedir (Carocho ve ark. 2012). Sentetik antioksidanlara örnek olarak PG, BHA, TBHQ, ve BHT, verilebilir (Barlow, 1990).



Şekil 2.4. Gıdalarda kullanılan sentetik antioksidanlar (Pokorný ve Korczak, 2001).

Sentetik antioksidanlar dünya genelinde kullanımının ya yasaklanmış yada kısıtlanmışdır (Pokorný ve Korczak, 2001). Bu yüzden son yıllarda doğal antioksidanlara karşı olan ilgi artmaktadır. Genellikle doğal antioksidanlar sentetik antioksidanlara göre etkili ve daha yararlıdır. Bunun nedeni doğal antioksidan olan

α -tokoferol sentetik antioksidan olan razemik α -tokoferol den daha faydalıdır (Shi ve ark., 2001).

Ayrıca kanser oluşumunu sentetik antioksidanların tetiklediğini rapor etmişlerdir (Barlow 1990).

2.2. Algler

Makroalglerin insanların beslenmesinde ilk kullanılması 2500 yıl önce Çin'de olduğu tahmin edilmektedir (Tseng,1981). Alglerin faydalarının çok olmasından dolayı Avrupa ülkelerin de tüketimin arttığı belirtilmektedir. Algler su ortamında primer üretici canlılardır ve besin zincirinin önemli bir parçasını oluştururlar. Algler, suda yaşayan birçok canlının besin kaynağını sağlaması yanında, yeryüzünde fotosentetik karbon ihtiyacının üçte ikisini üretmeleri ve tüm ekosistemin devamlılığının sağlanması açısından oldukça önemlidirler (Özdemir ve Erkmen, 2013).Algler, hayvan yemi, gübre, doğal gıda boyası, gıda katkı maddesi, atık su arıtma, kozmetik sanayii gibi farklı alanlarda kullanılabilirler bazı ülkelerde uzun yıllardır geleneksel gıdaların bir parçasını oluşturmaktadır. Coğunluğu *Phaeophyceae* ve *Phodophycea* üyesi olan çok sayıda alg türü dünyanın çeşitli yerlerinde insanlar tarafından beslenmek için kullanılır (MacArtain ve ark., 2007). Alglerin vitamin, mineral, ve polifenoller gibi antifungal, antibakteriyel ve antiviral karbonhidrat, ayrıca protein, lipid, yağ asitleri, gliserol, doğal pigmentler ve amino asitlerce çok zengin oldukları tespit edilmiştir (Chandini ve ark., 2008). Algler vitamin ve pigmentlerin yanı sıra hem çoklu doymamış yağ asitlerince hem de antioksidanca da zengindir (Gökpinar ve ark., 2001).

2.2.1. Spirulina platensis

Farklı biyolojik ve kimyasal bileşikleri üretme özelliği nedeniyle mikroalgler önemli organizmalardır. Mikro alglerden pigmentler, vitaminler, proteinler, lipid, mineraller ve polisakkaritler gibi maddeler elde edilir.

Mikroalgler, gelişmiş ülkelerde , pigmentler gibi yüksek katma değerli bileşiklerin elde edilmesinde, sağlık amaçlı ve gıda endüstrilerinde yeni gelişen ülkelerde ise proteince zengin gıda ve yem katkısı üretimini birleştiren küçük ölçekli projeler ile büyük ölçekli atık su arıtmada kullanılırlar (Dalay ve ark., 2001). Mavi-yeşil algler özellikle üretiminin ve hasadının kolay olması nedeniyle *Cyanophyceae* familyasının önemli bir üyesi olan *S. platensis* türünün üretimi popüler hale gelmiştir. *S. platensis* içerdiği yüksek miktarda pigmentler, proteinler ve gamma linolenik asit (GLA) gibi ürünler bakımından öneme sahip olan bir siyanobakteri türüdür (Cirik, 1989, Chen ve ark., 1996; Glazer, 1999). *Spirulina*, Meksika ve Afrika kökenli bazı insanların geleneksel bir besinidir. *Spirulina*,% 62 aminoasit içeriğine sahiptir ve dünyanın en zengin doğal B12 vitamini kaynağıdır ve doğal karışık karoten ve ksantofil fitopigmentinin spektrumunu içerir. *Spirulina*, kompleks şekerlerden ve proteinlerden oluşan yumuşak hücre duvarına sahiptir. Beslenme ve çeşitli tıbbi özellikleri nedeniyle büyük bir öneme sahiptir. Çeşitli çalışmalarda, *Spirulina* veya ekstraktlarının insanlarda ve hayvanlarda kanseri önleyebileceğini veya inhibe edebildiğini göstermektedir. Ayrıca, *Spirulina*'nın bağışıklık sistemi için güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğu görülmüştür. Küçük dozlarda alınan *Spirulina* 'nın hem hümmoral hemde bağışıklık sisteminin hüccresel mekanizmayı onardığı rapor edilmiştir (Pang ve ark., 1998; Qureshi ve ark., 1996).



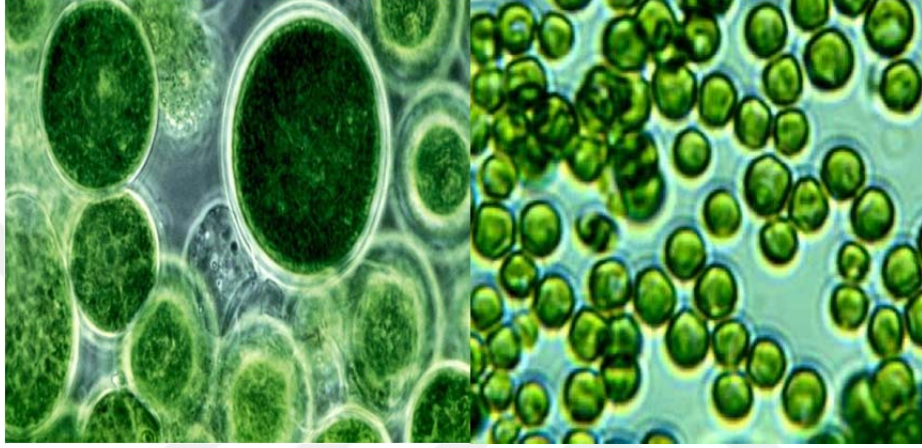
Şekil 2.5. *Spirulina plantesis*'in genel görünümü

Spirulina kolay hasat ile protein pigment kompleksleri olarak fenokobilizomları da içerir (Edwards ve ark, 1997) . Fikobilisomlar esas olarak, fikobiliproteinler (% 80-85) adlı parlak renkli polipeptitlerden oluşur. Bu mikroalge ait iki önemli biliprotein, aynı kromoforik gruba sahip olan fikosiyanin ve allofikosiyanin'dir (Szalontai ve ark., 1995).

2.2.2. *Chlorella vulgaris*

Yeşil alglerin *Oocystaceae* familyasına ait olan *C. vulgaris* (Güner ve Aysel, 1989), tıbbi özelliklere sahip birçok biyoaktif madde içeren zengin bir protein kaynağıdır. Ayrıca esansiyel amino asit, vitamin, mineral (potasyum, sodyum, magnezyum, demir ve kalsiyum), b-karoten, klorofil ve diğer faydalı birçok maddeleri içermektedir (Konishi et al., 1996). Ayrıca iyot, demir, çinko, fosfor, magnezyum ve kalsiyum da içermektedir. *Chlorella*, büyükbaş hayvanlarının karaciğerinin içermekte olduğu B12 vitamininden daha fazla B12 vitamini içerir (Jensen,1978). *Chlorella*, serbest radikalleri süpürücü antioksidan özellikli lutein, R-karoten, β -karoten, askorbik asit ve R-tokoferol içermektedir (Vijayavel ve ark., 2007) *C. vulgaris* zengin kimyasal içeriği bakımından tek

başına tam bir besindir. Yüksek protein (%50-60) ve klorofil kaynağıdır. *Chlorella chlorophyta*'ya ait tek hücreli yeşil alglerin bir türüdür ve kloroplastlarında yeşil fotosentetik pigmentlerden klorofil a ve b içerir (Sheng ve ark. 2007)



Şekil 2.6. *Chlorella vulgaris*'in genel görünümü

Chlorella'nin enzimatik protein hidrolizatlarının antitümör, hepatoprotektif, antioksidan ve antibakteriyel etkilerinin olduğu ve hatta immünostimulan aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Tanaka ve ark., 1998)

2.3. Algal Antioksidanlarla ilgili Çalışmalar

Tek hücreli alglerden *Chlorella vulgaris* tıbbi özelliklerinden dolayı pek çok biyoaktif maddeler içerir. *C. vulgaris*'in bazı fonksiyonel aktiviteleri yerine getirecek antioksidan maddeleri içerdiği bilinmektedir. Bu antioksidan maddeler arasında başta lutein olmak üzere, R- karoten, β - karoten, askorbik asit ve R-tokoferol gibi bileşikler bulunur (Vijayavel ve ark., 2007). *C. vulgaris*'in kuru hücre ağırlığının 2-4 mg/g lütein içerdiği ve lüteinin hem bir gıda boyası hem kanser hem de iyi bir antioksidan özelliğe sahip olduğu tespit etmişlerdir (Mendes ve ark., 1995). *C. vulgaris*'in güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu bu özelliklerinin kimyasal kompozisyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir. *C.*

vulgaris' in etanol ekstraktındaki başlıca bileşenler methyl linolenate, ethyl-9,12-octadecadienoate, ethyl-9,12,15-octadecatrienoate, ethyl linoleolate, phytol, heptadecane, 1- heneicosene, hexadecanoic asit ve oleik asittir (Rodriguez-Garcia ve Guil-Guerrero, 2008).

Miranda ve ark. (1998) *Spirulina maxima*'nın in vitro ve in vivo olarak metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. *Spirulina* spp., antioksidan özellik sergilediği bilinen fenolik asitler, tokoferoller ve β-karoten içerir. İn vivo antioksidan kapasitesi, 2 ve 7 hafta boyunca günlük 5 mg'lık bir doz alan hayvanların plazması ve karaciğerinde değerlendirilmiştir. Tedavi sonrasında, plazmanın antioksidan kapasitesi deney grubu için %71 ve kontrol grubu için %54' olmuştur. Çalışma sonucunda *Spirulina*'nın hem in vitro hem de in vivo sistemler için antioksidan koruma sağladığı bildirilmiştir.

Estrada ve ark. (2001) *Spirulina platensis* den fikosiyanın saflaştırmış ve karakterize etmişlerdir. Fikoksiyonin saflaştırma işlemi sırasında elde edilen farklı fraksiyonlarının antioksidan aktivitesi hidroksil radikalın süpürücü aktivitesi ile araştırılmıştır. Fikosiyanın içeriğindeki artışın farklı fraksiyonlarda antioksidan aktivitesindeki artışla ilişkili olduğunu ve dolayısıyla fibobiliprotein fikosiyanın antioksidan aktiviteden sorumlu temel bileşen olduğu bildirilmiştir.

Zhanga ve ark. (2010), kahverengi alg (*Laminaria japonica*), kırmızı alg (*Porphyra haitanensis*) ve üç farklı yeşil algden (*Ulva pertusa*, *Enteromorpha linza* ve *Bryopsis plumose*) beş çeşit polisakarit elde etmişlerdir. Elde edilen polisakaritleri laboratuvar şartlarında antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Bu incelemede bazı polisakaritlerin güçlü bir antioksidan özellik sergilediği bulunmuştur. Bu alglerin arasında en çok antioksidan özellik gösteren üyelerin *Ulva pertusa* bunu takiben *Porphyra haitanensis*, *Enteromorpha linza*, *Laminaria japonica* ve *Bryopsis plumose* olduğu bulunmuştur.

Haddar ve ark. (2012), kahverengi alglerin (*Cystoseira barbata*) sulu veya metanolik ekstraktları içeren Atlantik mavi yüzgeçli ton balığı (*Thunnus thynnus*) derisinin jelatin özelliklerini ve fonksiyonel özelliklerini araştırılmıştır. Jelatin,

farklı konsantrasyonlardaki pepsin asit işleme ile ekstrakte edildikten sonra ısı işleme maruz kalmıştır. Filmlerin antioksidan özelliklerinin alg ekstraktları eklendiğinde önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Kahverengi alg ekstraktlarının fonksiyonel ve antioksidan özellikli ton balığı derisi jelatininden yenilebilir film elde etmede yararlı bir katkı sağladığı görülmüştür.

Vijayabaskar ve ark. (2012), kahverengi algden (*Sargassum swartzii*) ekstrakte edilen sülfatlanmış polisakkariti antioksidan potansiyeli açısından araştırılmışlardır. En yüksek antioksidan aktiviteyi ABTS'de (% 55), H₂O₂'de (% 47.23) ve DPPH'de (% 25.33 2) olarak belirlemişlerdir. *Sargassum swartzii*'den elde edilen sülfatlanmış polisakkaritin doğal bir antioksidan kaynağı olduğu kadar antibakteriyel bir ajan olduğu da görülmüştür.

Fleita ve ark (2015), kırmızı alglerden *Pterocladia capillacea*' dan elde edilen sülfatlı polisakkaritleri farklı enzimler kullanılarak hidrolize etmişlerdir. Üretilen fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ham ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. Yüksek moleküler ağırlıklı fraksiyonların viskozim ve galaktosidaz hidrolizi, serbest DPPH (1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radikal aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Kırmızı algin viskozim hidrolizatının % 92'lik en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu ve ana fraksiyonundan % 50'den fazla artış sağladığı görülmüştür. Viskozim ve galaktosidaz hidrolizatlarının ana fraksiyonlarına göre daha yüksek toplam fenolik içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca antioksidan ile viskozim hidrolizatının ticari ascorbik asit antioksidana göre daha fazla antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir.

Foo ve ark (2017) doğal ve sürdürülebilir antioksidan kaynaklar olarak fukoksantin üreten yosunlardaki biyoaktif maddelerin (karotenoid ve fenolik bileşikler) antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlamıştır. Bu çalışmada alglerin (beş mikroalg ve bir makroalg) toplam karotenoid, fenolik asit, fukoksantin içeriği ve yağ asidi profili nicel olarak belirlenip, dört antioksidan testi kullanılarak biyoaktivite değerlendirmesi yapılmıştır. İncelenen algler arasında en yüksek antioksidan aktivite *Chaetoceros calcitrans* ve *Isochrysis galbana*

üyelerinde gözlenirken, bunu *Odontella sinensis* ve *Skeletonema costatum* takip etmiştir. *Phaeodactylum tricornutum* ve *Saccharina japonica* incelenen alg türleri arasında en az antioksidan aktivite sergilediği bulunmuştur.

Afify ve ark. (2017) *Spirulina platensis*'in protein hidrolizatlarının DPPH (1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) ve ABTS (2,20-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonate) yöntemiyle antioksidan aktivitesine ölçülmüştür. Bu ölçüm sonucunda *Spirulina platensis*'in protein hidrolizatlarının iyi bir antioksidan özellik taşıdığı görülmüştür.

Palanisamy ve ark (2017) kahve rengi deniz yosunundan (*Sargassum polycystum*) izole edilen fukoidanın antioksidan ve antikanser etkisini araştırmışlardır. 1000 ug/ml fukoidanın, maksimum radikal süpürücü aktivitesi % 61,2, indirgeme kabiliyeti % 67.56 ve toplam antioksidan aktivitesi % 65,3 olduğu bildirilmiştir. *S. polycystum*'dan izole edilen fukoidanın, meme kanserine karşı antioksidan olarak koruyucu özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir.

Fimbres-Olivarria ve ark (2017) *Navicula* spp. Üyelerinden elde edilen sülfatlanmış polisakkarilerin kimyasal özelliklerini ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmada *Navicula* spp. üyelerinden beyaz, kırmızı ve mavi dalga boylarıyla sülfatlanmış polisakkaritleri ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen bu polisakkaritler gaz kromatofisi kullanarak analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda başlıca bulunan şekerler glikoz, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve manoz olmuştur. Beyaz dalga boyu ile ekstrakte edilen örneklerin radikal temizle aktivitesi kırmızı ve mavi dalga boyundaki örneklerle kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Beyaz dalga boyu ile ekstraksiyon işlemi ile örnekler yüksek bir antioksidan özelliğe sahip olduğundan, bu sülfatlanmış polisakkaritlerin biyoteknolojik uygulamalar için potansiyel bir antioksidan olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

2.4. Sardalya Kalitesi ile İlgili Çalışmalar

Saldanha ve ark. (2008) ızgara yöntemi ile pişirilmiş ve donmuş *Sardinella brasiliensis*' in depolanma süresince yağ asidi içeriği ve kolesterol oksit

değerini araştırmışlardır. Taze sardalyalarda, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) önemli bir kısmını eikosapentaenoik asit (EPA) (%11.47) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) (16.77) oluşturmuş olup, işleme sırasında kolesterol oksit formu ve toplam kolesterol önemli ölçüde azalmıştır. Sardalya örneklerinde saptanan kolesterol oksitler, 19 hidroksikolesterolün ana ürünü olan 19-hidroksikolesterol, 22 (S) -hidroksikolesterol, 24 (S) -hidroksikolesterol, 25hidroksikolesterol, 25 (R) -hidroksikolesterol ve 7-ketokolesterol olarak belirlenmiştir. Depolama süresince, toplam kolesterol oksidasyonu ürünlerinde önemli değişimler (19.4-177.9 mg / g) gözlenmiştir. 120 gün depolanan işlenmiş sardalyanın EPA ve DHA değerleri depolama süresince azalmıştır.

Chaijan ve ark (2006) buzda 15 gün depolama süresince *Sardinella gibbosa*'nın lipidlerindeki değişimi incelemiştir. Depolama süresince lipit oksidasyonu gözlenmiştir. FTIR (fourier transform infrared) spektrum analiz sonucuna göre sardalya kaslarında 6 günlük buzda depolama süresince kademeli olarak peroksit oluşumunda artışlar olduğu bildirilmiştir. Tiobarbitürik asit reaktif maddelerinde (TBARS) buzlu depolama boyunca belirgin artışın olduğu saptanmıştır (P <0.05). Ancak, buzlu depolamanın ilk 12 günü içinde, sardalya kasının konjuge diene bir farklılık bulunamamıştır (P > 0.05). Depolama süresi ilerledikçe özellikle EPA ve DHA olmak üzere doymamış yağ asitlerinde önemli düşüşler gözlenmiştir. Bu değişimler sardalya kasında lipit oksidasyonunun gerçekleştiğini göstermiştir. Buzlu depolama sırasında, trigliserit ve fosfolipit içeriğindeki azalmalar ile birlikte serbest yağ asidi oluşumunda kademeli bir artış gözlenmiştir. Bu durumun lipazlar ve fosfolipazlar tarafından ortaya çıkan lipit hidrolizinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Njinkoue ve ark (2001) Senegal sularında avlanan üç farklı balık türünün (*Sardinella aurita*, *Sardinella maderensis* ve *Cephalopholis taeniops*) lipit içeriği ve yağ asidi bileşimini araştırmışlardır. *S. maderensis* ve *S. aurita* % 5 lipit içerirken, *C. taeniops* yaklaşık %1 oranında lipit içermiştir. Palmitik asit çalışılan tüm örneklerin kas ve derisinde bulunan başlıca yağ asidi olmuştur (toplam yağ

asitlerinin % 20-33'ü). Oleik asit *S. maderensis* (% 27.2) ve *S. aurita* (% 44.7) karaciğerinde ana yağ asidi olarak belirlenmiştir. Üç balık türünün kası % 16.0'dan % 29.1'e değişen yüksek konsantrasyonlarda PUFA (başlıca EPA ve DHA) içermiştir. Toplam lipitlerin % 9 ila % 11'ini oluşturan kas sterollerinin, esas olarak kolesterolden (toplam sterollerin % 97'sine kadar) oluştuğu bildirilmiştir.

Buamard ve ark. (2015), hindistancevizi kabuğu etanolik ekstraktlarının sardalyadan elde edilen suriminin jelleşme özelliklerinin etkisi araştırmışlardır. Ayrıca, % 60 etanol ve % 80 etanol kullanılarak hazırlanan ekstraktların toplam fenolik bileşikleri araştırılmıştır. Sırasıyla 464 ve 454 mg tanin /g içeriği surimi jeli içine katılmıştır. %60 veya % 80 etanolik ekstraktlar eklenen jeller, konsantrasyon arttıkça kopma kuvvetinde artışa sahip olduğu gözlenmiştir. %60 ve %80 etanolik ekstraktların surimi jelinin duyuşal özellikleri üzerinde zararlı bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir. Her iki ekstrenin varlığında, daha az surimi jel otolizi gözlenmiştir. Bu nedenle, uygun bir şekilde ekstrakte edilen hindistancevizi kabuğunun sardalya surimi jelinin stabilitesini artırabildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Chandrasekar ve ark (2016) sardalya yağında bulunan üç hidroksibenzoik asit (gentisik asit, protokatekuik asit ve vanilik asit) türevlerinin antioksidan kapasiteleri karşılaştırmışlardır. Sardalya yağının peroksit değeri, konjuge dien değeri, p-anisidin değeri ve TBARS değerleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda asetanik asitin (2,5 dihidroksi benzoik asit) sardalya yağına oksidatif stabilite kazandırılmasında en etkili hidroksibenzoik asit olduğu gözlenmiştir. Protokatekuik asit (3,4 dihidroksi benzoik asit) nispeten daha az oksidatif stabilite sağlarken, vanillik asitin etkisi olmamıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, hidroksilasyon ve metil sübtütüsyon pozisyonunun sardalya yağındaki moleküllerin antioksidan kapasitesini etkilediğini göstermiştir. Ayrıca, lipit sistemlerinde antioksidanlar tarafından sağlanan oksidatif stabilite derecesinin diğer bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerden de etkilendiği bulmuşlardır. Kenar .(2009) Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinden solvent ekstraksiyon yöntemi ile doğal antioksidan elde edilmiştir.

Solvent ekstraksiyon yöntemiyle üretilen doğal antioksidanların vakum paketlenmiş sardalya (*Sardina pilchardus*) filetoalarının (4°C) üzerine uygulamışlardır. Ekstrak uygulanmış bu filetoaların duysal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. Araştırma sonucunda adaçayı ekstraktının antioksidan etkisi görülmez iken biberiye ekstraktının oksidasyonu engellediği ve antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur.

2.5. Biyojenik Aminler

Protein yıkımı ile oluşan biyojenik aminler temel olarak, azottan serbest metabolizma ürünlerinin aminleşmesi, amino asitlerin sekonder dönüşümü, azotlu bileşiklerin ve azotlu parçalanma ürünlerinin hidrolize olmaları ile meydana gelmektedir (Gökoğlu ve Varlık, 1995). Biyojenik aminlerden başlıca histamin olmak üzere kadeverin, tiramin, putresin, triptamin, spermin, spermidin, agmatin, β - feniletilamin amino asitlerin bakteriyel dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır (Şekil 2.7).

Histamin (HIS)	
Tiramin (TYR)	
Kadaverin (CAD)	
Spermidin (SPD)	
Spermin (SPM)	
Triptamin (TRPT)	
Feniletilamin (PHEN)	
Serotonin (SER)	
Dopamin (DOP)	
Agmatin (AGM)	

Şekil 2.7. Biyojenik aminler

Bu aminler gıdalarda tazelik veya bozulma derecesini göstermektedir (Özoğul, 2004). 1000 mg amin /kg gıda seviyesi sağlık için tehlikeli limit olarak kabul edilmektedir. Bu seviye, gıda amin konsantrasyonu ile ilişkili gıda kaynaklı histamin zehirlenmesi bazlı olarak hesaplanmaktadır (Taylor 1985). Tiramin için 100- 800 mg/kg ve feniletilamin için 30 mg/kg değerleri gıdalarda toksik doz olarak bildirilmiştir. Gıdalarda 100 mg/kg ve alkollü içeceklerde 2 mg/L histamin düzeyi bir yasal üst sınır olarak önerilmektedir (Halasz ve ark., 1994). Bozulmuş gıdalarda histamin, putresin ve kadaverinle sinerjetik etkiye girer (Bjeldanes ve ark. 1978). Bu nedenle histaminin yüksek miktarlarda alınımı gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. 8-40 mg histamin alınımı ‘‘düşük’’ 40-100 mg histamin alınımı ‘‘orta’’ 100 mg’ın üzerinde histamin alınımı ise ‘‘şiddetli’’ gıda zehirlenmesine neden olur (Özdestan ve Üren, 2012).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan alg örnekleri

Bu çalışmada materyal olarak mavi yeşil alglerden *Spirulina plantesis* ve yeşil alglerden *Chlorella vulgaris* öğütülmüş kuru toz olarak Akuatik Su Ürünleri Limited şirketinden satın alınmıştır.

3.1.2. Balık

Sardalya (*Sardinella aurita*) 2017 Kasım ayında Mersin körfezinden taze olarak temin edilmiştir. Balıklar avlanır avlanmaz buzda depolanmış ve 8 saat içerisinde Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojileri Laboratuvarına getirilmiştir. Balıkların ortalama ağırlık 34.0 ± 1.85 g iken ortalama boyları ise 15.0 ± 1.80 cm olarak ölçülmüştür.(Resim.3.1). Bu çalışmada toplam 12 kg balık eti kullanılmıştır



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan sardalya (*Sardinella aurita*)

3.2. Metotlar

3.2.1. Alglerin Minarel ve Toksik Metal Analizi

Spirulina plantesis ve *Chlorella vulgaris* örnekleri metal analizi için 105 °C'de kurutulduktan sonra ve 0.08 ila 0.10 g numune alınarak cam tüplere yerleştirilmiştir. Örnek üzerine 2ml HCl (Merck, %37), 2 ml nitrik asit (Merck, %65), 2ml perklorik asit (Merck, Darmstadt, Germany) ve 2 ml hidrojen peroksit (Merck, %30) eklendikten sonra, örnekler çözünene kadar 150°C'de hot plate'de tutulmuştur. Sonrasında örnekler filtreden geçirilmiştir.

Alglerin metal içeriğini belirlemek için endüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi (ICP-MS, Agilent, 7500ce Model, Japan) kullanılmıştır. ICP-MS ortam koşulları; radyo frekansı (RF) 1500 W, plazma gaz akış oranı 15 L/dk, ; yardımcı gaz akış oranı 1L/dk, taşıyıcı gaz akış oranı 1.1 L/dk, sprej odası sıcaklığı 2°C, örnek derinliği 8.6 mm, örnek girişi akış oranı 1mL/dk, nebulizatör pompası 0.1 rps, ekstrakt lensi 1.5 V olmuştur. Her bir metal için örnekler 3 tekrarlı olarak analize alınmıştır. Alglerde makro elementler (Na, Mg, P, K, Ca), iz elementler (Cu, Zn, Fe) ve potansiyel olarak toksik metallere (Cd, Cr, Pb, As) bakılmıştır. Örneklerdeki element düzeyleri µg metal/ g kuru ağırlık cinsinden ölçülmüştür. Metal analizlerinin belirlenmesinde Yüksek Saflıkta Çoklu Standart (High Purity Multi Standard, Charleston, SC 29423) kullanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için standart solüsyonlar potansiyel toksik metallerin dilüsyonlarından hazırlanmıştır. Solüsyonlar 1-50 ppb (0.001 ile 0.050 mg/L) düzeyindeki arsenik içeriğine sahip toksik metallere hazırlanmıştır.

3.2.2. *Chlorella vulgaris* ekstraksiyonu

Hasegawa ve ark (1995) Kuru toz *C. vulgaris* hücreleri %10 (w/v) saf su ile karıştırılıp, 100 °C'de 20 dk kaynatılmıştır. Daha sonra bu örnekler 4 °C'de 7200 RPM'de 20 dk santrifüj edilerek üst fazları alınarak filtre (whatman no:1) edilmiştir. Üst faz liyoflizatörde kurutulduktan sonra (Resim 4) *C. vulgaris*

ekstresi elde edilmiştir (Resim 3.3). Bu ekstreler analiz gününe kadar 4 °C'de depolanmıştır.



ÖZELLİKLER	
Ağırlık	115,7 kg
Boyutları	80,7 cm * 75,1 cm * 92,2 cm
Toplayıcı Sıcaklığı	50° C
Buz Tutma Kapasitesi	6L
Fiş Tipi	Çin /Avustralya
Stil	Konsol
Model	Free zone 6 L 50 konsol freze Dryer

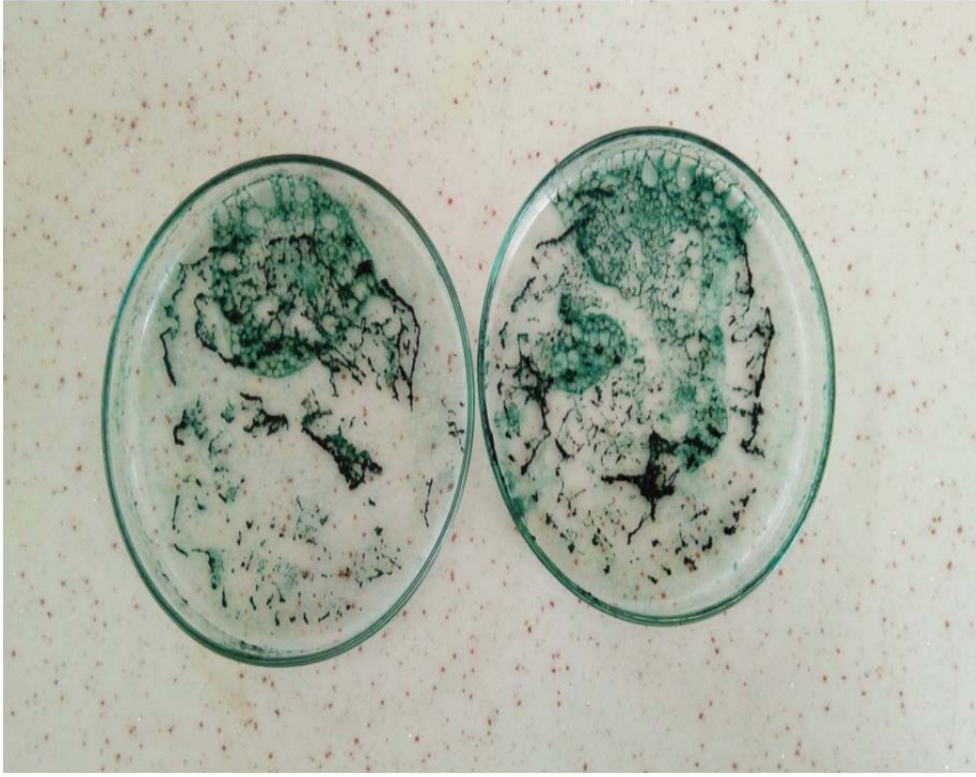
Resim 3.2. Çalışmada kullanılan liyoflizatör ve genel özellikleri



Resim 3.3. *Chlorella vulgaris* ekstraktı

3.2.3. *Spirulina platensis* ekstraksiyonu

Zahid. A.A ve ark (2015) *Toz halindeki S. platensis'den* 3 g alınarak 100 ml ultra saf suyun içerisinde 24 saat oda sıcaklığında sürekli karıştırılmıştır. Karışım daha sonra 4 °C 5000 RPM'de 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantlar Whatman no:1 filtre kağıdı ile süzümüştür. Ardından örnekler liyoflizatör ile kurutularak analiz gününe kadar+ 4 °C ' de depolanmıştır (Resim.6)



Resim 3.4. *Spirulina platensis* ekstraktı

3.2.4. *C. vulgaris* ve *S. platensis* Ekstraktlarının Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraktların kimyasal içeriğinin belirlenmesinde, katı faz mikroekstraksiyon yöntemi esas alınmıştır. 20 mL headspace vial içine konulan

0.5 g alg numuneleri 30 dk kadar 60 °C' de tutulduktan sonra 50/30µm DVB/CAR/PDMS fiber ile absorbe edilmiş ve hemen arkasından gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS; Agilent 7000 Series Triple Quad, MS: 35-450 m/z tarama aralığında) cihazının kapiler kolonuna (HP - 5MS, 30 m uzunluk x 0.25 mm iç çaplı x 0.25 µm film kalınlığı, %5 phenyl methyl poly siloxane) enjekte edilmiştir (Resim 3.5). Fırın sıcaklığı 35 °C'de 4 dk bekledikten sonra 250 °C'ye dk'da 5 °C'lik artışa ulaşılacak şekilde programlanmıştır. İyonlaştırma türü olarak EI (70 eV) ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Bileşenlerinin tanımlanmasında NIST14L ve Flavor 2L kütüphanelerinden yararlanılmıştır. (Resim.3.5)



Resim 3.5. Çalışmada kullanılan GC-MS

3.2.5. Sardalyaya Antioksidan Uygulanması ve Depolama Koşulları

Taze olarak elde edilen sardalyalar laboratuvara ulaşır ulaşmaz iç organları temizlendikten sonra fileto haline getirilmiştir. Filetolar daha sonra 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu steril saf sudan geçirilmiştir. *Spirulina* ve *Chlorella*

gruplar ise antioksidan ekstraktı içeren steril saf su içerisinde 5 dakika bekletilmiştir. Balık etine antioksidan uygulaması Kenar ve ark. (2010) kullandığı yöntemle yapılmıştır. Ekstraktlar balık etine % 1 oranında eklenmiş olup, UV ışını altında steril edilen 10 g *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı içeren 1L saf su içerisinde 10 dk süresince bekletilmiştir (Resim 3.6 ve 3.7).

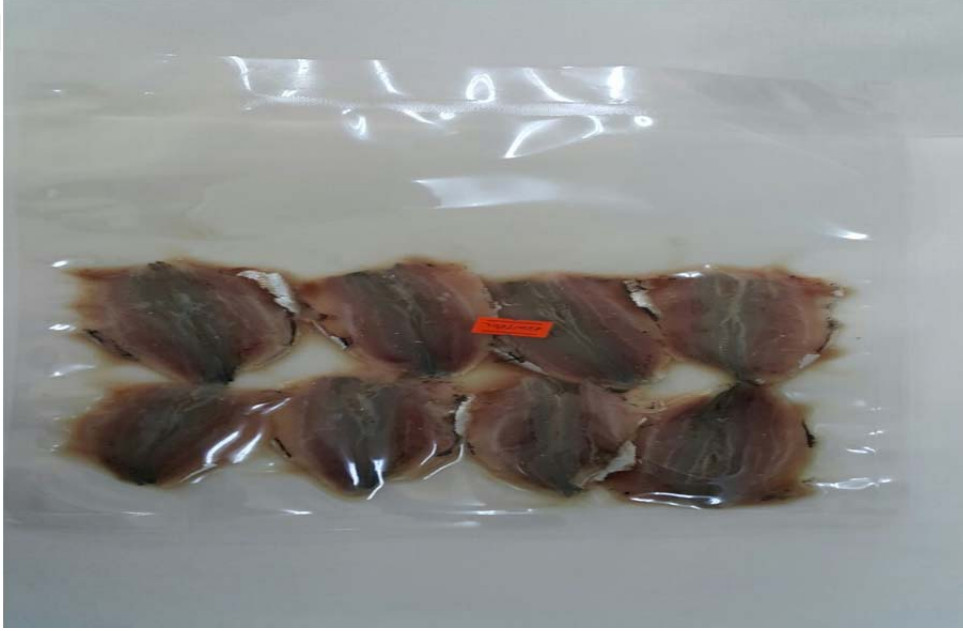


Resim 3.6. Sardalya filetolarına *Spirulina platensis* ekstraktı uygulaması



Resim 3.7. Sardalya filetolarına *Chlorella vulgaris* ekstraktı uygulaması

Tüm gruplar için, her bir paket içerisinde 8 balık filetosu olacak şekilde, balık filetoları 90 µm kalınlığında polyamid bazlı paketlerde (Polinas, Manisa, Turkey) vakum paketlenme makinası (Reepack RV50, Italy) ile paketlenmiştir (Resim 3.8). Vakum paketlenen filetolar 4 ± 1 °C'de depolanmıştır. Balık örnekleri depolamanın 0, 3, 6, 9, 11, 13 ve 15. günlerinde analize alınmıştır. Çalışmada veriler her analiz gününde, her bir grup için 3 tekerrürlü olacak şekilde 3 farklı paket kullanılarak elde edilmiştir.



Resim 3.8. Vakum paketlenmiş sardalya filetoları

3.2.6. Besin Değerleri Analizi

3.2.6.1. Ham Protein Analizi

Ham protein analizi Kjeldahl metoduna (AOAC, 1984) göre yapılmıştır. Kjeldahl tüpleri içerisindeki 1 g homojenize edilmiş örnek üzerine, 2 adet kjeldahl tablet (Merck, TP826558) ve 20 ml H₂SO₄ eklenerek yakma ünitesinde örnekler yeşil renk alana kadar 2-3 saat yakılmıştır. Oda sıcaklığına geldikten sonra örneğin

bulunduğu tüp içerisine 75 ml su eklenmiştir. 25 ml %40 'lık borik asit (H_3BO_3) solüsyonu eklenen erlen ile, kjeldahl tüpleri kjeldahl cihazına yerleştirilerek %40'lık NaOH ile 6 dakika distilasyon işlemi yapılmıştır. Kjeldahl cihazından alınan erlen içerisindeki solüsyon 0.1 M HCl ile rengi şeffaf olana kadar titre edilmiştir. Sarf edilen HCl miktarı kaydedilerek, aşağıdaki formül yardımıyla protein miktarları bulunmuştur.

$$N = \frac{14.01 \times (A-B) \times M \times 100}{g \times 10}$$

% Protein = %N x 6.25

A: Örnek için sarf edilen HCl miktarı

B: Kör için sarf edilen HCl miktarı

M: Asit molaritesi

g: Örnek miktarı

3.2.6.2. Lipit Analizi

Lipit analizi Bligh ve Dyer (1959)'in uyguladığı yönteme göre yapılmıştır. 15 g homojenize edilmiş örnek, üzerine 120 ml metanol/kloroform (1/2) eklendikten sonra Warring blender ile karıştırılmıştır. Daha sonra bu örnekler üzerine 20 ml % 0.4'lük $CaCl_2$ solüsyonundan eklenerek süzme kağıdından (Scleicher&Schuell, 595^{1/2} 185 mm) süzülen örnekler, 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan balon jodelere süzdürülmüştür. Bu balonlar ağızları hava almayacak şekilde kapatılıp 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol-sudan oluşan üst tabaka bir ayırma hunisi yardımıyla alınmıştır. Balonların içinde kalan kloroform-lipit kısmından kloroform °60 C'de su banyosunda rotary evaporatör kullanılarak uçurulmuştur. Daha sonra balonlar etüvde 1 saat süreyle 60 °C'de bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamının

uçması sağlanmış ve bir desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup 0.1 mg duyarlı hassas terazide tartılmıştır. Lipit oranının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Lipit miktarı (\%)} = \frac{[\text{Balon Darası(g)} + \text{Lipit(g)}] - [\text{Balon Darası (g)}] \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

3.2.6.3. Ham Kül Analizi

Ham kül analizinde kullanılan porselen krezeler ilk önce 103 °C'de 2 saat süreyle etüvde kurutulup daha sonra desikatörde soğutulduktan sonra 0.1 mg duyarlı hassas terazide daraları alınmıştır. Krezeler içerisine homojenize edilmiş örnekten 3.3-5 g tartılıp bu örnekler 4 saat 550 °C'de rengi açık gri oluncaya kadar yakılmış ve ardından desikatör içinde oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra, hassas terazide tartılmıştır. Örneğe ait % ham kül sonuçları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.(AOAC 2002)

$$\text{Ham Kül (\%)} = \frac{[\text{Dara (g)} + \text{Ham Kül(g)}] - \text{Dara(g)} \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

3.2.6.4. Nem Analizi

Nem analizi Ludorf ve Meyer (1973)'in uyguladığı yöntem esas alınarak yapılmıştır. Porselen krezeler etüvde 105°C'de 1 saat süreyle kurtulmuş ve desikatörde 30 dakika süreyle soğutulduktan sonra 0.1mg duyarlı hassas terazide darası alınmıştır. Daha sonra homojenize edilmiş örnekten darası alınan krezelere yaklaşık 4-5g koyularak sabit bir ağırlığa ulaşana kadar (8 saat) kurutulmuştur. Bu işlemin ardından oda sıcaklığına kadar soğumaları için desikatöre yerleştirilmiş ve 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Analiz sonucunda örneğe ait nem miktarı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\%Nem\ miktarı = \frac{\text{İlk Tartım} - \text{Son Tartım} \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

3.2.6.5. Yağ Asitleri Analizi

Ekstrakte edilmiş lipitten, yağ asidi metil esterleri, methanol ve n-heptan içinde 2M'lık KOH oluşmuş transmetillendirme yöntemi ile hazırlanmıştır. 10mg ekstrakte edilmiş yağ örneği üzerine 4 ml 2M'lık KOH oluşan 2 ml heptan ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırılmış ve 4000rpm' de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve heptan tabakası gaz kromatografisinde (GC) (Resim.11) analiz edilmiştir. Ichihara ve ark (1996) Çizelge.1 GC koşullarını vermektedir.



Resim 3.9. Gaz Kromatografisi genel görünümü

Çizelge 3.1. Gaz Kromatografisi Koşulları

Cihaz	Perkin Elmer Clarus 500
Kolon	SGE kolunu(30 m. 0,32mm ID.BPX20 0.25um, USA)
Kolon Sıcaklığı	140 °C'de 5 dk, 4°C/dk artışla 200 °C'ye, 1 °C/dk artışla 220 °C'ye getirilerek sonlandırıldı.
Enjeksiyon Sıcaklığı	220 °C
Taşıyıcı Gaz	16psi
Split Oranı	1:100
Dedektör	Alev iyonizasyon dedektörü (FID)
Dedektör Sıcaklığı	280 °C
Örnek Miktarı	2µl

Yağ asitleri standartı 37 bileşenden oluşan karışımının gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Aynı şekilde yapılan iki GC analiz sonuçları \pm standart sapma değerleri ile % olarak GC bölümünde ifade edilmiştir (Ichibara ve ark. 1996).

3.2.7. Duyusal Analiz

3.2.7.1. Çiğ Sardalyanın Duyusal Değerlendirilmesi

Balığın çiğ olarak duyusal değerlendirilmesi, Mendes ve ark (2008) göre yapılmıştır. Her değerlendirme minimum 6 deneyimli panelist tarafından yürütülmüştür. QIM şeması toplam 6 puan olmak üzere 4 parametreden oluşmaktadır (Çizelge.2). Her bir parametre için 0 çok taze balık etini gösterirken, daha yüksek puanlar daha düşük kaliteyi belirtmiştir. Bu sistemde 0 çok taze balığı verirken, giderek artan değerler balığın depolama süresiyle bağlantılı olarak bozulduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.2. Çiğ Sardalya Filetosunun Duyusal Değerlendirme Tablosu (Mendes ve ark. 2008)

Özellikler	Tanımlayıcılar	Puanlar
Dış Görünüş	Gümüšümsü, parlak, hafif yanardöner	0
	Gümüšümsü, az parlak, hafif sarımsı	1
	Gümüšümsü, az parlak, sarımsı, açık yeşil	2
	Mat, rengi bozulmuş	3
Koku	Taze sardalya, nötr	0
	Yoğun sardalya, hafif acı	1
	Acı	2
	Acı yağ ve bozulmuş	3
Sertlik	Sıkı, elastik	0
	Daha az sıkı, elastik	1
	Daha az elastik	2
	Yumuşak	3
Et rengi	Şeffaf pembe,parlak,yarı saydam	0
	Pembe/sarımtırak, daha az parlak, daha az yarı saydam	1
	Krem/kahverengi, donuk	2
	Krem/kahverengi, donuk, sarımtırak solgun	3

3.2.7.2. Pişirilmiş sardalyanın Duyusal Analizi

Pişmiş sardalya filetosunun duyusal değerlendirilmesi hedonoik skalaya (Koning ve Mol, 1979) göre yapılmıştır (Çizelge 3.3). Pişmiş sardalya filetoları, deneyimli 6 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Duyusal özellikler 5’den ≥ 1 ’e kadar olan tanımlayıcı kriterler ile değerlendirmiştir. 5 tamamen taze balığı, ≥ 1 ise

tamamen bozulmuş balığı göstermiştir. Balık filetoları yaklaşık 2 dakika mikrodalga fırında (300 mhz) pişirildikten hemen sonra panelistlere sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Pişmiş sardalya filetosunun duyusal değerlendirme tablosu (Koning ve Mol, 1979)

	5 Çok beğendim	4 Beğendim	3 Yorumsuz	2 Beğendim	1 Hiç beğenmedim
Görünüm					
Renk					
Koku					
Lezzet					
Doku Yapısı					

3.2.8. Kimyasal Kalite Analizleri

3.2.8.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini

Balık etindeki TVB-N analizi Antonocoppoulus (1973)'ün uyguladığı yöntemle göre yapılmıştır. Uygulanan yöntemde homojenize edilmiş 10g örnek alınarak Kjeldahl aleti tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örneğin üzerine 2 g MgO ve 100 ml distile su eklenmiştir. 250 ml'lik erlenler içerisine ise 100 ml su ve 10 ml %3'lük borik asit ve 7-8 damla Taşıro indikatörü eklenmiştir. Bu işlemden sonra tüp ve erlen Kjeldahl cihazına yerleştirilerek erlen içerisinde 200 ml destilat elde edilene kadar destilasyon yapılmıştır. Elde edilen destilat 0.1 N'lik HCI asit ile mevcut rengin pembemsi renge döndüğü noktaya kadar titre edilmiştir. TVB-N miktarının hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{TVB-N mg/100g} = \frac{\text{Harcanan 0.1 N Asit Miktarı (ml)} \times 1.4 \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

3.2.8.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Tayini

Sardalya etinin TBA sayısı Tarladgis ve ark. (1960)'nın uyguladığı yonteme göre yapılmıştır. Bu amaçla homojenize edilmiş örnekten tam 10 g örnek 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılarak, Kjeldahl cihazının tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örneğin üzerine 97.5ml distile su ve 2.5 ml (1:2)'lik HCl çözeltisi ilave edilerek destilasyon işlemine geçilmiş ve 200 ml destilat elde edilmeye kadar kaynatılmaya devam edilmiştir. Kaynatma işleminin sona ermesinin ardından destilat karıştırılarak, 5 ml' si cam kapaklı deney tüpüne yerleştirilmiş ve üzerine de %90'luk 100ml glacial asetik asit içerisinde 0.2883g çözdürülmüş 5ml TBA reaktifi ilave edilerek tüpün kapağı kapatılıp, bir vorteks kullanılarak karıştırılmıştır. Kör için ise bir başka deney tüpüne 5ml TBA reaktifi ve 5ml distile su ilave edilerek kapağı kapatılıp yine vorteksle karıştırıldıktan sonra, tüpler kaynayan su banyosunda 35 dakika tutulup, soğumaya bırakılmıştır.

Daha sonra spektrofotometre tüplerine aktarılarak 538 nm dalga boyunda köre karşı, optik dansitesi okunmuştur. Elde edilen dansite değeri ise 7.8 ile çarpılarak 1000g örnekteki mevcut malonaldehit miktarı mg olarak saptanmıştır (Varlık ve ark., 1993).

3.2.8.3. Peroksit Sayısı

Ekstrakte edilmiş 1g lipit örneği üzerine 20ml kloroform ilave edilmiş ardından, 50ml asetik asit:kloroform (60:40) çözeltisi ilave edilerek lipit tamamen çözülene kadar çalkalanmıştır. Lipidi çözme işleminin ardından 1ml, doymuş potasyum iyodür eklenir. Daha sonra bu lipit örneği 20 saniye gibi bir süre döndürerek çalkalama işleminin ardından karanlık bir ortamda 30 dakika bekletildikten sonra 100ml distile su ilave edilip ardından %1'lik nişasta solüsyonundan birkaç damla damlatılıp berrak renk oluşana kadar kaynatılarak 0.002M'lık sodyum tiyosülfatla titre edilmiştir. Aynı uygulama lipit olmaksızın kör içinde yapılmıştır. Hesaplama ise aşağıdaki formül yardımıyla gerçekleştirilmiştir (AOCS, 1994).

$$\text{Peroksit Sayısı} = \frac{2 (C-B)}{W} \text{ meq O}_2/\text{kg}$$

C: Harcanan 0.002M'lık sodyum tiyosülfat (ml cinsinden)

B: Kör için harcanan 0.002M'lık sodyum tiyosülfat (ml cinsinden)

W: Örnek Ağırlığı

3.2.8.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi

Önceden ekstrakte edilmiş lipitten 0.5g örnek tartılarak, dietileter: etanol (25:25 ml oranında) içerisinde nötrale edilmiştir. Daha sonra bu dietileter: etanol içerisine 1ml, %1'lik fenolftalein indikatörü ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışım 0.1M'lık sodyum hidroksit ile kalıcı pembe renk oluşuna kadar (en az 15 saniye süreyle) titre edilerek nötralizasyonu sağlanmıştır. %'de serbest asit miktarı oleik asit cinsinden aşağıdaki formül yardımıyla hesap edilmiştir (AOCS, Ca 5a-40 1997).

$$\% \text{ Serbest Yağ Asiti} = (C-B) \times 2.805 / w$$

C: Harcanan 0.1M'lık NaOH miktarı ml cinsinden

B: Kör için harcanan 0.1M'lık NaOH miktarı ml cinsinden

W: Örnek ağırlığı

2.805: Dönüşüm faktörü

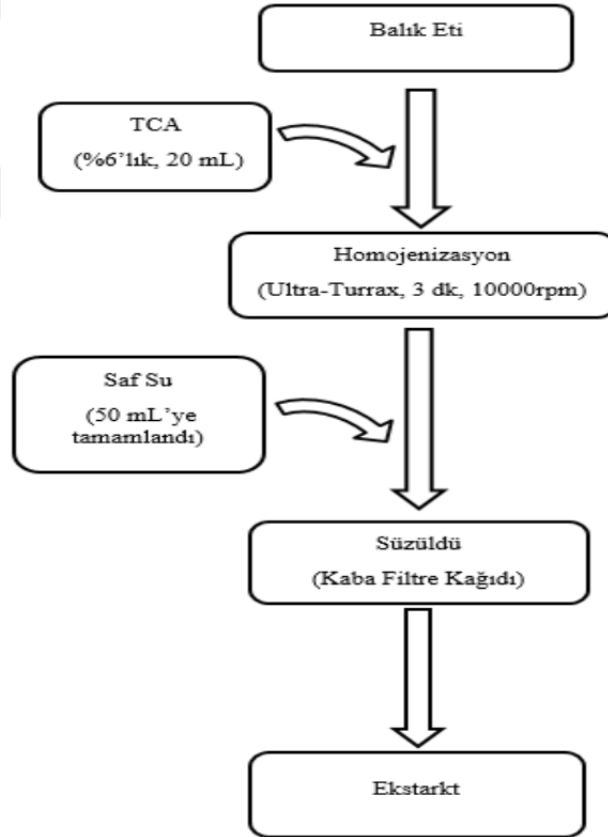
3.2.8.5. pH Analizi

Balık etindeki pH değişimleri yöntemine göre yapılmış ve dijital bir pH metre (WTW 315i pH Meter; Weilheim, Germany) kullanılarak analiz edilmiştir. 5 g balık örneği alınarak 50 mL saf su içerisinde (1/10) 5 dk karıştırılmıştır. PH metre bu solüsyona daldırılarak balık etinin pH'ı ölçülmüştür.

3.2.9. Biyojenik Amin Analizi

3.2.9.1. Biyojenik Amin Analizi için Örneğin Ekstrakte Edilmesi

Balık etindeki biyojenik amin üretimi, Özoğul ve ark. (2002) tarafından geliştirilen hızlı bir HPLC metodu kullanılarak analiz edilmiştir. 5g balık kası alınarak 250 ml'lik ultraturax tüplerine aktarılmıştır. Örnekler sonrasında 20 ml % 6'lık TCA ile 2 dk Ultra-Turax (T 25 basic IKA-WERKE, Staufen, Germany) kullanılarak homojenize edilerek, Whatman No. 1 filtre kağıdı (Maidenstone, UK) ile filtre edilmiştir. Elde edilen solüsyon distile su ile 50 ml'e tamamlanarak derivitasyon (türevlendirme) işlemine kadar derin dondurucuda (-18°C) muhafaza edilmiştir. (Şekil 3.1)



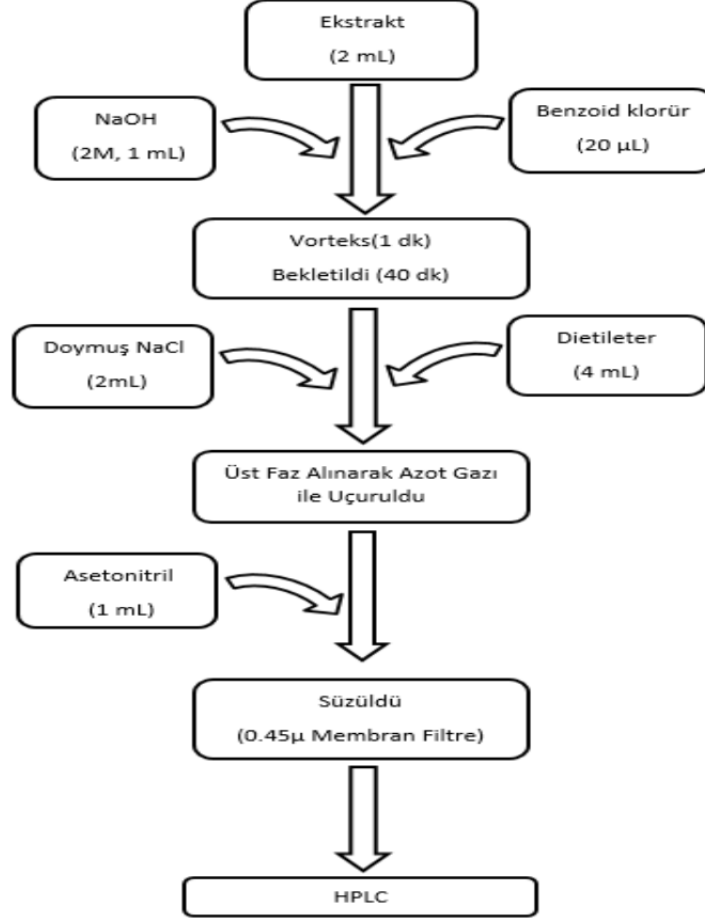
Şekil 3.1. Biyojenik Amin Ekstraksiyonu

3.2.9.2. Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bütün biyojen amin standartları Sigma–Aldrich (Munich, Germany)’den sağlanmıştır. Triptamin hidroklorid (122.8 mg), putresin dihidroklorid (182.9 mg), 2-feniletülin hidroklorid (130.1 mg), kadaverin dihidroklorid (171.4 mg), spermidin trihidroklorid (175.3 mg), spermin tetrahidroklorid (172.0 mg), histamin dihidroklorid (165.7 mg), tiramin hidroklorid (126.7 mg), 5-hidroksitriptamin (serotonin) (133.9 mg), 3-hidroksitiramin hidroklorid (dopamin) (123.8 mg), agmatin sülfat (175.4 mg), amonyum klorid (296.9 mg) ve trimetilamin hidroklorid (161.7 mg) 10 mL ultra saf suda çözündürülmüştür. Her bir amin için serbest bazın son konsantrasyonu 10 mg/mL olmuştur.

3.2.9.3. Balık Örneklerinin ve Standart Amin Solüsyonlarının Türevlendirme Prosedürü

Ekstrakte örneklerin türevlendirme prosedürünü göstermektedir. Türevlendirme maddesi olarak benzoil klorid kullanılmıştır. Standart amin solüsyonunu türevlendirmek için, her bir serbest baz standart solüsyonundan (10 mg/mL) 50 µL, (ekstrakte balık örneği için ise 2 mL) alınmıştır. Örnek üzerine 1 mL 2 M sodyum hidroksid ve 20 µl benzoil klorür (%2) eklendikten sonra 1 dk vortekste karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 40 dk, oda sıcaklığında (24 °C) bırakılmıştır. Benzolasyon işlemi 2 mL doymuş sodyum hidroksit eki ile durdurularak, solüsyon iki kez 2mL dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra üst organik faz temiz tüp içerisine alınarak azotta uçurulmuştur. Tüp içinde bulunan kalıntılar 1 mL asetonyitrilde çözündürülerek, 1 µL örnek HPLC’e enjekte edilmiştir. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2. Balık ekstraktının türevlendirilmesi

3.2.9.4. Kromatografik koşullar

Çizelge 3.4 biyojen amin analizi için kullanılan HPLC kromatografik koşullarını göstermektedir. Amin analizi için mobil faz, asetonitril ve HPLC ultra saf su olmuştur. Toplam aminlerin ayırım süresi 20 dk olmuştur. Biyojen amin ayırım işlemi gerçekleştirildikten sonra başlangıç koşula dönmek için program 1 dk almakatadır. Enjeksiyon seviyesi 5 µl olup, 254 nm’de tespit gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. Biyojen aminlerin ayrıştırılması için kullanılan HPLC gradient profili

Mobil faz kompozisyonu (%)			
Süre (dk)	Eluent A ^a (%)	Eluent B ^b (%)	Akış oranı ml/dk
0	60	40	1.2
5	50	50	1.2
10	40	60	1.2
15	30	70	1.2
16	60	40	1.2
20	60	40	1.2

3.2.9.5. Ekipman ve Kolon

Biyojen amin analizi için bir SPD-M20A diode array dedektör, iki kanallı gradient pompa (Shimadzu LC-10AT), autosampler (SIL 20AC), kolon fırını (CTO-20AC), FCV-11AL dalga birimli communication bus module (CBM-20A) sahip Shimadzu Prominence HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Biyojen amin analizi için ters-fazlı Spherisorb 5 Si C18 pH-St, 250X4.6 mm kolon (FENomenex, Macclesfield, Cheshire, UK) kullanılmıştır.

3.2.10. Mikrobiyolojik Analiz

3.2.10.1. Toplam Bakteri Sayımı

Toplam mezofilik ve psikrofil bakteri sayımı, petri yüzeyine yayma metodu (ICMSF, 1986) kullanılarak hesaplanmıştır. Her gruptan 10 gr balık eti tartılmıştır. Bu örnekler üzerine 90 ml Ringer solüsyonu eklenerek stomacher cihazında 2 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra ondalık seyreltmeler yapılarak, her bir seyreltiden 0.1 ml alınarak Plate Count Agar (PCA) bulunan petri kutusu yüzeyine 2 paralel yapılarak yayılmıştır. Seyreltilerin absorbe olması için petri kutuları 10 dakika tezgah üzerinde bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda petri kutuları inkübatöre

alınarak mezofilik bakteri gelişimi için 30 °C'de 2 gün, psikrofil bakteri gelişimi için 5 °C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Sonrasında petri kutularında oluşan kolonilere bakılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır.

Koloni oluşturan birimler (kob/g) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Koloni oluşturan birim sayısı (kob/g)} = \frac{\text{Koloni sayısı} \times \text{Seyreltme faktörü}}{\text{Aşılama miktarı}}$$

3.2.10.2. Toplam Koliform Bakteriler

Toplam koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid, CM0107) ile çift katlı dökme plak yöntemi (FDA, 1998) kullanılmıştır. Uygun dilüsyon serisinden 1 ml alınarak petri kutusuna aktarılmış ve VRBA kullanılarak çift kat dökme işlemi yapılmıştır. Petri kutuları sonrasında 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.10.3. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı

Toplam laktik asit bakteri sayımı, MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) agar besiyeri ile dökme yöntemine göre yapılmıştır. Uygun seyreltiklerden 1 ml alınarak petri kutusuna aktarılmış ve üzerine MRS agar ile döküm işlemi yapılmıştır. Petri kutuları sonrasında 30°C'de 5 gün inkübe edilmiştir.

3.2.10.4. E. coli analizi

E. coli analizi için de uygun dilüsyonlardan kromojenik Tryptone Bile X—Glucuronide Medium (TBX (Oxoid, CM945) besiyerine 0.5 veya 1 ml aktararak yüzeye sürme yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petriler 18-24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.10.5. Staphylococcus aureus Aranması

Uygun dilusyonlardan Baird Parker Agar (Merck 1.10675) selektif besi yeri bulunan 14 cm çaplı büyük petri kutusuna doğrudan 1 ml ekim yapılmıştır. 37 °C’de 24-48 saat inkübe edilen şüpheli kolonilerin (koloni etrafında berrak zon) oluşup oluşmama durumuna göre değerlendirme yapılmıştır (Merck, 1998). Şüpheli koloniler API-staph test kitleri ile doğrulanmıştır

3.2.10.6. Salmonella Aranması

Salmonella aranması ISO 6579:2002 yöntemine göre yapılmıştır. Bunun için homojenize edilmiş 25 g örnek aseptik koşullarda 225 ml tamponlanmış peptonlu su içerisine alınarak homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen homojenat 37 °C’de 18 saat inkübe edilerek bir ön zenginleştirme yapılmıştır. Bu kültürden seçici zenginleştirme besi yeri olan Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth’un (RVS Broth). 10 ml’sine 0.1ml eklendikten sonra 37 °C’de 24 inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bu kültürden XLD agar (Merck 1.05287) besi yerlerine sürme ekim yapılarak 37 °C’de 24 saat sonunda şüpheli kolonilerin oluşup oluşmama durumlarına göre *Salmonella* yönünden API 20 E doğrulama testi yapılmıştır.

3.2.10.7. Listeria monocytogenes Aranması

Listeria aranması ISO 11290-1:1996 yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla 25 gr balık eti ilk ön zenginleştirme olarak 225 ml’lik half fraser broth içerisine alınarak stomacher ile homojenize hale getirilmiştir. Elde edilen homojenat 30 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında kültürden 0.1 ml alınarak Palcam ve Oxford agar içersine aşılama yapılarak doğrulama işlemine geçilmiştir. Diğer taraftan kültürden 0.1 ml alınarak 10 ml’lik fraser broth içerisinde ikinci zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Sonrasında kültürler 30 veya 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Kültürden 0.1 ml alınarak Palcam ve Oxford agar içersine aşılama yapılarak, 37 °C’de 24 saat sonunda şüpheli kolonilerin oluşup oluşmama durumlarına göre *Listeria* yönünden değerlendirilme yapılmıştır. Şüpheli

kolonilerin *Listeria* yönünden tanımlanması için API *Listeria* test kitleri (BioMerieux, La Balme-les-Grottes, France) kullanılmıştır.

3.2.11. İstatistik Analizler

Araştırmanın sonunda elde edilen verilerin istatistik analizi SPSS 22.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki $P < 0.05$ olarak tanımlanan önemli farklılıklar Anova testi ile değerlendirilmiştir. Her bir depolama günü ve muamele grupları için üç tekrarlı olarak istatistik karşılaştırma yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. *Spirulina* spp. ve *Chlorella* spp. 'nin mineral ve toksik metal içerikleri

Mevcut çalışmamızda *Spirulina* spp.'nin makro element değerlerinden sodyum (Na) 20733.9 µg/g, magnezyum (Mg) 3249.4 µg/g, fosfor (P) 8576.1 µg/g, potasyum (K) 17749.2 µg/g, kalsiyum (Ca) 5397.8 µg/g olarak bulunmuştur. Yılmaz ve ark. (2011) *Spirulina plantensis* için düşük Na (9000 µg/g), P (8000 µg/g), K (14000 µg/g), Ca (1000 µg/g), yüksek Mg (4000 µg/g) rapor etmiştir. Bu çalışmada *Chlorella* spp. 'nin makro elementlerden ise Na, Mg, P, K ve Ca değerleri ise 958.9, 1818.4, 10651.2, 1732.1 ve 1853.6 µg/g olarak bulunmuştur (Çizelge.5). *Spirulina* spp.; *Chlorella* spp.' e kıyasla daha yüksek düzeyde Na, Mg, K ve Ca, daha düşük düzeyde fosfor içermiştir. Yapılan diğer. bir çalışmada *Chlorella* spp.'nin daha düşük sodyum (500 µg/g), kalsiyum (940 µg/g), potasyum (13600 µg/g); daha yüksek magnezyum (2640 µg/g) ve fosfor (16800 µg/g) içeriği bildirilmiştir (Kantilal, 2016).

Çizelge 4.1. *Spirulina* spp. ve *Chlorella* spp. türlerinin makro element değerleri (µg/g)

Makro element	<i>Spirulina</i> spp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	<i>Chlorella</i> spp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Na	20733.9±88.9 ^b	958.9±7.1 ^a
Mg	3249.4±16.0 ^b	1818.4±45.6 ^a
P	8576.1±7.7 ^a	10651.2±34.2 ^b
K	17749.2±255.4 ^b	13732.1±315.4 ^a
Ca	5397.8±188.5 ^b	1853.6±183.2 ^a

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

İz elementler bakımından *Spirulina* spp. 768.17 µg/g demir (Fe), 19.91 µg/g bakır (Cu), 15.93 µg/g çinko (Zn) içermiştir. *Chlorella* spp.'nin Fe, Cu ve Zn içeriği ise sırasıyla 1031.53, 3.52 ve 17.05 µg/g olarak tespit edilmiştir (Çizelge.6). Kantilal (2016) *Chlorella* için daha düşük demir (530 µg/g) içeriği rapor etmiştir.

Bu çalışmada *Spirulina* spp.'nin Cu değeri *Chlorella* sp.'den daha yüksek olmasına karşın, Fe ve Zn değerleri daha düşük düzeyde bulunmuştur.

Çizelge 4.2. *Spirulina* sp. ve *Chlorella* sp. türlerinin iz element seviyesi (µg/g)

İz elementler	<i>Spirulina</i> spp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	<i>Chlorella</i> spp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Fe	768.17±36.02 ^a	1031.53±71.07 ^a
Cu	19.91±0.30 ^b	3.52±0.23 ^a
Zn	15.93±0.61 ^a	17.05±1.86 ^a

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Spirulina spp. toksik makro elementler arasında 1.82 µg/g kadmiyum (Cd), 0.51 µg/g kurşun (Pb), 0.36 µg/g arsenik (As) ve 1.08 µg/g krom (Cr) içermiştir. *Chlorella* spp.'nin toksik makro element içeriği ise 1.72 µg/g Cd, 0.68 µg/g Pb, 0.48 µg/g As ve 0.68 µg/g Cr olarak bulunmuştur. Toksik makro elementlerden Cd ve Cr değerleri *Chlorella* spp'e kıyasla *Spirulina*' istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Pb ve As değerleri ise *Chlorella* spp.'de daha yüksek bulunmuştur. Amerikan Çevre Koruma Örgütü (EPA), civa ve bileşiklerinin insanlarda kansere neden olabileceğini belirtmiştir. Kadmiyum (Cd) FAO (2012) göre gıdalarla alınabilecek en yüksek kadmiyum miktarı 400- 500 µg/hafta'dır. Kurşun (Pb) Kandaki veya yumuşak dokulardaki kurşun miktarının 0.2 µg/ml sınırını aşması durumunda vücutta toksik etki yaratabilir. Çinko (Zn) FDA (2012) gıdalarla alınabilecek en yüksek çinko miktarını 0.23 mg/kg gün olarak belirlemiştir. Arsenik(As) EPA içme sularında bulunabilecek en yüksek arsenik miktarını 10 ppb olarak belirlemiştir.(çizelge.7)

Çizelge 4.3. *Spirulina* spp. ve *Chlorella* spp. türlerinin toksik element seviyesi (µg/g)

Makro element	<i>Spirulina</i> Sp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	<i>Chlorella</i> sp. $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Cd	1.82±0.18 ^a	1.72±0.48 ^a
Pb	0.51±0.14 ^a	0.68±0.19 ^a
As	0.36±0.05 ^a	0.48±0.00 ^a
Cr	1.08±0.06 ^a	0.68±0.08 ^a

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

4.2. Ekstraktların Kimyasal Kompozisyonları

4.2.1. *Chlorella vulgaris* Ekstraktının Kimyasal Kompozisyonu

Bu çalışmada kullanılan *Chlorella* ekstraktının katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle ile belirlenen kimyasal kompozisyonu (Çizelge 4.4)de verilmiştir. Uma ve ark. (2011) *C. vulgaris*' in flavonoidler, tannin, fenolik bileşikler, terpenoidler, saponinler ve karbonhidrat içerdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada *Chlorella* ekstraktında toplam 70 bileşik belirlenmiş olup en yüksek oranda bulunan bileşikler, %31.19 3,5-dichloro-6-nitrocholestane, %2.60 ,8-epoxyolanostan-11-ol, 3-acetoxy-, %2.28 benzaldehyde, %1.99 tribehenin, %1.95 chlortetracycline, %1.46 hexacosane, %1.44 bruceantin, %1.38 tyrinnal ve %1.20 trilinolein olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Chlorella vulgaris*'in Kimyasal Kompozisyonu

Geliş Zamanı	%Değer	Bileşenler
1.18	0.016	Phthalic acid, hexadecyl 2,4,4-trimethylpentyl ester
1.52	0.009	Rhodoxanthin
1.69	0.014	Terephthalic acid, 4-methylpent-2-yl octadecyl ester
11.80	0.574	Kurarinol
2.50	0.031	5H-Cyclopropano,1,6,8-tetramethyl
2.64	0.019	Isophthalic acid, 4-methylpent-2-yl octadecyl ester
2.70	0.005	Hydrocortisone 21-acetate, bis(O-ethylloxime)
3.15	0.055	Stipiamide; Phenalamide
12.68	0.547	3,5-Dichloro-6-nitrocholestane
3.33	0.009	Violide E
5.20	0.025	Tungsten
6.40	0.072	L-Lysine
3.88	0.011	sulfino 2-phenylicosanoate
3.90	0.010	Alclometasone dipropionate
25.80	2.600	7,8-Epoxy lanostan-11-ol, 3-acetoxy-
6.29	0.007	Ailanthinone
6.35	0.008	Chlortetracycline
16.20	0.023	Longispinogenin
6.76	0.023	Demeclocycline
6.84	0.004	Spirofungin A
7.03	0.056	Lycopene
21.50	0.184	Fucoxanthin
7.18	0.031	Hydroxymethyl colchicine
21.00	1.988	Tribehenin
9.20	0.012	Anodendroside A
10.57	0.016	Bacteriorubuxanthin
11.41	0.026	Stecholide H
14.17	0.100	Cassamine
13.76	2.284	Benzaldehyde
18.30	1.200	Trilinolein
22.23	1.460	Hexacosane
18.23	0.478	Cymarın
22.20	0.880	Borreledin
16.05	0.033	Hydrocortisone probutate.
16.50	0.300	Didodecyl phthalate
16.81	0.006	Cinobufagine
18.10	0.013	Hydrocortisone 21-acetate, bis(O-ethylloxime)

Çizelge 4.4. Devamı

17.24	0.009	2,4-Octadienal
17.65	0.012	Azafrin
18.36	0.190	Tetracycline
18.45	0.112	Natamycinolide
18.79	0.017	Tyrinnal
19.38	0.009	Cyclomethicone 5
19.41	0.004	Tetratetracontane
19.96	0.461	Ethaverine
20.39	1.377	tyrinnal
20.55	0.016	Lycoxanthin
20.02	0.249	Natamycinolide
20.87	0.116	Hexadecane
20.90	0.009	Betamethasone acetate
21.25	31.193	3,5-Dichloro-6-nitrocholestane
21.32	1.440	Bruceantin
21.55	0.068	Glucuronosylestradiol
22.20	0.030	Chlortetracycline
22.71	0.102	Hexatriacontane
22.77	0.191	Pentadecane
23.03	1.955	Chlortetracycline
23.86	0.297	Taxuspine F
24.35	0.040	Hydrocortisone 21-acetate, bis(O-ethyloxime)
25.26	0.132	Tetratetracontane
25.55	0.047	Anodendroside A
25.73	0.148	Hexadecane
26.42	0.058	Iritone
26.61	0.280	Marinobufagenin
27.20	0.072	Withaphysacarpin
27.33	0.014	Iritone
27.65	0.015	Jasmololone
28.18	0.573	Stecholide H
29.06	0.322	17-Pentatriacontene
29.54	0.013	Hexatriacontane

Ignacio ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada *C. vulgaris*'in etanolik ekstraktının %6.1 hexadecanoic acid, %4.1 linoleic acid, %4.8 ethyl linoleolate, %1.4 tetradecen-5-yne, %15.5 linolenic acid, %23.1 Mmethyl linolenate, %7.8 neophytadiene ve %4.5 heptadecane bileşenlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Habashy ve ark. (2018) *C. vulgaris*' in etanolik ekstraktında 5.18 mg gallik asit, 3.46 mg rutin, 1.02 mg kateşin, 5.46 mg ursolik asit ve 1.04 mg dekstran sülfat tespit etmişlerdir. Machu ve ark. (2015) *Chlorella pyrenoidosa* ekstraktında 5 µg/g gallik asit, 20.5 µg/g 4 hydrosibenzoik asit ve 20.2 µg/g epigallokateşin gibi fenolik bileşikler bulmuşlardır.

4.2.2. *Spirulina platensis* Ekstraktının Kimyasal Bileşenleri

Çizelge 4.5. çalışmada kullanılan *Spirulina platensis* ekstraktının katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile belirlenen bileşenlerini vermektedir. *Spirulina* ekstraktında toplam 78 bileşik belirlenmiş olup, en önemli ana bileşeni %67.64 değeri ile dioctylamine olmuştur.

Çizelge 4.5. *Spirulina platensis* Ekstraktının Kimyasal Kompozisyonu

Geliş zamanı	%Değer	Bileşenler
1.07	0.002	Megaphone
2.11	0.003	Stipiamide
2.63	0.009	Rhodoxanthin
22.80	0.480	Fucoxanthin
10.85	0.440	Hydrocortisone 21-acetate, bis(O-ethyloxime)
3.35	0.003	L-Lysine
3.62	0.010	Ruthenium
4.33	0.002	11-Oxocneorin G
6.29	0.003	Bruceantin
6.42	0.001	Cylindrocyclophane A
22,26	0.335	7,8-Epoxy lanostan-11-ol, 3-acetoxy-
8.18	0.163	Borrelidin
8.92	0.559	methyl pyrazine
9.66	0.005	Javanicin D
10.25	0.008	Prednicarbate
10.43	0.003	Picolinyl 9,12,15,18,21-tetracosapentaenoate
10.98	0.043	Tungsten
28.70	0.013	Kurarinol
11.38	0.244	3-Ethylpentanal
11.82	0.002	Natamycinolide
20.51	0.038	Taxuspine F
14.68	0.191	Cyclooctanone
14.76	0.015	Borrelidin
14.83	0.259	2-Amylfuran
15.10	0.542	Hexacosane
16.04	0.009	Asimilobine-2-O-glucoside
16.24	0.328	Cyclohexylacetone
23.17	0.124	Trilinolein
17.05	0.206	Isophorone
17.16	0.008	Fusaridione A
17.26	0.121	Ingenol 3,20-dibenzoate
17.67	0.037	Methylprednisolone
17.70	0.030	Lycoxanthin
18.45	0.041	Clavulone IV
18.58	0.298	Octadecanoyl Bromide
19.32	0.003	Didodecyl phthalate
19.54	0.002	Cinobufagin
19.98	1.628	Isopulegone
20.20	0.002	Chlortetracycline

Çizelge 4.5. Devamı

20.25	0.006	Anodendroside A
17.50	0.031	Lycoxanthin
20.87	0.787	Cymarın
21.24	2.345	Dodecane
21.32	0.101	Betamethasone acetate
21.52	0.004	Aspochalasin K
21.77	0.002	Stecholide H
22.02	0.003	Aspochalasin K
22.13	0.004	β -Carotene
22.29	0.002	Dexbudesonide
22.37	0.002	Taxuspine F
22.44	0.002	Bruceantin
21.63	0.168	Tribehenin
23.21	0.003	Stecholide H
23.48	0.163	Camphor
24.01	0.334	Hexacosane
24.16	0.003	Myricanol-15-glucoside
24.75	0.045	Cyclomethicone 6
25.54	0.005	Taxuspine F
25.64	0.054	Phenylcycloheptane
26.49	0.003	Myricanol-15-glucoside
27.04	0.008	Anodendroside A
27.21	0.002	Stecholide H
28.18	0.027	Hydrocortisone-21-lysinate
28.77	0.004	Lycoxanthin
28.87	1.230	Iritone
29.07	7.319	Pentadecane
30.04	0.002	Tyrinnal
29.61	0.003	Beta-Carotene
29.63	0.004	Myricanol-15-glucoside
30.00	2.051	Jasmololone
30.73	0.011	Hydrocortisone probutate
31.19	0.002	Tylophorine
31.40	6.334	Hexadecane
31.84	0.002	3,5-Dichloro-6-nitrocholestane
33.13	0.171	1-Tricosanol
33.49	0.002	3,5-Dichloro-6-nitrocholestane
33.67	67.644	Diocylamine
40.36	0.002	Hydrocortisone-21-lysinate

Spirulina ekstraktında yüksek oranda belirlenen diğer önemli bileşenler ise monoterpen (%7.32), terpen (%6.33), glikozid (%2.34), jasmololone (%2.015), isopulegone (%1.68) ve cymarin (%0.787) olmuştur. Sudha ve ark. (2011) *S. platensis*'de karbonhidrat, glikozid, flavonoidler, alkaloidler ve saponin olduğunu tespit etmişlerdir. Barkallah ve ark. (2017) % 0.25 *Spirulina* ilaveli yoğurdun %52.7 antioksidan kapasitesi olduğunu tespit etmişlerdir.

4.3. Sardalyanın Kimyasal Kompozisyonu

4.3.1. Besin Değerleri

Araştırmada kullanılan sardalya filetosunun temel besin madde değerleri Çizelge 4.6.da verilmiştir. Araştırma sonucunda sardalyanın ham protein, lipit, nem ve ham kül oranları sırasıyla % 1.36, %77.68, % 1.47 ve % 19.49 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Araştırmada kullanılan taze sardalya filetosunun temel besin değerleri

Besin değerleri	(%)
Ham Protein	19.49±0.86
Lipid	1.47±0.19
Nem	77.68±1.20
Ham Kül	1.36±1.20

Durmuş ve ark. (2010), kış ve ilkbahar mevsimlerinde avlanan sardalyanın protein, lipit ve nem oranlarını sırasıyla %19.93 ve 20.08, %1.39 ve %4.58, %77.20 ve 73.83 olarak bulmuştur. Ben ve ark. (2010), sardalyanın (*Sardinella aurita*) protein oranının tüm mevsimlerde %19.59 ile %20.36 arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Farklı bölgelerden avlanan sardalya ile yapılan diğer çalışmalarda %11.25-18.8 protein, %1.2-18.4 lipit, %70.68-81.3 nem ve %1.5 ve 1.75 arasında değişen ham kül değerleri rapor edilmiştir (Bandarra ve ark., 1997; Zlatanov ve ark., 2007; Mendes ve ark., 2008; Ramalhosa ve ark., 2011; Negasi ve

ark., 2018). Balıkların besinsel değerleri cinsiyet, yaş, avlama mevsimine ve çevresel etmenlere göre değişkenlik göstermektedir(Yeannes, 2003)

4.3.2. Sardalyanın yağ asitlerindeki değişimleri

Çizelge 4.7. *Spirulina plantensis* ve *Chlorella vulgaris*'den elde edilen ekstraktların sardalya filetoalarının soğukta depolanması süresince doymuş yağ asit (SFA) değerlerindeki değişimlerine etkisini göstermektedir. SFA tüm gruplarda dalgalanma göstermiştir. Tüm gruplarda en yüksek oranda bulunan SFA'ların sırasıyla, palmitik asit (C16:0;%24.07-25.64), miristik asit (C14:0; %11.03-13.06) ve stearik asit (C18:0; %5.17-5.83) olduğu bulunmuştur. Depolamanın 0. gününde % 41.07 olan toplam SFA düzeyi depolamanın son gününde kontrol grubu için %44.25, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için sırasıyla % 43.30 ve % 43.61 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Sardalyanın soğuk depolanması süresince doymuş yağ asitlerindeki (SFA) değişimleri

Yağ asitleri	Depolama süresi (gün)							Gruplar
	0	3	6	9	11	13	15	
C12:0	0.06±0.01*	0.07±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.04±0.05 ^a	0.08±0.01 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.03±0.04 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C14:0	9.68±1.44	11.03±1.07 ^a	1.07±0.40 ^a	10.57±0.64 ^a	11.05±0.69 ^a	11.98±0.40 ^a	13.06±1.81 ^a	Kontrol
	-	11.22±.27 ^a	11.51±0.16 ^a	11.54±0.05 ^a	11.58±0.56 ^a	10.91±0.01 ^a	11.43±0.90 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	11.35±0.27 ^a	11.77±0.31 ^a	11.66±0.41 ^a	11.96±0.06 ^a	11.69±0.69 ^a	11.04±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C15:0	0.50±0.05	0.59±0.03 ^a	0.57±0.02 ^a	0.54±0.05 ^a	0.54±0.03 ^a	0.57±0.01 ^a	0.56±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.56±0.82 ^a	0.60±0.05 ^a	0.56±0.00 ^a	0.54±0.03 ^a	0.56±0.01 ^a	0.55±0.03 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.57±0.01 ^a	0.56±0.01 ^a	0.57±0.00 ^a	0.56±0.01 ^a	0.57±0.02 ^a	0.55±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C16:0	24.50±0.59	24.94±0.76 ^a	24.18±0.13 ^a	24.60±0.88 ^a	24.55±0.0 ^a	24.48±0.04 ^a	24.52±0.62 ^a	Kontrol
	-	25.18±0.82 ^a	25.28±0.86 ^a	24.07±0.99 ^a	24.32±0.73 ^a	25.09±0.04 ^a	24.59±0.95 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	25.48±0.64 ^a	25.56±0.21 ^a	24.97±0.33 ^a	24.70±0.52 ^a	25.43±0.48 ^a	25.64±0.10 ^a	<i>Chlorella</i>
C17:0	0.42±0.01	0.48±0.06 ^a	0.45±0.02 ^a	0.46±0.04 ^a	0.43±0.01 ^a	0.47±0.01 ^a	0.43±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.44±0.03 ^a	0.51±0.06 ^a	0.45±0.01 ^a	0.43±0.02 ^a	0.45±0.01 ^a	0.43±0.01 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.44±0.01 ^a	0.44±0.02 ^a	0.45±0.01 ^a	0.43±0.03 ^a	0.46±0.02 ^a	0.43±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C18:0	5.53±0.21	5.46±0.31 ^a	5.17±0.11 ^a	5.77±0.19 ^a	5.33±0.00 ^a	5.36±0.03 ^a	5.31±0.06 ^a	Kontrol
	-	5.43±0.21 ^a	5.83±0.46 ^a	5.29±0.27 ^a	5.29±0.01 ^c	5.51±0.00 ^a	5.48±0.32 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	5.51±0.23 ^a	5.51±0.13 ^a	5.58±0.24 ^a	5.38±0.02 ^a	5.64±0.19 ^a	5.64±0.03 ^a	<i>Chlorella</i>
C20:0	0.22±0.03	0.27±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a	0.27±0.04 ^a	0.26±0.03 ^a	0.28±0.01 ^a	0.26±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.27±0.02 ^a	0.31±0.04 ^a	0.26±0.01 ^a	1.24±1.40 ^a	0.27±0.01 ^a	0.26±0.01 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.27±0.00 ^a	0.28±0.01 ^a	0.28±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a	0.28±0.02 ^a	0.26±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C22:0	0.12±0.10	0.14±0.11 ^a	0.05±0.01 ^a	0.11±0.10 ^a	0.13±0.09 ^a	0.06±0.00 ^a	0.06±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.13±0.14 ^a	0.04±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.10±0.06 ^a	0.12±0.11 ^a	0.12±0.10 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.12±0.15 ^a	0.14±0.15 ^a	0.03±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.05±0.02 ^a	0.02±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C24:0	0.06±0.00	0.06±0.01 ^a	0.05±0.00 ^{ab}	0.41±0.51 ^a	0.08±0.03 ^a	0.05±0.01 ^a	0.08±0.04 ^a	Kontrol
	-	0.04±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.07±0.01 ^a	0.07±0.03 ^a	0.07±0.04 ^a	0.06±0.00 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.04±0.01 ^a	0.04±0.00 ^b	0.07±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.04±0.00 ^a	0.03±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
ΣSFA	41.07±2.02	43.03±0.19 ^a	42.86±0.19 ^a	42.75±0.89 ^a	42.43±0.65 ^a	43.24±0.38 ^a	44.25±1.14 ^a	Kontrol
	-	43.29±1.00 ^a	44.10±0.31 ^a	42.27±1.31 ^a	43.55±0.16 ^a	42.95±0.09 ^a	43.30±0.43 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	43.75±0.74 ^a	44.28±0.19 ^a	43.57±0.19 ^a	43.40±0.40 ^a	44.13±1.44 ^a	43.61±0.12 ^a	<i>Chlorella</i>

*Ortalama değer± Standart sapma (n=3). Aynı sütundaki farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Bandarra ve ark. (1997) *Sardina pilchardus* türünün kültürde ve doğada yaklanan bireylerinin yağ bileşenlerine bakmışlardır. Doğada yaşayan sardalyaların SFA yağ bileşeninin kasta % 5.7 ile C14:0, %19.06 ile C16:0 ve %3.9 ile C18:0 olduğu; kültür sardalyaların kastaki SFA yağ oranının , %4.3 ile C14:0, %18.08 ile C16:0 ve %4.2 ile C18:0 olduğunu bildirmiştir. Toplam SFA değerini ise doğada yakalanan sardalyada %32 ve kültür sardalyalarda %29.5 olarak bulmuşlardır. İstatiksel olarak gruplar arasında fark bulunamamıştır.

Toplam tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) kontrol ve diğer gruplarda depolama süresince dalgalanmalar göstermiştir (Çizelge 4.8). Kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında en yüksek MUFA'lar palmitoleik asit (C16:1; % 0.07-16.92), oleik asit (C18:1n9; %5.14-6.30) ve vaksenik asit (C18:1n7; %1.96-4.67) olmuştur. Sardalyada toplam MUFA içeriği 0. günde %24.49 iken, depolamanın 15. gününde kontrol grubunda %26.43, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında ise sırasıyla %26.84 ve % 26.88 olarak bulunmuştur. Bandarra ve ark. (2018) doğadan avlanan sardalyaların MUFA yağ bileşenlerinin kasta % 6.6 oranla C16, %13.8 ile C18:1 ve %2.5 ile C20:1 olduğunu, kültür sardalyalarda ise bu bileşenlerin % 4.9 ile C16:1, %18.07 ile C18:1 ve %4.8 ile C20:1 olduğunu rapor etmişlerdir. Toplam MUFA içeriğini ise doğadan avlanan ve kültür sardalya için sırasıyla %24.2 ve %31.6 olarak bulmuşlardır. İstatiksel olarak gruplar arasında bir fark bulunamamıştır.

Çizelge 4.8. Sardalyanın soğuk depolanması süresince tekli doymamış yağ asitlerindeki (MUFA) değişimleri

Yağ asitleri	Depolama süresi (gün)							Gruplar
	0	3	6	9	11	13	15	
C14:1	0.15±0.02	0.07±0.00 ^a	0.08±0.01 ^a	0.04±0.05 ^a	0.12±0.06 ^a	0.07±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.06±0.00 ^a	0.07±0.00 ^{ab}	0.08±0.01 ^a	0.06±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.11±0.06 ^b	<i>Spirulina</i>
	-	0.06±0.00 ^a	0.06±0.00 ^d	0.07±0.00 ^a	0.17±0.01 ^b	0.07±0.01 ^b	0.11±0.07 ^a	<i>Chlorella</i>
C15:1	0.02±0.03	0.06±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.03±0.04 ^a	0.03±0.04 ^a	0.06±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.04±0.02 ^a	0.04±0.02 ^a	0.06±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	0.03±0.04 ^a	0.02±0.03 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.05±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.04±0.02 ^a	0.05±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C16:1	14.29±1.59	15.58±1.74 ^a	16.83±0.00 ^a	16.10±0.17 ^a	16.10±0.17 ^a	16.02±0.23 ^a	16.91±0.32 ^a	Kontrol
	-	16.58±0.18 ^a	16.21±0.72 ^a	16.15±0.04 ^a	16.43±0.68 ^a	0.07±0.00 ^a	16.28±1.71 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	16.77±0.34 ^a	16.92±0.40 ^a	16.47±0.57 ^a	16.88±10.1 ^a	16.64±0.22 ^a	16.74±0.07 ^a	<i>Chlorella</i>
C17:1	0.07±0.01	0.07±0.01 ^a	0.06±0.00 ^a	0.08±0.01 ^a	0.08±0.01 ^a	0.07±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.06±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.54±0.67 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.06±0.00 ^a	0.07±0.01 ^a	0.06±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.07±0.01 ^a	0.06±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C18:1n9	5.62±0.17	6.30±0.21 ^a	4.96±0.35 ^a	6.09±0.30 ^a	5.91±0.13 ^a	5.73±0.40 ^a	5.50±0.01 ^a	Kontrol
	-	5.40±0.18 ^c	5.37±0.11 ^a	5.78±0.26 ^a	5.48±0.62 ^a	6.04±0.05 ^a	5.14±0.08 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	5.54±0.15 ^b	6.02±0.17 ^a	5.53±0.07 ^a	5.59±0.23 ^a	5.33±0.04 ^a	5.37±0.04 ^a	<i>Chlorella</i>
C18:1n7	4.02±0.31	4.12±0.36 ^a	4.36±0.18 ^a	1.96±2.77 ^a	4.16±0.16 ^a	3.93±0.09 ^{ab}	4.42±0.02 ^a	Kontrol
	-	4.15±0.18 ^a	4.67±0.18 ^a	4.43±0.04 ^a	4.36±0.19 ^a	4.33±0.09 ^a	4.41±0.32 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	4.16±0.01 ^a	4.48±0.01 ^a	4.21±0.11 ^a	4.54±0.03 ^a	4.26±0.02 ^a	4.19±0.05 ^a	<i>Chlorella</i>
C20:1n9	0.29±0.03	0.47±0.08 ^a	0.33±0.01 ^d	0.42±0.08 ^a	0.35±0.04 ^a	0.50±0.06 ^a	0.37±0.03 ^a	Kontrol
	-	0.36±0.01 ^a	0.36±0.1 ^a	0.48±0.01 ^a	0.38±0.06 ^a	0.40±0.04 ^a	0.33±0.05 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.37±0.00 ^a	0.38±0.01 ^a	0.38±0.00 ^a	0.39±0.05 ^a	0.36±0.03 ^a	0.32±0.01 ^a	<i>Chlorella</i>
C24:1n9	0.04±0.06	0.02±0.03 ^a	0.04±0.01 ^a	0.03±0.04 ^a	0.06±0.03 ^a	0.06±0.01 ^a	0.06±0.03 ^a	Kontrol
	-	0.05±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.05±0.00 ^a	0.06±0.02 ^a	0.06±0.02 ^a	0.02±0.03 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.06±0.04 ^a	0.07±0.04 ^a	0.05±0.01 ^a	0.04±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	<i>Chlorella</i>
ΣMUFA	24.49±2.08	26.68±1.82 ^a	26.70±0.18 ^b	24.61±3.20 ^a	26.80±0.18 ^a	26.43±0.32 ^a	26.43±0.37 ^a	Kontrol
	-	26.68±0.17 ^a	26.85±0.63 ^{ab}	27.09±0.35 ^a	26.86±0.19 ^a	27.00±0.06 ^a	26.84±1.49 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	27.06±0.24 ^a	28.03±0.12 ^b	26.81±0.61 ^a	27.72±1.20 ^a	26.79±0.27 ^a	26.88±0.05 ^a	<i>Chlorella</i>

*Ortalama değer±Standart sapma (n=3). Aynı sütundaki farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) var

Çizelge 4.9. kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı içeren sardalya fileolarının soğukta depolanması süresince çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) değişimleri göstermektedir. PUFA kontrol ve muamele gruplarında depolama süresince dalgalanmalar göstermiştir. Ekosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dokosahekzaenoik asit (DHA, C22:6n3) sardalya etinde en fazla düzeyde bulunan PUFA olmuştur. Başlangıç EPA ve DHA düzeyi sırasıyla %8.62 ve 11.10 olup depolama sonunda kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla %8.07 ve 6.76, %8.20 ve 6.68, ve %7.92 ve 7.23 olmuştur. Balık etindeki linoleik asit (C18:2 n6) depolama süresince tüm gruplarda 3. günden sonra benzer bulunmuştur. Depolamanın 3. günü dışında, kontrol ve muamele grupları arasında PUFA içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Depolamanın 3. gününde *Chlorella* grubu diğer gruplara kıyasla daha düşük bir PUFA içeriğine sahip olmuştur. PUFA, depolama başlangıcında %21.62 iken, depolama sonunda en düşük PUFA değeri *Chlorella* grubunda (%16.73), en yüksek PUFA değeri ise *Spirulina* grubunda (%16.77) tespit edilmiştir. Tüm gruplar birbirine benzer olduğu için istatistiksel olarak fark yoktur.

Çizelge 4.9. Sardalyanın soğuk depolanması süresince çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) değişimleri

Yağ asitleri	Depolama süresi (gün)							Gruplar
	0	3	6	9	11	13	15	
C18:2n6	1.06±0.06*	1.11±0.04 ^a	1.08±0.06 ^a	2.54±2.07 ^a	0.75±0.48 ^a	1.10±0.01 ^a	1.01±0.00 ^a	Kontrol
	-	1.01±0.01 ^b	1.17±0.06 ^a	1.12±0.02 ^a	1.00±0.00 ^a	1.03±0.01 ^b	1.02±0.04 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	1.01±0.03 ^b	1.02±0.02 ^a	1.05±0.00 ^a	1.01±0.04 ^a	1.03±0.01 ^b	0.97±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C18:3n3	0.29±0.00	0.34±0.06 ^a	0.29±0.01 ^a	0.33±0.01 ^{ab}	0.30±0.01 ^a	0.31±0.01 ^a	0.29±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.28±0.00 ^a	0.26±0.00 ^b	0.34±0.03 ^a	0.29±0.00 ^a	0.31±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.29±0.01 ^a	0.26±0.01 ^b	0.29±0.01 ^a	0.13±0.17 ^a	0.29±0.01 ^a	0.27±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C20:2cis	0.26±0.01	0.27±0.00 ^a	0.19±0.02 ^b	0.31±0.02 ^a	0.26±0.00 ^a	0.24±0.01 ^{ab}	0.26±0.01 ^a	Kontrol
	-	0.25±0.04 ^a	0.25±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a	0.33±0.06 ^a	0.27±0.02 ^a	0.26±0.02 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.26±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a	0.26±0.00 ^a	0.25±0.04 ^a	0.21±0.01 ^b	0.19±0.01 ^b	<i>Chlorella</i>
C20:3n6	0.22±0.25	0.06±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.25±0.28 ^a	0.23±0.25 ^a	0.07±0.01 ^a	0.05±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.04±0.00 ^a	0.05±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.14±0.13 ^a	0.22±0.25 ^a	0.23±0.25 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.05±0.01 ^a	0.04±0.00 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.04±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C20:4n6	0.06±0.08	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.07±0.10 ^a	0.13±0.00 ^a	0.14±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	Kontrol
	-	0.12±0.00 ^a	0.15±0.02 ^a	0.15±0.01 ^a	0.12±0.00 ^a	0.13±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.13±0.01 ^a	0.13±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C20:5n3	8.62±0.23	8.02±0.24 ^a	4.28±6.01 ^b	8.23±0.70 ^a	8.30±0.12 ^a	8.37±0.21 ^a	8.07±0.23 ^a	Kontrol
	-	7.87±0.49 ^a	7.62±0.47 ^a	8.39±0.37 ^a	8.70±0.52 ^a	7.70±0.23 ^a	8.20±0.37 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.04±0.01 ^b	7.64±0.02 ^a	7.87±0.12 ^a	8.09±0.17 ^a	7.85±0.15 ^b	7.92±0.03 ^a	<i>Chlorella</i>
C22:2cis	0.00±0.00	0.01±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.01±0.01 ^a	0.00±0.00 ^a	0.01±0.01 ^{ab}	0.08±0.11 ^a	Kontrol
	-	0.01±0.00 ^a	0.01±0.01 ^a	0.01±0.01 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	0.00±0.00 ^b	0.01±0.01 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	<i>Chlorella</i>
C22:6n3	11.10±3.41	7.42±1.85 ^a	6.64±0.14 ^a	9.10±2.90 ^a	7.74±1.32 ^a	6.89±0.23 ^a	6.76±0.98 ^a	Kontrol
	-	7.29±0.12 ^a	6.17±0.06 ^b	6.88±0.83 ^a	7.18±0.45 ^a	7.83±0.13 ^a	6.68±1.46 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	6.87±0.27 ^a	5.55±0.13 ^c	6.93±0.65 ^a	5.97±1.07 ^a	6.45±1.01 ^a	7.23±0.04 ^a	<i>Chlorella</i>
PUFA	21.62±4.00	17.22±1.72 ^a	12.52±6.05 ^a	18.81±6.01 ^a	17.70±1.21 ^a	17.12±0.01 ^a	16.73±0.98 ^a	Kontrol
	-	16.86±0.66 ^a	15.68±0.46 ^a	17.27±1.25 ^a	17.25±1.19 ^a	17.47±0.63 ^a	16.77±1.32 ^a	<i>Spirulina</i>
	-	8.62±0.20 ^b	14.87±0.12 ^a	16.56±0.53 ^a	15.62±1.10 ^a	15.99±1.17 ^a	16.74±0.07 ^a	<i>Chlorella</i>

*Ortalama değer± Standart sapma (n=3). Aynı sütündeki farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Bandarra ve ark. (2018) doğadan avlanan *Sardina pilchardus* türünün PUFA içeriğini, C18:2n-6 (% 1), C18:3n-3 (%1), C18:4n-3 (% 2.3), C20:4n-6 (%0.8), C20:5n-3 (EPA, %13.6) ve C22:6n-3 (DHA, %14.8), kültür sardalyada C18:2n-6 (%3.1), C18:3n-3 (%1), C18:4n-3 (%1.5), C20:4n-6 (%0.7), C20:5n-3(EPA, %9.2) ve C22:6n-3 (DHA, %13.49 olduğunu bildirmişlerdir. Doğal ve kültür sardalyanın toplam PUFA içeriği ise sırasıyla % 40.3 ve %29.6 olarak bulunmuştur.

PUFA/SFA oranı minimum 0.45 olarak önerilmektedir (HMSO, 1994). Bu çalışmada başlangıç PUFA/SFA oranı 0.52 olarak bulunmuş olup, depolama sonunda kontrol grubunda 0.37, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda 0.38 olmuştur (Çizelge 13.). n-6/n-3 oranı balık yağının besinsel değerini kıyaslamada iyi bir indekstir (Pigottand Tucker, 1990). HMSO (1994) tavsiye edilen en ideal n6/n3 oranının maksimum 4.0 olduğunu belirtmiştir. Çalışmada başlangıç n6/n3 oranı oldukça düşük düzeyde (0.01) bulunmuş olup, depolama sonunda *Spirulina* grubu 0.09, kontrol ve *Chlorella* grubu 0.07 n6/n3 oranına sahip olmuştur.

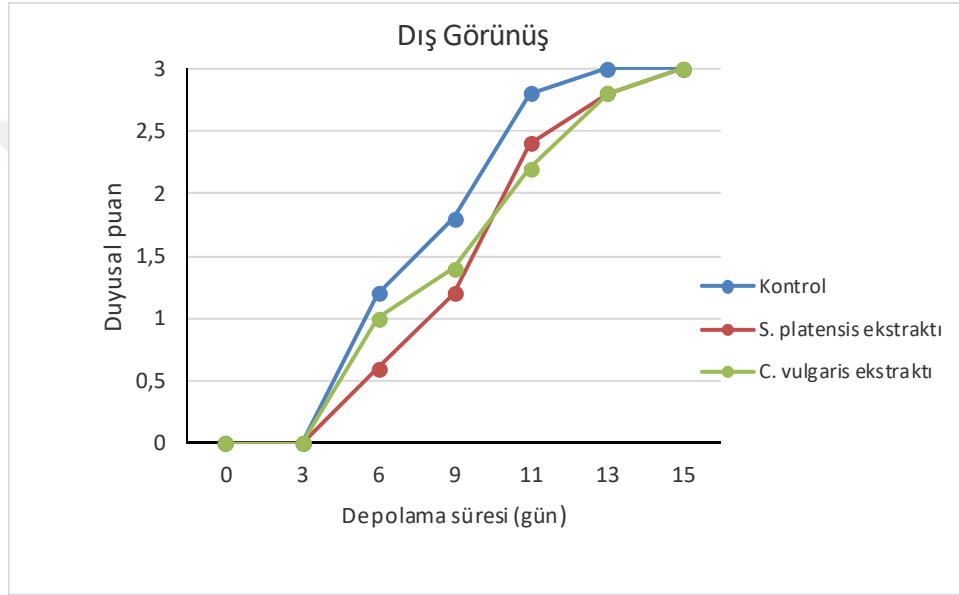
Çizelge 4.10. Sardalyanın soğuk depolanması süresince yağ asitlerin oranlarındaki değişimleri

Yağ asitleri	Depolama süresi (gün)							Gruplar
	0	3	6	9	11	13	15	
PUFA/SFA	0.52	0.04	0.29	0.48	0.41	0.39	0.37	Kontrol
	-	0.38	0.35	0.40	0.39	0.40	0.38	<i>Spirulina</i>
	-	0.19	0.33	0.38	0.35	0.36	0.38	<i>Chlorella</i>
$\Sigma n6$	0.38	1.17	1.13	2.87	1.11	2.44	1.18	Kontrol
	-	1.17	1.37	1.33	1.26	1.38	1.37	<i>Spirulina</i>
	-	1.18	1.18	1.22	1.19	1.38	1.13	<i>Chlorella</i>
$\Sigma n3$	19.65	16.91	11.21	17.66	7.74	31.6	15.12	Kontrol
	-	15.44	13.43	15.61	16.17	15.84	15.15	<i>Spirulina</i>
	-	7.20	13.45	17.66	16.34	15.57	15.42	<i>Chlorella</i>
n6/n3	0.01	0.06	0.10	0.16	0.74	0.07	0.07	Kontrol
	-	0.07	0.10	0.08	0.07	0.08	0.09	<i>S Spirulina</i>
	-	0.16	0.08	0.07	0.07	0.08	0.07	<i>Chlorella</i>

4.4.Duyusal değerlendirme

4.4.1.Çiğ Sardalyanın Duyusal Değerlendirmesi

Sardalyanın soğuk depolama süresince çiğ değerlendirilmesi dış görünüş, koku, sertlik ve et rengi değişimlerine bakılarak yapılmıştır (Şekil 4.1.). Depolamanın 3. gününden itibaren duyusal parametre puanlarında artışlar gözlenmiştir.

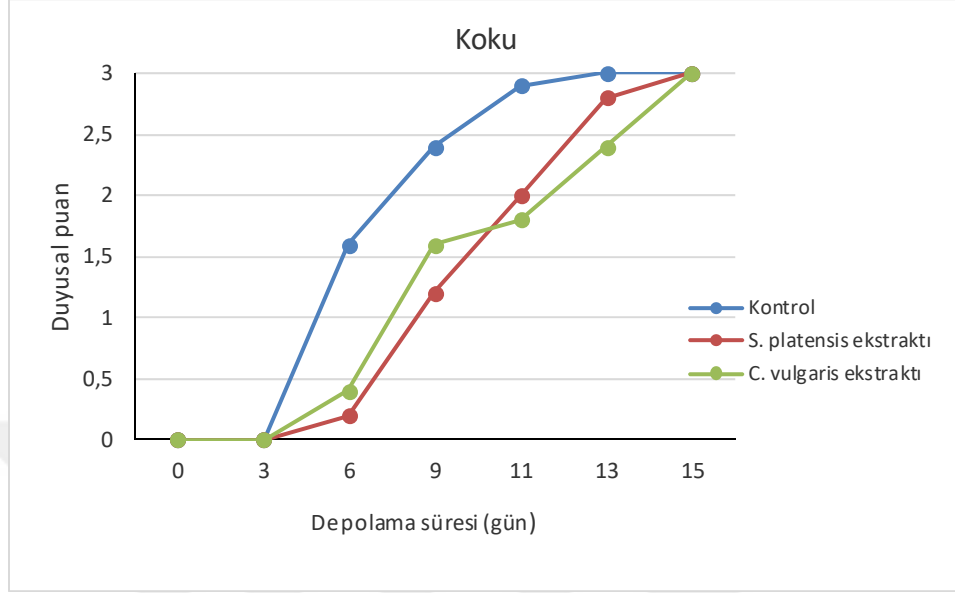


Şekil 4.1. Soğukta depolanan çiğ sardalyanın dış görünüşündeki değişimler

Panelistler tarafından sardalyanın raf ömrü kontrol grubu için 6. gün, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için ise 9. gün olarak belirlenmiştir. Kenar (2009) adaçayı ve biberiye den elde edilen antioksidanları vakum paketlenmiş sardalya filetoalarını buzdolabında depolamışlardır. Bu çalışma sonunda vakum paketlenen çiğ sardalya filetoalarının skorlarında artışlar gözlenmiştir. Kontrol grubu değerleri diğer gruplara göre daha yüksek olmuştur. Ada çayı ve biberiye grupları vakum paketlenmiş çiğ sardalya filetoalarının raf ömrünü 7 gün uzatmıştır. Kontrol grubu 7. günde ret edilmiştir. Adaçayı ve biberiye grubu ise 14. günde ret edilmiştir. Özogul ve ark. (2004), modifiye atmosfer paketlenmiş (MAP), vakum paketlenmiş (VP)

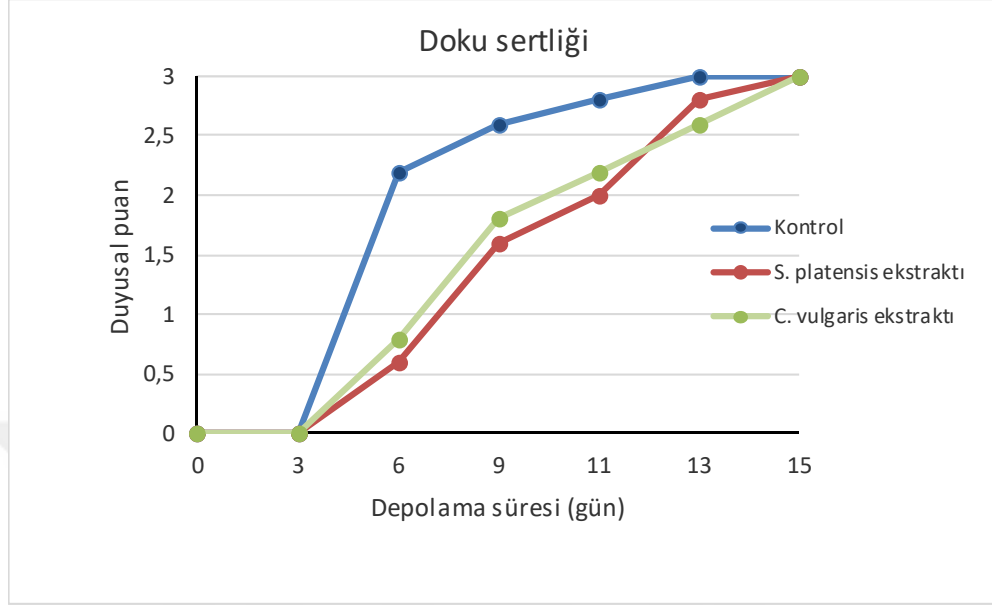
ve normal atmosfer paketlenmiş sardalya filetoalarını 4°C de depolamışlardır. Yaptıkları araştırmada modiyeye atmosfer paketlenmiş sardalyanın raf ömrü 12 gün, vakum paketlenmiş sardalyanın raf ömrü 9 gün, normal atmosferde tutulan sardalya filetoalarının ise 3 gün daha uzun raf ömrüne sahip olduğu tespit edilmiştir. Harpaz ve ark. (2003), % 0.05 oregano ve kekik ile muamele edilen *Lates calcarifer* 0–2 °C’de depolanması boyunca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında raf ömrünü 12 gün daha fazla uzattığını rapor etmiştir. Mahmoud (2004), %0.5 karvakrol solüsyonuna daldırılması işleminin 5 °C’de sazan filetoalarının raf ömrünü 12 güne kadar uzatılabildiğini tespit etmişlerdir. Özoğul ve ark. (2006), iç organları çıkarılmış buzda buzsuz kutularda, alüminyum folyo ve streç film ile sarılarak 4°C’de depolanan levreğin (*Dicentrarchus labrax*) duyusal değişimlerine bakmışlardır. Bu çalışma sonucunda iç organları çıkarılmış levrekte raf ömrünün buzda depolamada 16 gün, buzsuz kutularda 4 gün, alüminyum ve streç filmde 8 gün olarak bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda kontrol grubununun ret edildiği depolamanın 6. gününde dış görünüş değerleri kontrol grubu için 1.2, spirulina grubu için 0.6 chlorella grubu için ise 1 olarak bulunmuştur. Muamele gruplarının ret edildiği depolamanın 9. gününde ise dış görünüş puanı *Spirulina* grubu için 1.2, *Chlorella* grubu için 1.4 olarak belirlenmiştir. Depolamanın 9. gününde kontrol grubunun dış görünüşünün mat ve sarı-kahverengi olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 13. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* mat bir dış görünüşe sahip olmuştur. Durmuş ve ark. (2010) çiğ sardalyanın dış görünüşünü kış ve ilkbahar aylarında araştırmışlardır. Panalistler 7 üzerinden değerlendirmişlerdir. 0. günden 4. güne kadar hiçbir değişim olmamıştır. 7. günde kış 0.96, ilkbahar 1 olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 18. günde kış dış görünüş 3, ilkbahar 2.92 olarak tespit edilmiştir. Çaklı ve ark. (2013) 5 ay boyunca no-frostta depolanan sardalyanın 140. gününde sarı renge sahip olduğunu bildirmiştir.



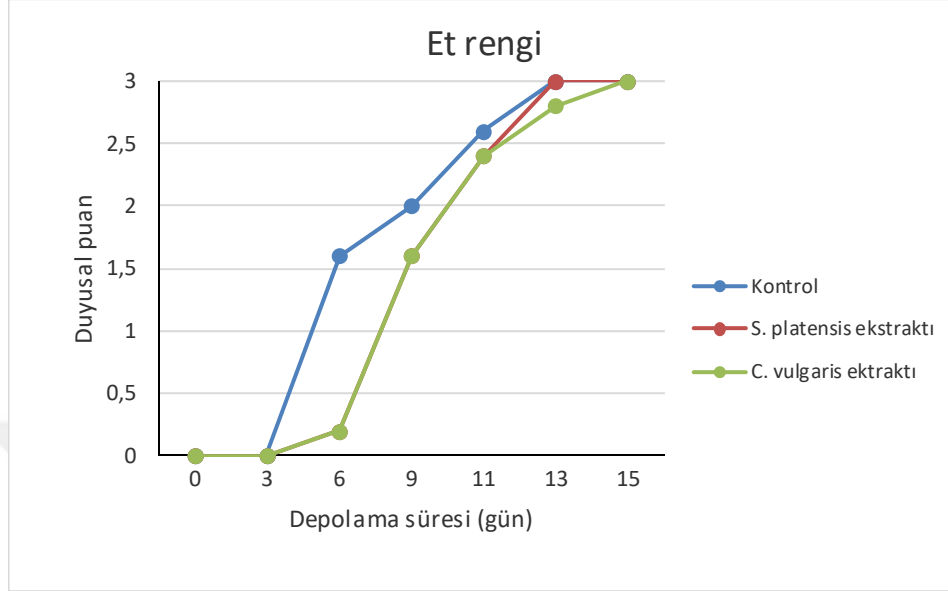
Şekil 4.2. Soğukta depolanan çiğ sardalyanın koku değişimleri

Panelistlerin ret ettiği 6. depolama gününde kontrol grubu, yoğun sardalya kokusu ve hafif acı bir kokuya sahip olmuştur. Bu depolama gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubu ise nötr bir balık kokusuna sahip olmuştur.(şekil 4.2.) Depolamanın 11. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda da panelistler tarafından acı bir koku hissedilmiştir. Depolamanın 13. gününde kontrol grubu tamamıyla acı yağ ve bozuk balık kokusuna sahip olmuştur. *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda depolamanın 15. gününde tamamen bozulmuş ve acı bir koku ortaya çıktığı görülmüştür. El Marrakchi (1990), 0 °C de depolanan sardalya filetosunun duyusal raf ömrünü 9 gün olduğunu tespit etmişken, Gökoğlu ve ark. (1995), 4°C de depolanan sardalya filetoların duyusal raf ömrülerinin 6 gün olarak bildirmiştir. Çaklı ve ark. (2003) 5 ay boyunca no-frostta depolanan sardalya da depolamanın 140. gününde hafif amonyak kokusu bildirmişlerdir.



Şekil 4.3. Soğukta depolanan çığ sardalyanın doku sertliğindeki değişimleri

Çığ sardalyada doku sertliğini belirlemede 0 puan sıkı ve elastik, 1 puan daha az sıkı, elastik; 2 puan daha az elastik; 3 puan ise yumuşak dokuyu göstermiştir. Bu çalışmada sardalya filetolarındaki en yüksek doku sertliği puanı (etteki en hızlı yumuşama) kontrol grubunda daha sonra *Chlorella* grubunda gözlenmiştir. Kontrol grubunun panelistler tarafından duyusal olarak ret edildiği 6. depolama gününde doku sertliği 2.2 iken, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 0.6 ve 0.8 olmuştur. *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun panelistler tarafından ret edildiği depolamanın 9. gününde ise doku sertliği puanı, kontrol için 2.6, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için ise sırasıyla 1.6 ve 1.8 olmuştur. (Şekil 4.3.)

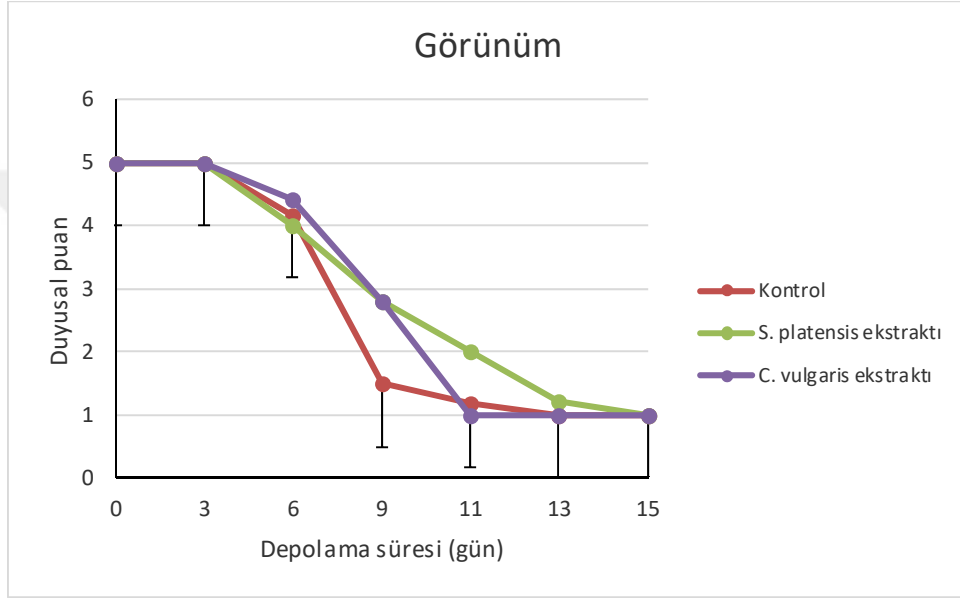


Şekil 4.4. Soğukta depolanan çiğ sardalyanın et rengindeki değişimler

Sardalya filetolarının et rengi panelistler tarafından 3 puan üzerinden değerlendirmişlerdir. 0 puan: Şeffaf pembe, parlak, yarı saydam; 1 puan: pembe /sarımtrak, daha az parlak, yarı saydam; 2 puan: krem/kahverengi, donuk; 3 puan: krem/kahverengi, donuk sarımtrak solgun olarak değerlendirilmiştir. Depolamanın 3. Gününe kadar et rengi bakımından önemli değişimler gözlenmezken, depolamanın 3. gününden itibaren kontrol ile muamele grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Depolamanın 11. gününe kadar *Spirulina* ve *Chlorella* grubu benzer et rengi skorlarına sahip olmuştur. Kontrol grubunun duysal olarak ret edildiği depolamanın 6. gününde kontrol grubunun et rengi 1.5, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun et rengi ise 0.2 olarak tespit edilmiştir.(Şekil 4.4..) *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarının duysal olarak ret edildiği depolamanın 9. gününde et rengi değerleri 1.6 iken, kontrol grubunun et rengi puanı 2 olmuştur. Şen ve ark. (2017) sardalya surimlerinden elde edilen jellerin depolamanın 30. gününde beyazlık parametresinin 7.67 olduğunu, depolamanın 60 gününde ise bu puanının 7.77'e ulaştığını tespit edilmiştir.

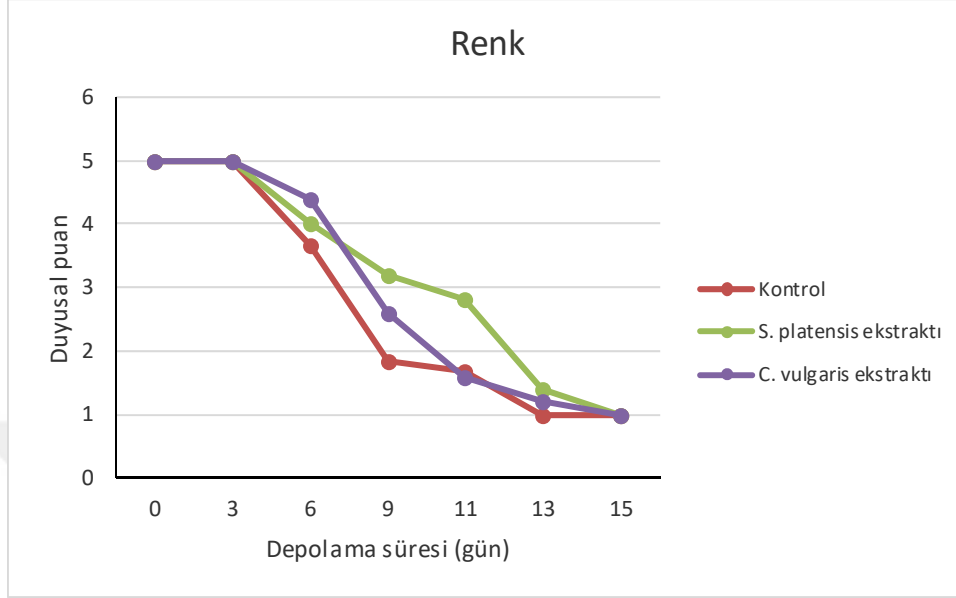
4.4.2. Pişmiş Sardalyanın Duyusal Değerlendirmesi

Sardalyanın soğuk depolama süresince pişmiş olarak değerlendirilmesi görünüm, renk, koku, doku yapısı ve lezzet değişimlerine bakılarak yapılmıştır (Şekil 4.5-4.8). Depolama süresince pişmiş balık etinin görünüm değerleri düşüş göstermiş olup, en hızlı düşüşler kontrol grubunda gözlenmiştir.



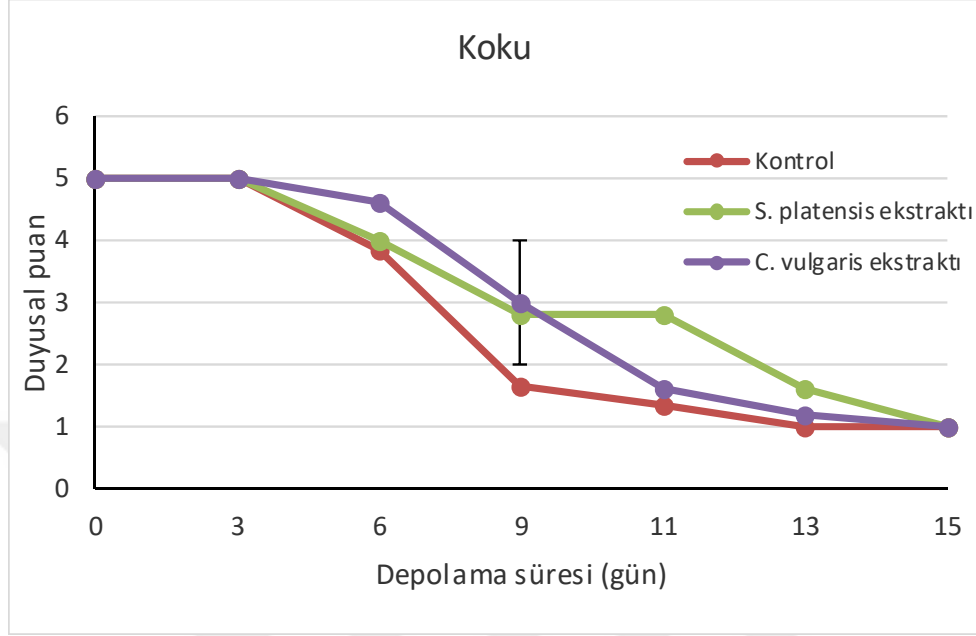
Şekil 4.5. Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın görünümündeki değişimler

Pişmiş sardalya fletolarının başlangıç görünüm puanı 5 olup, depolamanın 9. gününde kontrol grubu için 1.5 *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için 2.8'e düşmüştür. Depolama süresince *Spirulina* grubunun görünüm olarak *Chlorella* grubundan daha iyi olduğu, *Chlorella* grubunun ise kontrol grubundan daha iyi olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın renk değişimleri

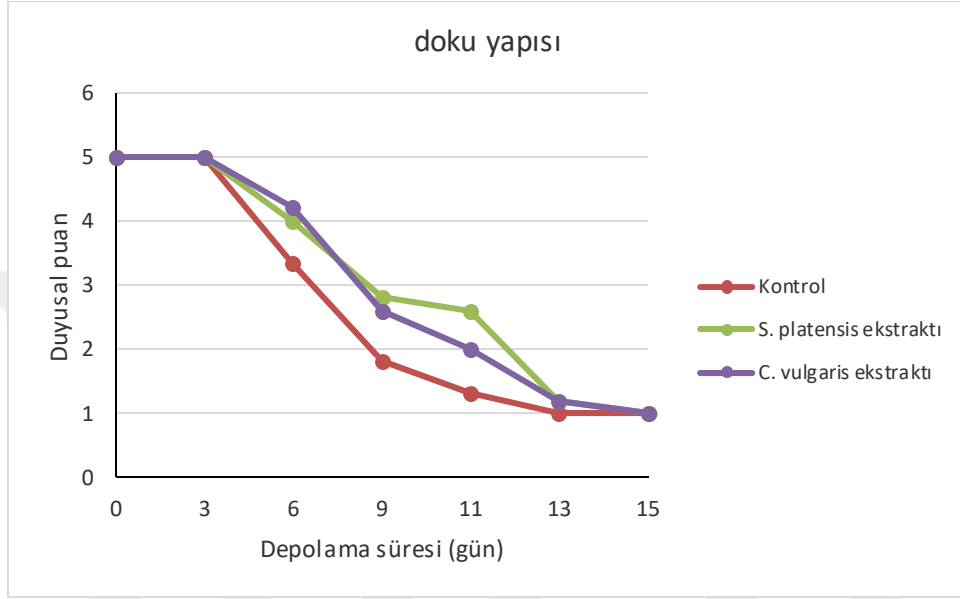
Depolamanın başlangıcında kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarının renk puanı 5 olmuştur. Balık etinin renk değerleri depolama süresi ile düşüş sergilemiştir. Başta *Spirulina* grubu olmak üzere muamele grupları daha iyi renk skorlarına sahip olmuştur. Depolamanın 6. gününde kontrol grubu 3.6, *Spirulina* grubu 4, *Chlorella* grubu 4.4 renk puanına sahipken, muamele gruplarının ret edildiği depolamanın 9. gününde kontrol grubu 1.83, *Spirulina* grubu 3.2 *Chlorella* grubu ise 2.6 olmuştur. Depolamanın 13. gününde ise bu değerler kontrol, *Chlorella* ve *Spirulina* grubu için sırasıyla 1, 1.2 ve 2.8 olarak tespit edilmiştir. Kenar.(2010) Adaçayı ve biberiyeden elde edilen antioksidanların sardalya üzerinde duyusal kalitesini araştırmışlardır. Duyusal olarak 13. günde red edildiğinde kontrol grubu için renk skoru 5.50 biberiye grubu 6.75 adaçayı grubu 7 olarak tespit etmişlerdir. Chouliara ve ark.(2004) 4 °C'de depolanan vakum paketlenmiş(VP) pişmiş çipura filetosunun 11 gün raf ömrüne sahip olduğunu tespit etmiştir.



Şekil 4.7. Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın koku değişimleri

Pişmiş sardalyanın koku puanı depolamanın başlangıcında 5 olup, kontrol grubunun duyuşal olarak ret edildiği 6. depolama gününde kontrol, depolamanın 3.gününde kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun koku puanı sırasıyla 3.8, 4 ve 4.6 olmuştur. Muamele gruplarının ret edildiği 9. depolama gününde ise kontrol grubu en düşük (1.6), *Spirulina* ve *Chlorella* grubu ise benzer koku puanına (2.8 ve 3) sahip olmuştur. Depolama başlangıcında en iyi koku skorları *Chlorella* grubunda gözlenirken, depolamanın 11. gününden itibaren en iyi koku *Spirulina* grubunda gözlenmiştir. Durmuş ve ark. (2010) kış ve ilkbahar mevsimlerinde avlanan pişmiş sardalyalarda koku bakımından depolamanın 7. ve 14. günlerinde istatistiksel olarak farklılık gözlenirken, depolamanın diğer günlerinde fark görülmemiştir. Kış mevsiminden 0 ve 4. günlerde koku olarak herhangi bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Stamatis. (2007), Modifiye atmosfer paket (MAP), vakum paket (VP) ve atmosferik havayla paketlenerek (AHP) 3 oC' de

depolanan çiğ sardalya fletolarının raf ömrünü sırayla MAP 9, VP ile 7 ve AHP ile 5 olarak rapor etmişlerdir.



Şekil 4.8 Soğukta depolanan pişmiş sardalyanın doku yapısındaki değişimleri

Pişmiş sardalyanın doku yapısı puanı depolama başlangıcında 5 olup, depolamanın 3. gününden itibaren doku yapısında önemli değişimler gözlenmiştir. Depolamanın 6. gününde pişmiş sardalyanın doku puanı, kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 3.3, 4 ve 4.2 iken, depolamanın 9. gününde sırasıyla 1.8, 2.8 ve 2.6 olarak tespit edilmiştir.. Depolamanın 6. Gününe kadar *Chlorella* grubu daha iyi doku yapısına sahipken, 6. günden itibaren *Spirulina* grubunun doku skoru *Chlorella* grubundan daha yüksek olmuştur. Durmuş ve ark. (2010) farklı mevsimlerde avlanan sardalyalarda doku sertliği bakımından 0 ve 14. günler dışında depolama boyunca mevsimsel olarak istatistiksel farklar bulmuşlardır.

4.5. Kimyasal Değerlendirme

4.5.1. Toplam Uçucu Bazik Azot

Taze avlanan balıkta TVB-N değeri genellikle 5 ile 20 mg/100g arasındadır (Conel, 1995). Bu çalışmada başlangıç TVB-N düzeyi 13.40 mg/100g olup, depolamanın 6. gününde kontrol grubunda 25.91 mg/100g, *Spirulina* grubunda 18.75 mg/100g, *Chlorella* grubunda ise 19.55 mg/100g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11). Gruplar arasında TVB-N içeriği bakımından istatistiki olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0.05$). Depolama süresince kontrol grubu genel olarak yüksek TVB-N değerlerine ulaşırken, depolamanın 6. ve 9. gününde *Spirulina* grubu en düşük TVB-N içeriğine sahip grup olmuştur ($p < 0.05$). EC (1995) balığın bozulma başlangıcındaki kabul edilebilir TVB-N limitinin 35 mg/100g olduğunu önermiştir. Mevcut çalışmamızda TVB-N limit değeri kontrol grubunda 11. günde, *Spirulina* grubunda 15. günde ve *Chlorella* grubunda ise 13. günde aşılmıştır.

Çizelge 4.11. Sardalya balığının soğuk depolanması süresince TVB-N değerlerindeki değişimleri (mg/100g).

Depolama Süresi	Kontrol	<i>Spirulina</i> ekstraktı	<i>Chlorella</i> ekstraktı
0	13.40±0.19	13.40±0.19	13.40±0.19
3	17.14±0.49 ^a	16.44±0.46 ^b	15.02±0.52 ^b
6	25.91±0.10 ^a	18.71±0.10 ^c	19.55±0.04 ^b
9	33.89±0.42 ^a	25.05±0.13 ^c	27.73±0.06 ^b
11	36.98±1.07 ^a	28.09±0.74 ^b	29.15±0.17 ^b
13	38.18±0.91 ^a	34.90±0.08 ^a	36.64±1.38 ^a
15	40.66±0.32 ^a	35.71±0.62 ^b	37.05±0.95 ^b

*ortalama değer.± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark ($P < 0.05$) vardır.

Kılınç ve ark. (2004) sardalya da başlangıç TVB-N değerinin 10.24 mg/100g olduğunu, marine işleminin 22. gününde ise 11.2 mg/100g düzeyine ulaştığını bulmuşlardır. Erkan ve ark. (2008) buzda depolanan tüm ve filetosu çıkarılmış sardalya 1. günde TVB-N değerinin sırasıyla 11.11 ve 18,05 mg/100g olduğunu bildirmiştir. 9. Depolama gününde ise tüm sardalyanın TVB-N değerini 29.23 mg/100g, filetosu çıkmış sardalyanın TVB-N değerini ise 15.03 olarak bulmuşlardır.

Kenar (2009) aromatik bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların vakum paketlenen sardalya filetolarının üzerine uygulamışlardır. Bu çalışmada, balığın duyusal olarak red edildiği depolama gününde TVBN değerleri kontrol grubu 34.44 mg/100g biberiye ve adaçayı grupları ise 31.04 ve 29.26 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Biberiye uygulanmış grupta sardalyadaki TVB-N seviyesi en yüksek 29.26 mg/100 g olarak depolama sonunda rapor edilmiştir. Özoğul ve ark.(2004), 4°C’de normal atmosferde, Modifiye Atmosfer paket ve Vakum paket’de depolanan sardalyanın TVB-N değerinin depolama boyunca arttığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, sardalyanın mikrobiyolojik olarak red edildiği gün TVB-N içeriğini 15mg/100g olarak tespit etmişlerdir. Gökoğlu ve Yerlikaya. (2004), çalışmalarında 0 ve 4°C’de depolanan sardalya filetolarının depolamanın ilk günündeki TVB-N değerinin 7.7mg/100g tespit etmişlerdir. Depolamanın 6. gününde 0 °C’de 11.46 mg/100g, 4°C’de ise 25.41 mg/100g’ olarak tespit etmişlerdir.

4.5.2 Tiyobarbitürük Asit Sayısı (TBA)

Tiyobarbitürük asit (TBA) sayısı yağlarda acılaşmaya gösteren kriterlerden biri olup lipid oksidasyon derecesini belirlenmesinde kullanılır (Ünal, 1995). Yeni avlanan balıktaki TBA değeri 3 veya 5 mg MDA/kg arasında olduğu ancak buzda depolanan balıklar içinde 5 veya 8 mg MDA/kg TBA sayısının kabul edilebilir bir oran olduğu bildirilmiştir (Nunes ve ark., 1992). Bu çalışmada başlangıç TBA değeri 0.51 mg MDA/kg olup, depolama süresince tüm gruplarda 3 mg MDA/kg’

ın altında bulunmuştur (Çizelge 4.12). Özyurt ve ark. (2011) sardalyanın başlangıç TBA değerinin 0.19 mg MDA/kg olduğunu buzda 12. günde depolama sonunda 5.05 mg MDA/kg'a ulaştığını bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada Durmuş ve ark. (2010) kış mevsiminde avlanan 4° C' de vakum paketli olarak depolanan sardalyanın 1.14 MA/kg olan başlangıç TBA değerinin depolama sonunda 0.46 MA/kg'a düştüğünü bildirmişlerdir. İlkbahar mevsiminde avlanan sardalyada ise başlangıçta 0.71 MA/kg olan TBA sayısının 4° C' de vakum paketli olarak depolanan sardalyanın depolama sonunda 0.90 MA/ kg'a ulaştığını bulmuşlardır. Şen ve ark. (2017) dondurulmuş mezgitten üretilen surimi jellerinin depolama süresince TBA değerleri değişmezken, sardalyadan üretilen suriminin TBA değerlerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Sardalya surimisi 30. günde 5.05 mg MDA/kg iken 60. Günde 5.79±0.04 mg MDA/kg olarak bulmuşlardır.

Çizelge 4.12. Sardalyanın soğuk depolanması süresince TBA değerindeki değişimleri

Depolama günü	mg malonaldehit/kg		
	Kontrol	<i>Spirulina</i> ekstraktı	<i>Chlorella</i> ekstraktı
0	0.51±0.01	0.51±0.01	0.51±0.01
3	0.50±0.02 ^a	0.49±0.02 ^b	0.55±0.04 ^b
6	0.56±0.03 ^a	0.59±0.01 ^b	0.69±0.03 ^b
9	0.76±0.03 ^a	0.63±0.02 ^b	0.51±0.03 ^c
11	0.56±0.03 ^a	0.64±0.04 ^b	0.60±0.07 ^b
13	0.81±0.01 ^a	0.67±0.05 ^b	0.74±0.04 ^b
15	0.64±0.01 ^a	0.61±0.01 ^b	0.61±0.01 ^b

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Kılınç ve ark. (2004) taze sardalyadaki 1,03 mg MDA/kg olan TBA sayısının marine işlemi sonunda (22. gün) 2.91 mg MDA/kg'a ulaştığını bildirmiştir. Mevcut bu çalışmamızda kontrol grubu ile *Spirulina* ekstrakt ve

Chlorella ekstraktı uygulanan gruplarında TBA değişimlerinde dikkat çekici bir farklılık görülmemiştir. En yüksek TBA değerleri depolamanın 13. günde kontrol grubunda 0.81 mg MDA/kg olarak bulunmuşken, *Spirulina* ekstraktı ve *Chlorella* uygulanan grup sırasıyla 0.64 mg MDA/kg ve 0.74 mg MDA/kg TBA değerine sahip olmuştur. Depolama süresince TBA değerleri dalgalanma göstermiş olup, gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). Depolama süresince en yüksek TBA değerleri kontrol grubunda gözlenmiştir. Depolamanın 3. 9. ve 11. Gününde *Spirulina* ile *Chlorella* grubu arasında TBA bakımından önemli farklılıklar gözlenmemiştir.(Çizelge 16.)

4.5.3. Peroksit sayısı (PV)

Yağlı balıkların raf ömrü lipit oksidasyonu ile sınırlıdır. Hidroperoksitler lipit oksidasyonu sonucu ortaya çıkan ürünlerdir. 5 meq/kg altındaki peroksit sayısı tazeliği, 5 ile 10 meq/kg arası peroksit sayısı ise yağların bozulmaya başladığını göstermektedir (Gracey ve ark., 1999). 100 meq/kg peroksit değerine ulaşan yağlar insanlarda nörotoksit etkiler gösterir (Gotoh ve ark., 2006). Bu çalışmada başlangıç peroksit değeri (PV) 4.11 meq/kg olup, depolama süresince tüm gruplarda dalgalanmalar göstermiştir (Çizelge17.). En yüksek PV depolamanın 9. gününde kontrol grubunda (8 meq/kg) gözlenmiştir. *S. plantensis* grubunda da en yüksek peroksit değerine 9. günde (6.53 meq/kg) ulaşılmıştır. *C. vulgaris* grubunda ise en yüksek PV, 6.06 meq/kg değer ile depolamanın 13. gününde belirlenmiştir.

Depolama süresince *S. plantensis* ve *C. vulgaris* ekstraktı uygulanan gruplarda PV kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olmuştur. Depolama süresince peroksit değerleri bakımından istatikselsel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$). Durmuş ve ark., (2010) farklı mevsimlerde avlanan sardalya (*sardinella aurita*)'nın 4 °C' de vakum paketli olarak depolanmasında peroksit değerlerine araştırmışlardır. Kış mevsiminde depolama süresindeki peroksit sayısı 11.27 meq/kg ilkbaharda 2.71 meq/kg olarak bulmuşlardır. Depolama sonucunda kış mevsiminde 21.48 meq/kg ilkbahar mevsiminde 13.01 meq/kg olarak

bulmuşlardır. Kenar (2009) kontrol ve adaçayı uygulanan sardalya etinde peroksit değerinde artışlar ve azalmalar gözlemlendiğini bildirmiştir. Ancak biberiye muameleli grubun değerlerinin kontrol grubuna yakın olduğundan dolayı peroksit oluşumunu önlemediği tespit edilmiştir. Negasi ve ark. (2018) benekli sardalyanın pV değerini 6.54 meq/kg olarak tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.13. Sardalyanın soğuk depolanması süresince peroksit sayısındaki (PV) değişimleri

Depolama günü	meq/kg±standart sapma		
	Kontrol	S.plantensis	C.vulgaris
0	4.11±0.09	4,11±0.09	4.11±0.09
3	6.18±0.20 ^a	4.29±0.10 ^c	4.61±0.11 ^b
6	6.50±0.20 ^a	5.22±0.13 ^b	5.42±0.22 ^b
9	8.06±0.43 ^a	6.53±0.32 ^b	4.98±0.18 ^c
11	5.69±0.22 ^a	4.04±0.21 ^b	4.35±0.26 ^b
13	7.07±0.08 ^a	5.19±0.17 ^c	6.06±0.19 ^b
15	6.63±0.30 ^a	4.85±0.04 ^c	5.63±0.27 ^b

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a–c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

4.5.4 Serbest Yağ Asitleri

Serbest yağ asitleri lipitlerin enzimatik hidrolizi sonucu oluşmakta olup, balık kasında serbest yağ birikimindeki artış balığın kalitesini düşürmektedir (Ohshima ve ark., 1984). Çalışmamızda, başlangıç serbest yağ asidi değeri %5.74 (% oleik asit) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.14). Depolama süresince serbest yağ asitleri değerleri dalgalanma göstermiş olup, gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir (P<0.05). Depolama süresince en yüksek serbest yağ asidi değerleri kontrol grubunda gözlenmiştir. Depolamanın 3. ve 9. Gününde *Spirulina* ile *Chlorella* grubu arasında serbest yağ asidi bakımından önemli farklılıklar gözlenmez iken, diğer depolama günlerinde *Spirulina* grubu daha düşük

serbest yağ asidi içeriğine sahip olmuştur. Kontrol grubunda serbest yağ asidi değeri balığın duyusal olarak red edildiği depolamanın 6. gününde %5.23 iken 15. depolama gününde %8.31'e ulaşmıştır. Serbest yağ asidi değeri, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için 11. depolama gününde sırasıyla % 4.53 ve 4.92 iken depolama sonunda (15.gün) sırasıyla %4.11 ve 4.89 olmuştur.

Çizelge 4.14. Sardalyanın soğuk depolanması süresince serbest yağ asitlerindeki değişimi

Depolama süresi (gün)	% oleik asit ±standart sapma		
	Kontrol	<i>Spirulina</i> ekstraktı	<i>Chlorella</i> ekstraktı
0	5.74±0.08*	5.74±0.08	5.74±0.25
3	6.19±0.32 ^a	5.55±0.32 ^b	5.72±0.25 ^b
6	5.23±0.10 ^b	4.74±0.14 ^c	5.65±0.23 ^a
9	4.70±0.24 ^a	4.08±0.09 ^b	4.34±0.17 ^b
11	5.53±0.25 ^a	4.53±0.24 ^b	4.92±0.17 ^b
13	6.48±0.11 ^a	5.15±0.07 ^c	5.48±0.21 ^b
15	8.31±0.44 ^a	4.11±0.16 ^c	4.89±0.23 ^b

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Durmuş ve ark. (2010) kış ve ilkbahar aylarında avlanan sardalyanın başlangıç serbest yağ asitlerinin sırasıyla %10.62 ve %2.55 olduğunu, soğuk depolama süresince dalgalanmalar gözlemlendiğini ve depolama sonunda bu değerlerin sırasıyla %20 ve %5.48 düzeyine ulaştığını bildirmişlerdir. Kenar (2009) serbest yağ asit değeri için kontrol grubu ile biberiye ve adaçayı ekstraktı uygulanan gruplar arasında 17. analiz gününde önemli bir istatistiksel farklılık tespit edilmiştir. Çalışma sonunda serbest yağ asit değeri açısından adaçayı ve biberiye grupları istatistiksel olarak benzerlikler tespit edilmiştir. Quitral ve ark. (2009), buz ile soğukta depolanan bitki ekstraktlı uskumrudaki serbest yağ asitleri değerinin tüm uygulama gruplarında artış gösterdiğini ancak bitki ekstraktlı buz ile muamele

edilmiş grubun serbest yağ asit değerleri açısından kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

4.5.5. pH Değeri

Taze ve küçük boyutlu balıklarda pH değeri 6.7–7.03 aralığındadır (Azam ve ark., 2004). Sardalyanın başlangıç pH değeri 6.75 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.15). Bu değer sardalyanın başlangıç pH'sının iyi olduğunu göstermiştir. Depolama süresince tüm grupların pH değerinde dalgalanmalar görülmüştür. Depolama süresince en yüksek pH değeri depolamanın 11. gününde kontrol grubun da (7.08) gözlenmiştir.

Çizelge 4.15. Sardalyanın soğuk depolanması süresince pH değerindeki değişimleri

Depolama Süresi (gün)	Kontrol	<i>Spirulina</i> ekstraktı	<i>Chlorella</i> ekstraktı
0	6.75±0.06*	6.75±0.06	6.75±0.06
3	6.80±0.008 ^a	6.77±0.05 ^a	6.76±0.04 ^a
6	6.83±0.003 ^a	6.80±0.02 ^{ab}	6.78±0.03 ^b
9	6.97±0.02 ^a	6.85±0.04 ^b	6.86±0.03 ^b
11	7.08±0.04 ^a	6.82±0.06 ^b	6.85±0.04 ^b
13	6.93±0.08 ^a	6.92±0.02 ^a	6.94±0.03 ^a
15	6.72±0.05 ^b	6.79±0.04 ^{ab}	6.84±0.08 ^a

*Ortalama değer± Standart sapma (n = 3). Aynı satırda farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır.

Depolama sonunda kontrol, *S. plantesis* ve *C. vulgaris* grubunun pH değeri sırasıyla 6.72, 6.79 ve 6.84 olarak bulunmuştur. Negasi ve ark. (2013) benekli sardalyanın pH'sının 7.08 olarak bulmuşlardır. Çaklı ve ark. (2003) taze

sardalyanın (0.gün) pH değerinin 6.41 olduğu ve no-frost koşullarında 140 gün depolanması sonucunda pH'nın 6.53 olarak kaydedildiğini bildirmişlerdir.

4.5.6. Biyojenik Aminler

Çizelge 20 4±1 °C'de depolanan sardalyanın depolama süresince amonyak ve biyojen aminlerdeki değişimleri göstermektedir. Depolama boyunca biyojenik aminlerde istatikselsel olarak farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Amonyak depolamanın 0. gününde 10.82 mg/100g olmuştur. Küley ve ark. (2018) laktik asit bakterisi serbest hücre ekstraktı ile bitki ekstraktı kombinasyonunun soğuk depolanan fermente sardalyanın başlangıç amonyak seviyesini bu çalışmaya kıyasla düşük (1.53 mg/100 g) tespit etmişlerdir. Serbest hücre ekstraktı ile bitki ekstraktının kombine kullanımı ile depolamanın 1. 2. 4. ve 6. haftasında amonyak miktarının düştüğü gözlenmiştir. Depolama süresince biyojenik amin değerleri dalgalanma göstermiş olup, gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$).

Bu çalışmada depolama süresi boyunca amonyak miktarında artışlar gözlenmesine rağmen Spirulina ve Chlorella da uygulanan gruplar kontrol grubuna kıyasla daha düşük amonyak içeriğine sahip olmuştur. Depolamanın 9. gününde kontrol grubundaki amonyak miktarı 56.62

mg/100g iken, spirulina ve chlorella grubundaki amonyak miktarı sırasıyla 10.66 ve 6.75 mg/100g olmuştur. Amonyak seviyesi en yüksek depolamanın 15. gününde gözlenmiş olup bu değerler kontrol, Spirulina ve Chlorella grubunda sırasıyla 168.16, 106.14 ve 105.92 mg/100g olarak bulunmuştur. Araştırmamızın sonucunda tüm gruplarda en fazla sardalya etinde bulunan biyojenik aminler amonyak, putresin, kadeverin, histamin, tiramin ve TMA olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Soğuk depolanan sardalyanın depolama süresince amonyak ve biyojen aminlerdeki değişimleri

GÜN	AMN	PUT	KAD	SPD	TRP	PHEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
0	10.82±0.96	0.80±0.00	5.64±0.71	1.68±0.18	0.00±0.00	0.48±0.03	7.47±0.20	0.43±0.04	18.06±0.99	4.60±0.38	2.07±0.08	23.31±0.92	14.45±0.92	K
3	18.09±1.06 ^a	10.9±1.66 ^b	38.39±0.05 ^a	7.25±0.75 ^b	1.04±0.06 ^a	0.00±0.0 ^a	13.33±1.26 ^a	0.93±0.04 ^a	33.44±0.58	10.36±4.42 ^a	9.13±0.18 ^a	36.31±0.31 ^a	25.31±1.35 ^a	K
	6.93±0.07 ^{ab}	17.00±0.12 ^b	22.53±0.26 ^a	5.01±0.01 ^b	0.00±0.00 ^a	0.32±0.03 ^{ab}	8.79±0.08 ^b	0.92±0.08 ^a	44.75±0.66	5.80±0.17 ^b	10.55±3.11 ^a	30.46±0.49 ^b	20.22±1.01 ^b	S
	14.23±0.39 ^a	10.90±1.13 ^b	4.93±0.18 ^a	10.05±0.11 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.0 ^b	6.73±0.24 ^b	0.50±0.0 ^a	22.21±0.91	2.66±0.21 ^b	3.66±0.07 ^a	23.55±0.78 ^b	14.42±0.10 ^{ab}	C
6	45.54±6.89 ^a	73.02±1.23 ^a	62.70±0.25 ^a	1.65±0.02 ^b	3.31±0.01 ^a	2.56±0.25 ^a	11.33±0.02 ^a	5.98±0.16 ^a	10.56±0.21 ^b	14.8±0.74 ^a	31.52±0.02 ^a	23.01±0.35 ^c	47.06±1.03 ^a	K
	10.03±0.33 ^b	71.97±0.06 ^a	34.95±1.3 ^b	0.00±0.00 ^c	3.34±0.37 ^a	1.29±0.12 ^b	6.73±0.31 ^b	2.95±0.01 ^a	8.20±0.06 ^c	6.56±0.01 ^b	12.51±0.30 ^b	25.94±0.32 ^b	4.70±0.40 ^c	S
	14.33±0.46 ^b	59.19±1.66 ^b	19.95±0.69 ^c	7.18±0.22 ^a	1.81±0.01 ^b	0.80±0.00 ^b	9.06±1.23 ^{ab}	2.34±0.01 ^c	19.42±1.04 ^a	7.07±0.34 ^b	12.80±0.76 ^a	29.25±0.05 ^a	20.65±0.25 ^b	C
9	56.62±0.49 ^a	13.8 ±0.91 ^a	55.72±0.56 ^a	6.32±0.01 ^c	0.00±0.0 ^c	3.17±0.18 ^a	6.52±0.51 ^a	7.52±1.58 ^a	4.19±0.09 ^a	23.49±2.71 ^a	18.96±0.58 ^b	15.62±0.42 ^c	7.02±0.06 ^b	K
	10.66±0.53 ^b	82.53±1.46 ^b	43.24±0.24 ^b	2.33±0.05 ^b	1.50±0.00 ^b	1.17±0.08 ^b	4.38±0.06 ^b	3.15±0.07 ^b	5.02±0.10 ^a	14.24±0.31 ^b	16.02±0.42 ^c	39.93±1.29 ^a	1.83±0.14 ^c	S
	6.75±0.91 ^c	74.38±1.69 ^c	39.74±3.05 ^c	1.51±0.16 ^a	2.05±0.00 ^a	0.48±0.04 ^b	7.14±0.07 ^{ab}	1.57±0.01 ^b	8.50±0.25 ^a	12.07±0.39 ^c	13.18±0.32	21.62±0.29 ^b	20.84±0.17 ^a	C
11	116.28±0.3 ^a	92.18±0.14 ^a	54.13±0.04 ^a	6.12±0.09 ^b	0.0±0.00	4.06±0.22 ^a	5.32±0.61 ^a	30.57±0.23 ^a	17.41±0.04 ^a	34.42±0.5 ^a	31.01±0.12 ^b	55.42±0.42 ^a	4.66±0.02 ^a	K
	85.27±0.31 ^b	87.96±0.43 ^b	52.63±1.42 ^a	5.87±0.12 ^b	0.00±0.00	3.00±0.40 ^b	4.45±0.65 ^a	12.40±0.04 ^b	9.72±0.30 ^b	21.25±1.63 ^b	43.59±4.52 ^a	9.69±0.95 ^c	4.10±0.09 ^b	S
	57.41±0.99 ^c	81.99±1.23 ^c	41.90±0.22 ^b	5.79±0.01 ^b	0.00±0.00	0.60±0.00 ^c	5.77±0.41 ^a	6.34±0.05 ^c	8.39±4.74 ^c	13.56±0.19 ^c	20.09±4.06 ^c	31.40±0.30 ^b	10.42±0.36 ^b	C
13	80.51±0.63 ^a	92.18±0.14 ^b	54.12±0.04 ^b	6.12±0.09 ^b	0.00±0.00 ^b	4.06±0.22 ^a	5.32±0.61 ^a	30.57±0.23 ^b	17.41±0.04 ^b	34.42±0.55 ^a	31.01±0.12 ^a	56.42±2.42 ^a	4.66±0.02 ^a	K
	83.80±3.81 ^a	88.22±0.62 ^c	45.99±4.68 ^{ab}	3.37±0.09 ^b	0.64±0.02 ^a	1.45±0.66 ^b	5.08±0.17 ^b	30.54±0.01 ^a	6.10±0.57 ^a	13.65±1.05 ^b	12.90±0.79 ^c	14.21±0.69 ^c	1.50±0.12 ^c	S
	62.33±0.49 ^b	90.83±0.50 ^a	43.79±0.04 ^b	7.20±0.23 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.0 ^c	6.40±0.14 ^a	13.79±0.26 ^c	2.63±0.08 ^b	11.16±0.06 ^c	17.11±0.08 ^b	21.89±1.05 ^b	3.88±0.36 ^b	C
15	168.16±0.14 ^a	130.47±0.29 ^a	83.75±0.47 ^a	6.03±0.02 ^b	4.20±0.00 ^a	19.23±0.08 ^a	11.34±0.01 ^a	54.18±0.08 ^a	15.99±0.02 ^a	76.06±0.15 ^a	60.75±0.15 ^b	37.97±0.02 ^a	7.44±0.02 ^a	K
	106.14±0.78 ^b	94.17±4.84 ^b	73.18±0.38 ^b	6.58±0.47 ^b	3.25±0.21 ^b	8.58±0.31 ^b	8.37±0.50 ^b	47.97±4.01 ^a	9.23±0.10 ^b	42.57±0.31 ^b	68.57±6.54 ^a	19.85±0.90 ^b	6.57±0.40 ^b	S
	105.92±7.78 ^b	130.51±4.29 ^a	82.03±0.68 ^a	15.81±0.68 ^a	0.00±0.00 ^c	3.94±0.10 ^c	6.43±0.74 ^c	29.00±0.19 ^b	4.06±0.66 ^c	24.63±0.14 ^c	36.04±0.55 ^c	13.83±0.25 ^c	3.07±0.03 ^c	C

*Ortalama değer± Standart sapma (n=3). Aynı sütundak farklı harflerle belirtilen (a-c) değerler bakımından gruplar arasında önemli fark (P < 0.05) vardır. AMN:Amonyak, PUT:putresin, KAD:kadaverin, SPD:spermidin, TRP:triptamin, PHEN:2-fenilettilamin, SPN:spermin, HİS:Histamin, SER:Serotonin, TİR:tiramin, TMA:trimetilamin, DOP:dopamin, AGM:agmatine. K:Kontrol grubu, S:*Spirulina* ekstraktuygulanan grup, C:*Chlorella* ekstraktı uygulanan grup

Putresin tüm gruplarda başlangıçta 0.80 mg/100g iken depolamanın, 13. gününe kadar Chlorella grubunun diğer gruplardan daha düşük seviyede putresin içerdiği görülmüştür. Depolamanın 13.ve 15. günlerde putresin seviyesi en düşük spirulina grubunda gözlenmiştir. Depolama sonunda en yüksek putresin değeri 130.51 mg/100g olarak chlorella grubunda görülmüştür. Özoğul ve ark.(2006) modifiye atmosferde vakum paketlenmiş sardalyanın biyojenik amin içeriği ve biyojenik amin kalite indeksleri araştırmışlardır. Modifiye atmosfer paketleme putresin depolamanın 2. Gününde 0.89 ± 0.4 mg/100 olarak bulmuşlardır. Depolamanın 10. Gününde 7.56 ± 4.1 mg/100 iken depolamanın 15. Gününde 4.67 ± 2.7 mg/100 olarak tespit edilmiştir Çizelge(4.6)

Depolama başında kadeverin düzeyi 5.64 mg/100g iken, depolamanın 3. gününde kontrol, Spirulina ve Chlorella grubunda sırasıyla 38.39, 22.53 ve 4/93 mg/100g olarak bulunmuştur. Gruplar arasında kadaverin içeriği bakımından en fazla fark depolamanın 3. gününde tespit edilmiştir. Depolamanın 15. gününe kadar Chlorella grubu spirulina grubuna göre daha düşük seviyede kadeverin içermiştir. Davood Zare ve ark. (2017) 3 ± 1 °C de depolanan sardalyanın putresin ve kadaverin değerinin 0. günde sırasıyla 3.74 ve 8.02 mg/kg olduğunu ve bu değerlerin depolama süresince kademeli artışlar sergileyerek depolamanın 15. gününde sırasıyla 79 ve 195.36 mg/kg'a ulaştığını bildirmişlerdir. Küley ve ark. (2018) *Lb. plantarum* serbest hücre ekstraktı dışında fermente sardalyada putresin ve kadaverin birikiminin depolama sırasında 0.5 ve 0.9 mg / 100 g altında olduğunu bildirmiştir.

Spermidin depolama başlangıcında 1.68 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Spirulina grubu depolama süresince genellikle en düşük spermin içeriğine sahip grup olmuştur. Özoğul ve ark.(2006) modifiye atmosferde vakum paketlenmiş sardalyanın biyojenik amin içeriği ve biyojenik amin kalite indeksleri araştırmışlardır. Bu araştırmada spermidin miktarı depolamanın 2. Gününde 0.04 mg/100 en düşük iken depolamanın 10 gününde ise en yüksek bulmuşlardır. Depolamanın son gününde ise 0.47 ± 0.2 mg/100g olarak tespit etmişlerdir.

Triptamin balık etinde en az miktarda bulunan biyojen amin olup depolamanın 0. ve 11. gününde hiçbir grupta tespit edilememiştir. Depolamanın 15 gününde kontrol grubu (4.20 mg/100g) ve spirulina grubu (3.25 mg/100g) en yüksek triptamin içeriğine sahip grup olmuştur.

Feniletülenamin depolamanın başlangıcında 0.48 mg/100g iken depolamanın 6., 9., 11., 13., ve 15. günlerinde en yüksek kontrol grubunda daha sonra spirulina grubunda gözlenmiştir. Özoğul ve ark.(2006) modifiye atmosferde vakum paketlenmiş sardalyanın biyojenik amin içeriği ve biyojenik amin kalite indeksleri araştırmışlardır. Feniletülenamin depolamanın 2. Gününde 0.23 ± 0.9 mg/100g iken en yüksek feniletülenamin değeri depolamanın 6. Gününde 0.38 ± 0.2 mg/100 g tespit edilmiştir. Depolamanın 6. Gününden sonra feniletülenamin değeri kademeli olarak düşmüş depolamanın son gününde 0 mg/100 gr olmuştur.

Sardalyanın spermin içeriği depolama başlangıcında 7.47 mg/100g olmuştur. Depolama süresince en düşük spermin içeriği kontrol grubunda 11. depolama gününde (5.32 mg/100g) gözlenirken, depolamanın 3. gününde kontrol grubu en yüksek spermin içeriğine sahip (13.33 mg/100g) grup olmuştur. Spirulina ve chlorella grubunda en yüksek spermin düzeyine depolamanın sırasıyla 3. (8.79 mg/100g) ve 6. gününde (9.06 mg/100g) ulaşılmıştır. Davood Zare ve ark. (2017) soğuk depolanan sardalyada 31.81 mg/kg olan başlangıç spermin değerinin depolama süresince azalış gösterdiğini ve 15. Gün sonunda 11,23 mg/kg olduğunu tespit etmişlerdir. Küley ve ark. (2018) Ham sardalyada spermidin ve spermin içeriği 0.12 ve 0.33 mg / 100 g iken depolama süresince fermente sardalyada 2 mg /100 g altında kalmıştır

Balık etindeki başlangıç histamin düzeyi 0.43 mg/100g olarak tespit edilmiştir. En yüksek histamin değerleri depolama sonunda tespit edilmiş olup, kontrol, spirulina ve chlorella grupları için sırasıyla 54.18, 47.97 ve 29 mg/100g olarak bulunmuştur. Davood Zare ve ark. (2017) 3 ± 1 °C'de depolanan sardalyanın depolamanın 0. 3. ve 6 günlerinde histamin içermediğini, ancak histamin düzeyinin depolamanın 12. gününde 25.43 mg/kg'a ve 15.gününde ise 28.27 mg/kg'a

ulaştığını tespit etmişlerdir. Küley ve ark. (2018) Sardalya etinde 0. günde histamin saptanmamış olup, depolama süresince fermente sardalyada 3.3 mg / 100 g seviyesinin altında kalmıştır.

Serotonin depolamanın başlangıcında 18.06 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu için en yüksek serotonin seviyesi 33.44 mg/100g ile depolamanın 3. gününde tespit edilmiştir. Spirulina grubunda en düşük serotonin seviyesi 5.02 mg/100g ile depolamanın 9. gününde gözlenirken, depolamanın 3. Gününde spirulina grubu en yüksek serotonin içeriğine sahip (44.75 mg/100 g) grup olmuştur.

Tiramin başlangıçta tüm gruplarda 4.60 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 3. gününden itibaren ekstrakt uygulanan gruplar istatistiksel olarak daha düşük tiramin içeriğine sahip olmuşlardır. Muamele grupları arasında Chlorella grubu Spirulina grubuna göre balık etindeki tiramin birikimini daha fazla engellemiştir. En yüksek tiramin değeri depolamanın 9. gününde kontrol grubunda (23.49 mg/100 g) gözlenmiştir. Özoğul ve ark.(2006) modifiye atmosferde vakum paketlenmiş sardalyanın biyojenik amin içeriğini araştırmışlar depolamanı 2. Gününde 1.28 ± 0.5 mg/100 gr olarak tespit etmişlerdir.

TMA başlangıçta tüm gruplarda 2.07 mg/100g olarak tespit edilmiştir. TMA değerleri depolama süresince genellikle artış sergilemiştir. Depolama süresince klorella grubu kontrol ve spirulina grubuna kıyasla daha düşük TMA içermiştir. En yüksek TMA seviyesine depolama sonunda ulaşılmış olup, kontrol, chlorella ve spirulina grubunda sırasıyla 60.75, 68.57 ve 36.04 mg/100g olarak bulunmuştur. Küley ve ark., (2018) fermente sardalyada 9.69 mg / 100 g olan başlangıç TMA değerininin 4 haftada maksimum 34.72 mg/100 g seviyesine ulaştığını rapor edilmiştir. Bu çalışmada 2.07 mg/100g olan başlangıç TMA değeri, depolamanın 15. gününde maksimum 68.57 mg/100g değerine ulaşmıştır.

Dopamin depolama başlangıcında 23.31 mg/100g iken, kontrol grubunda en yüksek dopamin seviyesi 56.42 mg/100g ile 13. günde tespit edilmiştir. Spirulina grubunda ise en düşük dopamine 11. günde (9.69 mg/100g) olarak, en

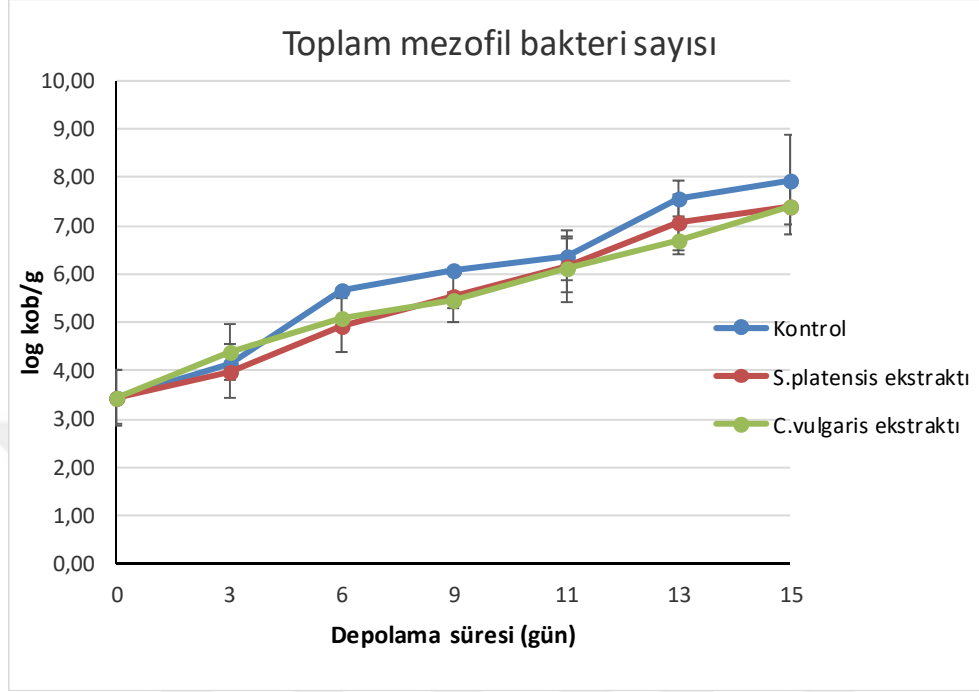
yüksek dopamin seviyesi ise 39.93 mg/100g ile 9. günde tespit edilmiştir. Chlorella grubunda ise en düşük dopamin birikimi 13.83 ile depolamanın 15. gününde, en yüksek dopamin ise 31.40 mg/100g ile depolamanın 11. gününde tespit edilmiştir

Agmatin depolama başlangıcında 14.45 mg/100g olarak bulunmuştur. Depolama süresince agmatin birikiminde gruplar arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Spirulina grubu genellikle diğer gruplara kıyasla daha düşük düzeyde agmatin üretmiştir. En yüksek agmatin değerlerine kontrol, spirulina ve chlorella grupları sırasıyla depolamanın 6. günü (47.06 mg/100 g), 3. günü (20.22 mg/100g) ve 9. gününde (20.84 mg/100g) ulaşmıştır. Özogul ve ark. (2006) sardalyadaki biyogenik amin değerlerini araştırmışlardır. Agmatin değerlerini en düşük 0.08 ± 0.0 ile depolamanın 4. Gününde en yüksek değerini ise depolamanın 15. Günde 2.32 ± 2.0 olarak tespit etmişlerdir.

4.6. Mikrobiyolojik Değişimler

4.6.1. Toplam Aerobik Mezofil Bakteri (TAMB) Sayısı

Şekil 4.9. vakum paketlenen sardalyanın TAMB sayısındaki değişimleri göstermektedir. Sardalyanın başlangıç TAMB sayısı 3.45 log kob/g olarak bulunmuştur. Negasi ve ark. (2018) benekli sardalya filetosunun başlangıçtaki toplam mezofil sayısını 3.2 log kob/g olarak rapor etmişlerdir. TAMB sayısı depolama süresince artış sergilemiş olup, en hızlı artış kontrol grubunda olmuştur.



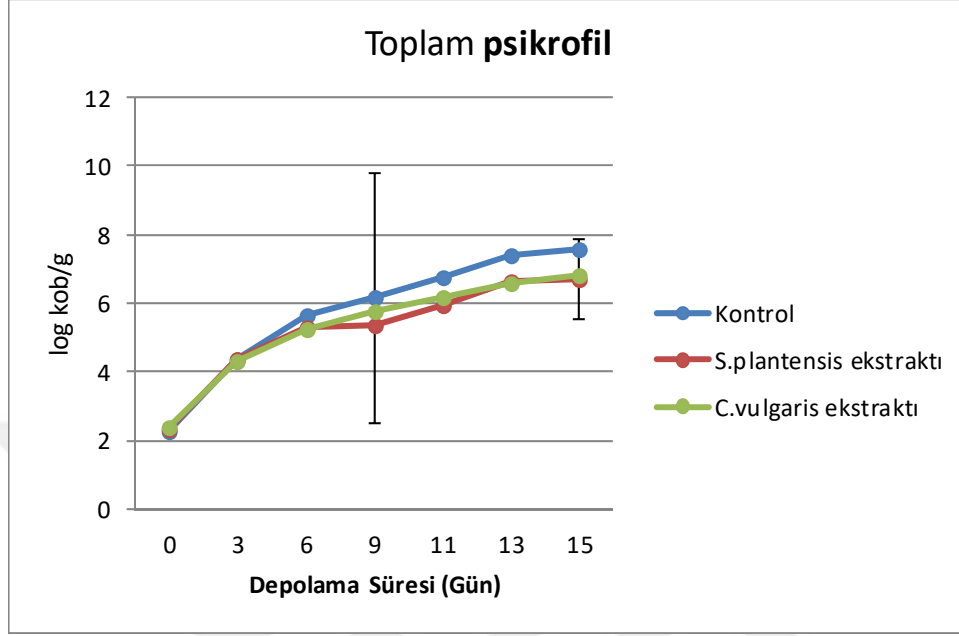
Şekil 4.9. Soğuk depolanan sardalyanın toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Kontrol grubunun duyuşal olarak ret edildiği depolamanın 6. Gününde kontrol grubu 6.06 log kob/g, *Spirulina* grubu 6.17 log kob/g ve *Chlorella* grubu 6.10 log kob/g bakteri yüküne sahip olmuştur. ICMSF (1986) tarafından 7 log kob/g olarak önerilen limitine kontrol ve *Spirulina* grubu için 13. günde ulaşılmıştır. Diğer muamele gruplarından *Chlorella* ise 15. günde ulaşılmıştır. Rania ark. (2008) *S. platensis*'in test edilen bakterilere ve mantarlara karşı yüksek antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. *C. vulgaris*'in güçlü antibakteriyel özelliklere sahip olduğu ve sentetik maddelere alternatif olarak kullanılabilereği bildirilmiştir (Priya, 2012). Bu çalışmada ekstrakt uygulanan gruplar kontrole kıyasla daha düşük TAMB sayısına sahip olmuştur. Depolama başlangıcında *Spirulina* ekstraktı, depolama sonuna doğru ise *Chlorella* ekstraktı içeren grubun daha düşük bakteriyel yüke sahip olduğu gözlenmiştir. Calanche ve ark. (2013) sardalya filetoalarını 4 °C 10 gün buzda ve modifiye atmosfer pakette

depolamışlar buzda depolanan sardalya filetosunda toplam mezofil sayısını 1.13 log kob/g bulunmuşken, modifiye atmosfer pakette depolanan sardalyada 7.66 log kob/g olarak bulmuşlardır. Durmuş (2010) kış ve ilkbahar aylarında avladıkları sardalyaların depolama sonunda TAMB sayısının sırasıyla 7.74 ve 6.33 log kob/g'a ulaştığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada depolama sonunda kontrol ve muamele gruplarının TAMB sayısı sırasıyla 7.94 ve 7.38 log kob/g olmuştur.

4.6.2. Toplam Psikrofil Bakteri Sayısı

Sardalya etinin başlangıç toplam psikrofil sayısı 2.37 log kob/g olup, depolama süresince artış göstermiştir (Şekil 4.10.). Kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği depolamanın 6. gününde psikrofil sayısı kontrol grubunda 5.66 log kob/g iken, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında 5.26 log kob/g olmuştur. Muamele gruplarının duyusal olarak ret edildiği depolamanın 9. gününde ise bu sayı kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında sırasıyla 6.14, 5.34 ve 5.75 log kob/g'a ulaşmıştır. Depolamanın 13. gününde en yüksek psikrofil sayısı kontrol grubunda gözlenirken, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları benzer psikrofil sayısına (6.6 log kob/g) sahip olmuştur.



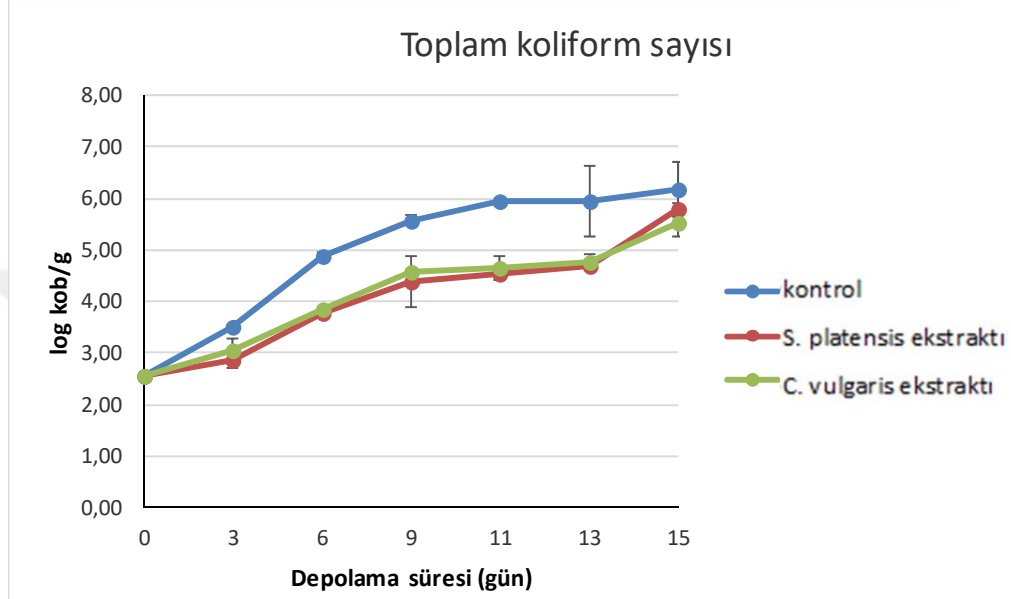
Şekil 4.10. Soğuk depolanan sardalyanın toplam psikrofil sayısı

Kuley ve ark. (2018) 3 ± 1 °de depolanan fermente sardalyanın toplam psikrofilik sayısının depolama sonunda kontrol grubunda 6.89 log kob/g olduğunu, *Pediococcus acidolactici* ve *Lactobacillus plantarum* serbest hücre ekstraktı ile muamele edilen grupların ise sırasıyla 6.76 ve 6.88 log kob/g olduğunu bulmuşlardır. Kılınç (2003) dondurulmuş sardalya filetoları kullanarak domatesli (%2 asetik asit, % 4 tuz) ve limonlu (% 2 sitrik asit, % 4 tuz) olmak üzere iki şekilde marinasyon hazırlanmıştır. Psikrofil bakteri sayısı başlangıçtaki metaryalde 7.6×10^4 kob/g olmuştur. Marine olarak depolama süresince psikrofil sayısı tespit seviyesinin altında kalmıştır (<10 kob/g).

4.6.3. Toplam Koliform Sayısı

Sardalyada başlangıçta toplam koliform sayısı 2.55 log kob/g olarak bulunmuştur (Şekil 4.11). Depolama sürecinde her üç grupta toplam koliform sayısı kademeli olarak artış göstermiştir. Toplam koliform sayısı depolamanın 3.

gününde kontrol grubunda 3.5 log kob/g, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda ise sırasıyla 2.85 ve 3.05 log kob/g olarak bulunmuştur.



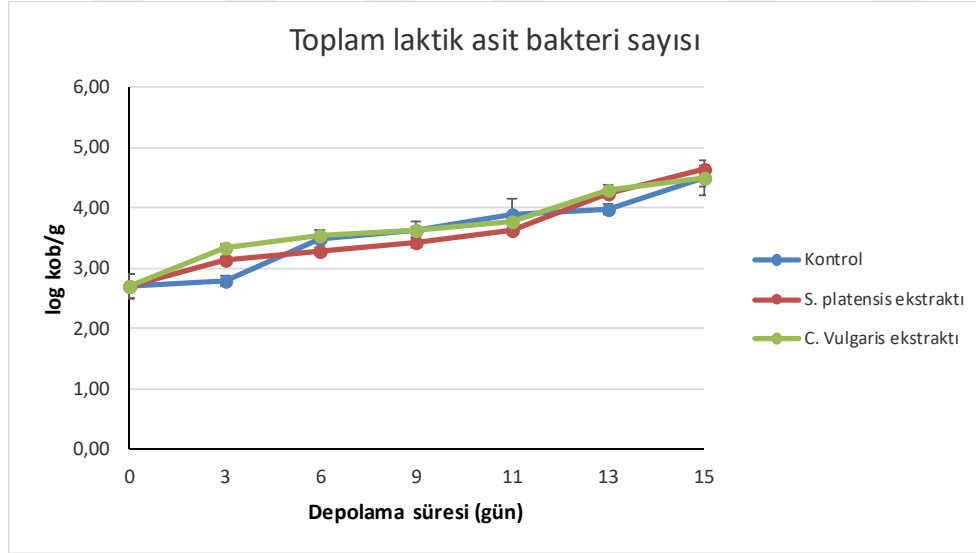
Şekil 4.11. Soğuk depolanan sardalyanın toplam koliform sayısındaki değişimleri

Depolama süresi boyunca *Spirulina* ve *Chlorella* grupları benzer koliform yüküne sahip olmuştur. Depolama sonunda toplam koliform sayısı kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları için sırasıyla 6.16, 5.78 ve 5.51 log kob/g olarak bulunmuştur. Erkan ve ark (2008) buzda depolanan tüm ve filetosu çıkarılmış sardalyanın koliform sayısının 1. günde 3.5 log kob/g olduğunu, depolama sonunda (9. gün) sırasıyla 5.5 ve 4.3 log kob/g'a ulaştığını bulmuşlardır. Calanche ve ark. (2013) soğuk zincir uygulanan bir gıda işletmesinden temin edilen paketlenmiş filetosu çıkarılmış sardalyanın 6.42 log kob/g ve buzda depolanan sardalyanın 2.63 log kob/g toplam koliform içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Campos ve ark. (2005) ozana daldırılmış, buzda ve buzlu suda depolanmış sardalyanın mikrobiyal kalitesine bakmışlardır. Toplam koliform sayısının 5. günde ozanlanmış sardalya için 1 log kob/g, buzda ve buzlu suda depolanan sardalya için sırasıyla 1.8 ve 1 log

kob/g olduğunu, 24. günde sırasıyla 1, 1.5 ve 1.5 log kob/g olduğunu rapor etmişlerdir.

4.6.4. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı

Şekil 4.12. Vakum paketlenen soğuk depolanan sardalyanın toplam laktik asit bakteri sayısındaki değişimlerini göstermektedir. Başlangıç toplam laktik asit bakteri sayısı 2.70 log kob/g olup, depolama süresince kademeli artışlar sergilemiştir. Kuley ve ark. (2018) sardalyada başlangıç laktik asit bakteri sayısını 2.04 log olarak rapor etmiştir. Soğuk depolanan vakum paketlenen fermente sardalyanın laktik asit bakteri sayısının bu çalışmaya benzer olarak kademeli olarak arttığını, depolama sonunda en yüksek bakteriyel yükün bakteriyel serbest hücre ekstraktı uygulanan muamele gruplarında gözlemlendiğini (6.76 ve 6.81 log kob/g) bildirmişlerdir. Bu çalışmada *Chlorella* grubu genellikle en yüksek laktik asit bakteri yüküne sahip grup olmuştur



Şekil 4.12. Soğuk depolanan sardalyanın toplam laktik asit bakteri sayısındaki değişimleri

Kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği 6. depolama gününde toplam laktik asit bakteri sayısı 3.49 log kob/g olmuştur. Muamele gruplarının duyusal olarak ret edildiği depolamanın 9. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun toplam laktik asit bakteri sayısı sırasıyla 3.42 ve 3.64 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın son gününde ise kontrol ve *Chlorella* grubu 4.49 log kob/g, *Spirulina* grubu ise 4.63 log kob/g laktik asit bakteri sayısına sahip olmuştur. Ndaw ve ark. (2007) laktik asit bakterileri ile fermente edilen 22 ve 30 ° C'de depolanan sardalyanın *Lactobacillus delbrueckii* sayısının başlangıçta 4.36 ve 4.65 log kob/g olduğunu ve depolama sonunda 9.65 ve 9.28 log kob /g'a ulaştığını bulmuşlardır.

4.6.5. Sardalya Etinde Patojen Varlığı

Balıktaki mikroorganizma yükü ve cinsi; sıcaklık, avlanma bölgesi avlanma sezonu, avlama metodu, su kirliliği, saklama koşulları, taşıma ve işleme şekli gibi farklı etmenlerden etkilenmektedir (Hussain ve Uddin, 1995). Balık avlandıktan sonra soğuk zincir kurallarına uygun şekillerde transfer edilmesi ve işlenmesi gerekmektedir. Soğuk muhafaza (0°C) koşullarında mikrobiyal etki yavaşlatılabilir ama yok edilemez (Nollet ve Toldrá, 2010). Su ürünleri zehirlenmesinde etken olan mikroorganizmalar arasında *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* gibi bakteriler bulunmaktadır (FDA, 2012). Bu çalışmada sardalya etinde depolama süresince *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli* ve *Salmonella* spp. varlığına rastlanmamıştır.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada mavi yeşil alglerden *Spirulina plantensis* ve yeşil alglerden *Chlorella vulgaris*'den sulu ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen doğal antioksidanların vakum paketlenmiş soğuk depolanan sardalya (*Sardinella aurita*) filetosu üzerindeki duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkileri araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarından elde sonuçlar ve öneriler aşağıda verilmiştir.

1. Yapılan araştırmada *Spirulina* spp.'nin makro element değerlerinden sodyum (Na) 20733.9 µg/g, magnezyum (Mg) 3249.4 µg/g, fosfor (P) 8576.1 µg/g, potasyum (K) 17749.2 µg/g ve kalsiyum (Ca) 5397.8 µg/g olarak bulunmuştur.
2. Bu çalışmada *Chlorella* spp. 'nin makro elementlerden ise Na, Mg, P, K ve Ca değerleri ise 958.9, 1818.4, 10651.2, 1732.1 ve 1853.6 µg/g olarak bulunmuştur
3. İz elementler bakımından *Spirulina* spp. 768.17 µg/g demir (Fe), 19.91 µg/g bakır (Cu), 15.93 µg/g çinko (Zn) içermiştir. *Chlorella* spp.'nin Fe, Cu ve Zn içeriği ise sırasıyla 1031.53, 3.52 ve 17.05 µg/g olarak tespit edilmiştir.
4. Araştırmada katı faz mikroekstraksiyon yöntemiyle *C. vulgaris* ekstraktında toplam 70 bileşik belirlenmiş olup, en yüksek oranda bulunan bileşikler, %31.19 3,5-dichloro-6-nitrocholestane, %2.60 8-epoxyolanostan-11-ol, 3-acetoxy-, %2.28 benzaldehyde, %1.99 tribehenin, %1.95 chlortetracycline, % 1.46 hexacosane, %1.44 bruceantin, %1.38 tyrinnal ve %1.20 trilinolein olarak tespit edilmiştir.
5. *S. platensis* ekstraktında ise toplam 78 bileşik belirlenmiş olup, en önemli ana bileşeni %67.64 değeri ile dioctylamine olmuştur. *Spirulina* ekstraktında yüksek oranda belirlenen diğer önemli bileşenler ise

pentadecane (%7.32), hexadecane (%6.33), dodecan (%2.34), jasmololone (%2.015), isopulegone (%1.68) ve cymarın (%0.787) olmuştur.

6. Sardalyanın ham protein, lipit, nem ve ham kül oranları sırasıyla % 1.36, %77.68, % 1.47 ve % 19.49 olarak bulunmuştur.
7. Toplam doymuş yağ asitleri (SFA) tüm gruplarda depolama boyunca dalgalanma göstermiştir. Tüm gruplarda en yüksek oranda bulunan SFA'ların sırasıyla, palmitik asit (C16:0;%24.07-25.64), miristik asit (C14:0; %11.03-13.06) ve stearik asit (C18:0; %5.17-5.83) olduğu bulunmuştur. Depolamanın 0. gününde % 41.07 olan toplam SFA düzeyi depolamanın son gününde kontrol grubu için %44.25, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için sırasıyla % 43.30 ve % 43.61 olarak tespit edilmiştir.
8. Kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında en yüksek toplam tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) palmitoleik asit (C16:1; % 0.07-16.92), oleik asit (C18:1n9; %5.14-6.30) ve cis-11-oktadekenoik asit (C18:1n7; %1.96-4.67) olmuştur. Sardalyada toplam MUFA içeriği 0. günde %24.49 iken, depolamanın 15. gününde kontrol grubunda %27.43, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında ise sırasıyla %26.84 ve % 26.88 olarak bulunmuştur.
9. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) kontrol ve muamele gruplarında depolama süresince dalgalanmalar göstermiştir. Ekosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n3) sardalya etinde en fazla düzeyde bulunan PUFA olmuştur. Başlangıç EPA ve DHA düzeyi sırasıyla %8.62 ve 11.10 olup depolama sonunda kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla %8.07 ve 6.76, %8.20 ve 6.68, ve %7.92 ve 7.23 olmuştur. Balık etindeki linoleik asit (C18:2 n6) depolama süresince tüm gruplarda %2.6'nın altında kalmıştır. Depolamanın 3. günü dışında, kontrol ve muamele grupları arasında PUFA içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Depolamanın 3. gününde *Chlorella* grubu diğer gruplara kıyasla daha düşük bir PUFA içeriğine sahip olmuştur. PUFA, depolama başlangıcında %21.62 iken,

- depolama sonunda en düşük PUFA değeri *Chlorella* grubunda (%16.73), en yüksek PUFA değeri ise *Spirulina* grubunda (%16.77) tespit edilmiştir.
10. Bu çalışmada başlangıç PUFA/SFA oranı 0.52 olarak bulunmuş olup, depolama sonunda kontrol grubunda 0.37, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda 0.38 olmuştur.
 11. Çalışmada başlangıç n6/n3 oranı oldukça düşük düzeyde (0.01) bulunmuş. Depolama sonunda *Spirulina* grubu 0.09, kontrol ve *Chlorella* grubu 0.07 n6/n3 oranına sahip olmuştur.
 12. Sardalyanın soğuk depolama süresince çığ değerlendirilmesi dış görünüş, koku, sertlik ve et rengi değişimlerine bakılarak yapılmıştır. Depolamanın 3. gününden itibaren duyuşal parametre puanlarında artışlar gözlenmiştir. Panelistler tarafından sardalyanın raf ömrü kontrol grubu için 6. gün, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için ise 9. gün olarak belirlenmiştir. Kontrol grubununun red edildiği depolamanın 6. gününde dış görünüş değerleri kontrol grubu için 1.2, spirulina grubu için 0.6 chlorella grubu için ise 1 olarak bulunmuştur. Muamele gruplarının red edildiği depolamanın 9. gününde ise dış görünüş puanı *Spirulina* grubu için 1.2, *Chlorella* grubu için 1.4 olarak belirlenmiştir. Depolamanın 9. gününde kontrol grubunun dış görünüşünün mat ve sarı-kahverengi olduğu gözlenmiştir. Depolamanın 13. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* mat bir dış görünüşe sahip olmuştur.
 13. Panelistlerin ret ettiği 6. depolama gününde kontrol grubu, yoğun sardalya kokusu ve hafif acı bir kokuya sahip olmuştur. Bu depolama gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubu ise nötr bir balık kokusuna sahip olmuştur. Depolamanın 11. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda da panelistler tarafından acı bir koku hissedilmiştir. Depolamanın 13. gününde kontrol grubu tamamıyla acı yağ ve bozuk balık kokusuna sahip olmuştur. *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda depolamanın 15. gününde tamamen bozulmuş ve acı bir koku ortaya çıktığı görülmüştür.

14. Sardalya filetolarındaki en yüksek doku sertliği puanı (etteki en hızlı yumuşama) kontrol grubunda daha sonra *Chlorella* grubunda gözlenmiştir. Kontrol grubunun panelistler tarafından duyusal olarak ret edildiği 6. depolama gününde doku sertliği 2.2 iken, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 0.6 ve 0.8 olmuştur. *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun panelistler tarafından ret edildiği depolamanın 11. gününde ise doku sertliği puanı, kontrol için 2.8, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için ise sırasıyla 2 ve 2.2 olmuştur.
15. Depolamanın 3. gününe kadar et rengi bakımından önemli değişimler gözlenmezken, depolamanın 3. gününden itibaren kontrol ile muamele grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Depolamanın 11. gününe kadar *Spirulina* ve *Chlorella* grubu benzer et rengi skorlarına sahip olmuştur. Kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği depolamanın 6. gününde kontrol grubunun et rengi 1.5, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun et rengi ise 0.2 olarak tespit edilmiştir. *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarının duyusal olarak ret edildiği depolamanın 11. gününde et rengi değerleri 2.4 iken, kontrol grubunun et rengi puanı 2.6 olmuştur.
16. Depolama süresince pişmiş balık etinin görünüm değerleri düşüş göstermiş olup, en hızlı düşüşler kontrol grubunda gözlenmiştir. Pişmiş sardalya filetolarının başlangıç görünüm puanı 5 olup, depolamanın 9. gününde kontrol grubu için 1.5, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için 2.8'e düşmüştür. Depolama süresince *Spirulina* grubunun görünüm olarak *Chlorella* grubundan daha iyi olduğu, *Chlorella* grubunun ise kontrol grubundan daha iyi olduğu tespit edilmiştir.
17. Depolamanın başlangıcında kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarının renk puanı 5 olmuştur. Balık etinin renk değerleri depolama süresi ile düşüş sergilemiştir. Başta *Spirulina* grubu olmak üzere muamele grupları daha iyi renk skorlarına sahip olmuştur. Depolamanın 6. gününde kontrol grubu 3.6, *Spirulina* grubu 4, *Chlorella* grubu 4.4 renk puanına sahipken,

- muamele gruplarının ret edildiği depolamanın 9. gününde kontrol grubu 1.83, *Spirulina* grubu 3.2 *Chlorella* grubu ise 2.6 olmuştur.
18. Pişmiş sardalyanın koku puanı depolamanın başlangıcında 5 olup, kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği 6. depolama gününde kontrol, depolamanın 3.gününde kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun koku puanı sırasıyla 3.8, 4 ve 4.6 olmuştur. Muamele gruplarının ret edildiği 9. depolama gününde ise kontrol grubu en düşük (1.6), *Spirulina* ve *Chlorella* grubu ise benzer koku puanına (2.8 ve 3) sahip olmuştur. Depolama başlangıcında en iyi koku skorları *Chlorella* grubunda gözlenirken, depolamanın 11. gününden itibaren en iyi koku *Spirulina* grubunda gözlenmiştir.
19. Pişmiş sardalyanın doku yapısı puanı depolama başlangıcında 5 olup, depolamanın 3. gününden itibaren doku yapısında önemli değişimler gözlenmiştir. Depolamanın 6. gününde pişmiş sardalyanın doku puanı, kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 3.3, 4 ve 4.2 iken, depolamanın 9. gününde sırasıyla 1.8, 2.8 ve 2.6'a düşmüştür. Depolamanın 6. Gününe kadar *Chlorella* grubu daha iyi doku yapısına sahipken, 6. günden itibaren *Spirulina* grubunun doku skoru *Chlorella* grubundan daha yüksek olmuştur.
20. Depolamanın başlangıcında lezzet skoru 5 olup, depolamanın 6. gününde kontrol grubu için 4 *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için sırasıyla 2.6 ve 4.4'e düşmüştür. Depolamanın 9. gününde bu puanlar kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için sırasıyla 1.6, 2.8 ve 2.6 olmuştur. Depolamanın 6. gününe kadar *Chlorella* grubu diğer gruplardan daha yüksek lezzet skoru alırken, depolamanın 9. gününden itibaren *Spirulina* daha iyi lezzete sahip olmuştur.
21. Bu çalışmada başlangıç TVB-N düzeyi 13.40 mg/100g olup, depolamanın 6. gününde kontrol grubunda 25.91 mg/100g, *Spirulina* grubunda 18.75 mg/100g, *Chlorella* grubunda ise 19.55 mg/100g olarak bulunmuştur.

Gruplar arasında TVB-N içeriği bakımından istatistiki olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Depolama süresince kontrol grubu en yüksek TVB-N değerine ulaşırken, depolamanın 6. ve 9. gününde *Spirulina* grubu en düşük TVB-N içeriğine sahip grup olmuştur ($p<0.05$). TVB- N limit değeri kontrol grubunda 11. günde, *Spirulina* grubunda 15. günde ve *Chlorella* grubunda ise 13. günde aşılmıştır. 4. TBA başlangıçta tüm gruplarda 0,51 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

22. Başlangıç TBA değeri 0.51 mg MDA/kg olup, depolama süresince tüm gruplarda 3 mg MDA/kg' ın altında bulunmuştur. Mevcut bu çalışmamızda kontrol grubu ile *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı uygulanan gruplarında TBA değişimlerinde dikkat çekici bir farklılık görülmemiştir. En yüksek TBA değerleri depolamanın 13. günde kontrol grubunda 0.81 mg MDA/kg olarak bulunmuşken, *Spirulina* ekstraktı ve *Chlorella* uygulanan grup sırasıyla 0.64 mg MDA/kg ve 0.74 mg MDA/kg TBA değerine sahip olmuştur.
23. Başlangıç peroksit değeri (PV) 4.11 meq/kg olup, depolama süresince tüm gruplarda dalgalanmalar göstermiştir. En yüksek PV depolamanın 9. gününde kontrol grubunda (8 meq/kg) gözlenmiştir. *Spirulina* grubunda da en yüksek peroksit değerine 9. günde (6.53 meq/kg) ulaşılmıştır. *Chlorella* grubunda ise en yüksek PV, 6.06 meq/kg değer ile depolamanın 13. gününde belirlenmiştir. Depolama süresince *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı uygulanan gruplarda PV kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olmuştur.
24. Çalışmamızda, başlangıç serbest yağ asidi değeri %5.74 (% oleik asit) olarak bulunmuştur. Depolama süresince serbest yağ asitleri değerleri dalgalanma göstermiş olup, gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). Depolama süresince en yüksek serbest yağ asidi değerleri kontrol grubunda gözlenmiştir. Depolamanın 3., 9. ve 11. gününde *Spirulina* ile *Chlorella* grubu arasında serbest yağ asidi

bakımından önemli farklılıklar gözlenmez iken, diğer depolama günlerinde *Spirulina* grubu daha düşük serbest yağ asidi içeriğine sahip olmuştur. Kontrol grubunda serbest yağ asidi değeri balığın duyusal olarak red edildiği depolamanın 6. gününde %5.23 iken 15. depolama gününde %8.31'e ulaşmıştır. Serbest yağ asidi değeri, *Spirulina* ve *Chlorella* grubu için 11. depolama gününde sırasıyla %4.53 ve 4.92 iken depolama sonunda (15.gün) sırasıyla %4.11 ve 4.89 olmuştur.

25. Sardalyanın başlangıç pH değeri 6.75 olarak bulunmuştur. Bu değer sardalyanın başlangıç pH'sının iyi olduğunu göstermiştir. Depolama süresince tüm grupların pH değerinde dalgalanmalar görülmüştür. Depolama süresince en yüksek pH değeri depolamanın 11. gününde kontrol grubun da (7.08) gözlenmiştir.
26. Depolama boyunca biyojenik aminlerde istatistiksel olarak farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Amonyak depolamanın 0. gününde 10.82 mg/100g olmuştur. Depolama süresi boyunca amonyak miktarında artışlar gözlenmesine rağmen *Spirulina* ve *Chlorella* uygulanan gruplar kontrol grubuna kıyasla daha düşük amonyak içeriğine sahip olmuştur. Depolamanın 9. gününde kontrol grubundaki amonyak miktarı 56.12 mg/100g iken, *Spirulina* ve *Chlorella* grubundaki amonyak miktarı sırasıyla 10.66 ve 6.75 mg/100g olmuştur. Amonyak seviyesi en yüksek depolamanın 15. gününde gözlenmiş olup bu değerler kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 168.16, 106.14 ve 105.92 mg/100g olarak bulunmuştur. Araştırmamızın sonucunda tüm gruplarda en fazla sardalya etinde bulunan biyojenik aminler putresin, kadeverin, histamin, tiramin ve TMA olarak bulunmuştur.
27. Putresin tüm gruplarda başlangıçta 0.80 mg/100g iken depolamanın, 13. gününe kadar *Chlorella* grubunun diğer gruplardan daha düşük seviyede putresin içerdiği görülmüştür. Depolamanın 13.ve 15. günlerde putresin seviyesi en düşük *spirulina* grubunda gözlenmiştir. Depolama sonunda en

- yüksek putresin değeri 130.51 mg/100g olarak *Chlorella* grubunda görülmüştür.
28. Depolama başında kadeverin düzeyi 5.64 mg/100g iken, depolamanın 3. gününde kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 38.39, 22.53 ve 4/93 mg/100g olarak bulunmuştur. Gruplar arasında kadaverin içeriği bakımından en fazla fark depolamanın 3. ve 15. gününde tespit edilmiştir. Depolamanın 15. gününe kadar *Chlorella* grubu *Spirulina* grubuna göre daha düşük seviyede kadeverin içermiştir.
29. Spermidin depolama başlangıcında 1.68 mg/100g olarak tespit edilmiştir. *Spirulina* grubu depolama süresince genellikle en düşük spermin içeriğine sahip grup olmuştur.
30. Triptamin balık etinde en az miktarda bulunan biyojen amin olup depolamanın 0. ve 11. gününde hiçbir grupta tespit edilememiştir. Depolamanın 15 gününde kontrol grubu (4.20 mg/100g) ve *Spirulina* grubu (3.25 mg/100g) en yüksek triptamin içeriğine sahip grup olmuştur.
31. Feniletülenamin depolamanın başlangıcında 0.48 mg/100g iken depolamanın 6., 9., 11., 13., ve 15. günlerinde en yüksek kontrol grubunda daha sonra *Spirulina* grubunda gözlenmiştir.
32. Sardalyanın spermin içeriği depolama başlangıcında 7.47 mg/100g olmuştur. Depolama süresince en düşük spermin içeriği kontrol grubunda 11. depolama gününde (5.32 mg/100g) gözlenirken, depolamanın 3. gününde kontrol grubu en yüksek spermin içeriğine sahip (13.33 mg/100g) grup olmuştur. *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda en yüksek spermin düzeyine depolamanın sırasıyla 3. (8.79 mg/100g) ve 6. gününde (9.06 mg/100g) ulaşılmıştır.
33. Balık etindeki başlangıç histamin düzeyi 0.43 mg/100g olarak tespit edilmiştir. En yüksek histamin değerleri depolama sonunda tespit edilmiş olup, kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları için sırasıyla 54.18, 47.97 ve 29 mg/100g olarak bulunmuştur.

34. Serotonin depolamanın başlangıcında 18.06 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu için en yüksek serotonin seviyesi 33.44 mg/100g ile depolamanın 3. gününde tespit edilmiştir. *Spirulina* grubunda en düşük serotonin seviyesi 5.02 mg/100g ile depolamanın 9. gününde gözlenirken, depolamanın 3. Gününde *Spirulina* grubu en yüksek serotonin içeriğine sahip (44.75 mg/100 g) grup olmuştur.
35. Tiramin başlangıçta tüm gruplarda 4.60 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 3. gününden itibaren ekstrakt uygulanan gruplar istatistiksel olarak daha düşük tiramin içeriğine sahip olmuşlardır. Muamele grupları arasında *Chlorella* grubu *Spirulina* grubuna göre balık etindeki tiramin birikimini daha fazla engellemiştir. En yüksek tiramin değeri depolamanın 9. gününde kontrol grubunda (23.49 mg/100 g) gözlenmiştir.
36. TMA başlangıçta tüm gruplarda 2.07 mg/100g olarak tespit edilmiştir. TMA değerleri depolama süresince genellikle artış sergilemiştir. Depolama süresince *Chlorella* grubu kontrol ve *Spirulina* grubuna kıyasla daha düşük TMA içermiştir. En yüksek TMA seviyesine depolama sonunda ulaşılmış olup, kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda sırasıyla 60.75, 68.57 ve 36.04 mg/100g olarak bulunmuştur.
37. Dopamin depolama başlangıcında 23.13 mg/100g iken, kontrol grubunda en yüksek dopamin seviyesi 56.42 mg/100g ile 13. günde tespit edilmiştir. *Spirulina* grubunda ise en düşük dopamine 11. günde (9.69 mg/100g) olarak, en yüksek dopamin seviyesi ise 39.93 mg/100g ile 9. günde tespit edilmiştir. *Chlorella* grubunda ise en düşük dopamin birikimi 13.83 ile depolamanın 15. gününde, en yüksek dopamin ise 31.40 mg/100g ile depolamanın 11. gününde tespit edilmiştir.
38. Agmatin depolama başlangıcında 14.45 mg/100g olarak bulunmuştur. Depolama süresince agmatin birikiminde gruplar arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. *Spirulina* grubu genellikle diğer gruplara kıyasla daha düşük düzeyde agmatin üretmiştir. En yüksek agmatin değerlerine

kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları sırasıyla depolamanın 6. günü (47.06 mg/100 g), 3. günü (20.22 mg/100g) ve 9. gününde (20.84 mg/100g) ulaşmıştır.

39. Sardalyanın başlangıç toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB) sayısı 3.45 log kob/g olarak bulunmuştur. TAMB sayısı depolama süresince artış sergilemiş olup, en hızlı artış kontrol grubunda olmuştur. Kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği depolamanın 6. Gününde kontrol grubu 6.06 log kob/g, *Spirulina* grubu 6.17 log kob/g ve *Chlorella* grubu 6.10 log kob/g bakteri yüküne sahip olmuştur. 7 log kob/g olarak önerilen TAMB limitine kontrol ve *Spirulina* grubu için 13. günde ulaşmıştır. Diğer muamele gruplarından *Chlorella* ise 15. günde ulaşmıştır.
40. Sardalya etinin başlangıç toplam psikrofil sayısı 2.37 log kob/g olup, depolama süresince artış göstermiştir. Kontrol grubunun duyusal olarak ret edildiği depolamanın 6. gününde psikrofil sayısı kontrol grubunda 5.66 log kob/g iken, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında 5.26 log kob/g olmuştur. Muamele gruplarının duyusal olarak ret edildiği depolamanın 9.gününde ise bu sayı kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* gruplarında sırasıyla 6.14, 5.34 ve 5.75 log kob/g'a ulaşmıştır. Depolamanın 13. gününde en yüksek psikrofil sayısı kontrol grubunda gözlenirken, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları benzer psikrofil sayısına (6.6 log kob/g) sahip olmuştur.
41. Sardalyada başlangıçta toplam koliform sayısı 2.55 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolama sürecinde her üç grupta toplam koliform sayısı kademeli olarak artış göstermiştir. Toplam koliform sayısı depolamanın 3. gününde kontrol grubunda 3.5 log kob/g, *Spirulina* ve *Chlorella* grubunda ise sırasıyla 2.85 ve 3.05 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolama süresi boyunca *Spirulina* ve *Chlorella* grupları benzer koliform yüküne sahip olmuştur. Depolama sonunda toplam koliform sayısı kontrol, *Spirulina* ve *Chlorella* grupları için sırasıyla 6.16, 5.78 ve 5.51 log kob/g olarak bulunmuştur.

42. Başlangıç toplam laktik asit bakteri sayısı 2.70 log kob/g olup, depolama süresince kademeli artışlar sergilemiştir. Bu çalışmada *Chlorella* grubu genellikle en yüksek laktik asit bakteri yüküne sahip grup olmuştur.
43. Kontrol grubunun duyuşal olarak ret edildiği 6. depolama gününde toplam laktik sit bakteri sayısı 3.49 log kob/g olmuştur. Muamele gruplarının duyuşal olarak ret edildiği depolamanın 9. gününde *Spirulina* ve *Chlorella* grubunun toplam laktik asit bakteri sayısı sırasıyla 3.42 ve 3.64 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın son gününde ise kontrol ve *Chlorella* grubu 4.49 log kob/g, *Spirulina* grubu ise 4.63 log kob/g laktik asit bakteri sayısına sahip olmuştur.
44. Sardalya etinde depolama süresince *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli* ve *Salmonella spp.* varlığına rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmamızda *Spirulina plantensis* ve *Chlorella vulgaris* alglerinin sulu ekstraktının soğuk depolama süresince duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkileri incelenmiştir. TVB-N değerleri depolama süresince artış gösterdiği için iyi bir kalite göstergesi olmuştur. Çalışmada TBA değerleri tüm gruplar için 1 mgMA/kg altında kalmıştır. Ekstrakt uygulaması TBA değerlerinde önemli düşüşlere yol açmıştır. *Chlorella* ekstraktı *Spirulina* ekstraktına göre lipit oksidasyonunu engellemede daha etkili olmuştur. Peroksit değeri kontrol grubu için 8 meq/kg'ın diğer gruplar için ise 6.6 meq/kg altında kalmıştır. Başta *Spirulina* olmak üzere ekstrakt uygulaması peroksit değerinde önemli düşüşlere yol açmıştır. Ekstrakt uygulaması bakteriyel gelişimi yükünü de önemli düzeyde düşürmüştür. *Spirulina* ve *Chlorella* ekstraktı uygulaması özellikle balık etindeki koliform yükünü önemli düzeyde düşürmüştür. Sonuç olarak *Spirulina* ve *Chlorella* ekstrakt uygulaması sardalya fletolarının raf ömrünü 3 gün uzatmıştır. Bu çalışmada bu ekstraktların %1 konsantrasyonu kullanılmıştır. İleriye dönük çalışmalarda farklı ekstrakt konsantrasyonları ve muhafaza teknikleri kullanılarak in vivo ve in vitro çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır



KAYNAKLAR

- Aarthy, M., Saravananb, P., Ayyaduraia, N., Gowthamana, M.K., Kamini,N.K., 2016 A two step process for production of omega 3-polyunsaturated fattyacid concentrates from sardine oil using *Cryptococcus* sp. MTCC 5455lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 125 (2016) 25–33
- Afify ,A., Baky H., Baroty,G,S., Baz, F., Murad,S,M (2017) Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from blue-green algae *spirulina platensis* extracted with three different methods and treated with enzymes *Bioscience Research*, 2017 14(3):485-497.
- Akoh, Cc, Min, Db., 1998. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. Marcel Dekker:New York. 816 p.
- Ames, Bn., Shigenaga, Mk., Hagen, Tm. 1993, Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 90(17):7915-22
- Analysis Chemists. Washington DC: Association of Official Analytical
- Anonim 1. *Spirulina*. www.algbiotek.com (2009)
- Anonim 3. *Spirulina ile Yapılmış Bilimsel Araştırmalar*. www.algbiotek.com
- Antonocopoulos, N. 1973. Bestimmung Des Flüchhtigen Basensticktoofs. *Fische and Fischerzeugnisse*, 224-225.
- AOAC, 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of the Official*
- AOAC, 2002. Official Method 920.153. Ash content. In: *Official methods of analysis*, 17th Ed, Association of Official Analytical Chemists,
- AOCS, 1994. Method Ja 8-87, Peroxide value. In: D. E. Firestone (Ed.), *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 4th ed., Champaign, illinois, usa: aocs press.
- AOCS. 1997. Official Method Ca 5a-40. Free fatty acids. In: D.E. Firestone (Ed.), *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil*

- Arasaki, S., And Arasaki, T., 1983. Low calorie, high nutrition vegetables from the sea to help look and feel better. Japan Publications, Tokyo, 196
- Azam, K., Ali, M.Y., Asaduzzaman, M., Basher, M.Z., Hossain, M.M., 2004. Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In: Hall,G.M., (Ed.), Fish Processing Technology. Blackie Academic and Professional publishers,London, UK, pp. 1–26.and Map. International Journal of Food Science and Technology 43: 2000–2009.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., Empis, J. M., & Christie, W. W., 1997.Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). Journal of Food Science
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrach, B., Mechichi, T., Ayadi, M.A., Fendri, I., Attia, H., Abdelkafi, S., 2017. Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage . lwt - food science and technology 84 (2017) 323e330
- Barlow, S.M. 1990. Toxicological Aspects of Antioxidants Used as FoodAdditives. I. Food Antioxidants. New York: Elsevier. pp. 253-307
- Becker, E. W., 2004. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Richmond, A. (Ed). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Publishing Ltd: 380-291
- Ben Rebah, F., Abdelmouleh, A., Kammoun, W., And Yezza. A.,2010. Seasonal variation of lipid content and fatty acid composition of *Sardinella aurita* from the Tunisian coast. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2010, 90(3), 569–573.
- Berns, D.S., Maccoll, R., 1989. Phycocyanin in physical–chemical studies, Chem. Rev. 89

- Bilandžić, N., Maja Đokić, S., Abožić, D., Vrbić, A., 2015. Content of macro- and microelements and evaluation of the intake of different dairy products consumed in Croatia journal of food composition and analysis volume 40, June 2015. pages 143-147
- Bjeldanes, L.F., Schutz, De And., Morris, M. On the aetiology of scombroid poisoning: Cadaverine potentiation of histamine toxicity in the guinea-pig. Food Cosmetol. Toxicol. 1978; 16: 157-159.
- Bligh, E.C. ve Dyer, W.J. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian journal of biochemistry and physiology, 37:913–917.
- Brejc, K., Ficner, R., Huber, R., Steinbacher, S., 1995 Isolation, crystallization, crystal structure analysis and refinement of allophycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina platensis* at 2.3 Å resolution, J. Mol. Biol. 249 (1995) 424–440.
- Buamard, N., Benjakul, S (2015) Improvement of gel properties of sardine (*Sardinella albella*) surimi using coconut husk extracts Food Hydrocolloids 51 (2015) 146e155
- Calanche, S., Samayoa, V., Alonso, L., Provincial, P., Roncalés, J.A., 2013. Assessing the effectiveness of a cold chain for fresh fish salmon (*Salmosalar*) and sardine (*Sardina pilchardus*) in a food processing plant Food Control 33 (2013) 126-135
- Campos, C. A., Rodríguez, Ó., Losada, V., Aubourg, S. P., & Barros-Velázquez, J. (2005). Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). International Journal of Food Microbiology, 103(2), 121–130
- Carocho, M., Ferreira, I.C.F.R., 2012. review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Food and Chemical Toxicology 51 (2013) 15–25

- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 99(1), 83–91.
- Chandini, S.K., Ganesan, P., Suresh, P.V., & Bhaskar, N. 2008. Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds-a review. *Journal of Food Science and Technology*, 45(1): 1-13.
- Chandrasekar,V.,Belur,P,D., Regupathi,I (2016) Effect of hydroxybenzoic acids antioxidants on the oxidative stability of sardine oil *Resource-Efficient Technologies 2* (2016) S114–S118
- Chen, F., Y. Zhang., And S. Guo., 1996. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. *Biotechnol. Lett.*, 18: 603-608
- Choulara, I., Savvaıdıs, I.N., Panagiotakı, N., Kontominas, M.G. 2004. Preservation of Salted, Vacuum-Packaged, Refrigerated Sea Bream (*Sparus Aurata*) Fillets by Irradiation: Microbiological, Chemical And Sensory Attributes. *Food Microbiology*, 21,351–359.
- Cirik, S., & Gökpmar. Ş., 2008. Plankton Bilgisi ve Kùltürü. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakùltesi Yayınları No:47, Ders Kitabı Dizin No: 19, Bornova, İzmir
- Cirik, S., 2011. Su Bitkileri I (Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirime Teknikleri). Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakùltesi Yayınları No:58, Ders Kitabı Dizin No.26, Bornova, İzmir.
- Clemens M, Waller. Hd., 1987: Lipid oxidation In Erythrocytes. *Chem Phys Lipids* 45: 251, 1987.
- Connell, J., 1995. Control of Fish Quality. 4th ed. Fishing News Books Limited, London, UK .
- Cornelli, U.,2009. Antioxidant Use İn Nutraceuticals. *Clin Dermatol* 2009; 27: 175–94.

- Çağlak E., Erdem M. E., ve Kaya Y. (2005) Deniz Alglerinin İnsan Besini Olarak Değerlendirilmesi. 1. Alg Sempozyumu
- Çaklı,Ş.,Tokur,B.,Çelik,U.,Taşkaya,L.,2013 No-Frost Koşullarda Depolanan Sardalya Balıklarının (*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)) Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Değerlendirilmesi E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2003 E.U. Journal of Fisheries & Aquatic E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2003 E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences 2003 Cilt/Volume 20, Sayı/Issue (1-2): 87 – 93
- Dalay M.C., Cirik S., Koru E., 2001. Türkiye Ege Bölgesi İklim Koşullarında Açık Hava Kültürleri İçin Uygun *Spirulina platensis* (Stiz.) Geitl, 1930 Suşunun Tespiti. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi 18(3-4): s523-528
- Dalay, M.C., İmamoğlu, E., Öncel, S., 2008. Mikroalgal Biyokütle Üretimi için Düşük Maliyetli Fotobiyoreaktör Tasarımı. TÜBİTAK MAG Proje 104M354, 2008: s1-102 Dalı Doktora Tezi, İzmir, 120s.
- Davood, Zare., Ghazali H.M.,217. Assessing the quality of sardine based on biogenic amines using a fuzzy logic model. Food Chemistry 221 (2017) 936–943
- Decker, E.A., Warner, K., Richards, M.P., Shahidi, F., 2005. Measuring Antioxidant Effectiveness in Food. Journal of Agricultural and FoodChemistry, 53: 4303-10 Dekker Inc., New York.
- Dr .Haresh., Kantilal K., 2016. chlorella – the most exciting nutritional discovery on planet earth book Published by , 2016-02-18 01:33:03
- Dural, B., 1989. Taxonomic investigation of the order Ulvales in Çandarlı Bay II. Ulvaceae A) *Ulva*, L., species, Doğa Turkish Journal of Botany, 13, 474-486, 1989

- Durmaz, Y., Işık, O., Bandarra, N.M., Cirik, S., Turan, G., & Gökpınar, Ş.,2002. *Porphyridium cruentum* (Rhodophyceae) yağ asitleri kompozisyonuna kurutma yöntemlerinin etkisi.
- Durmuş ., 2010. Farklı Mevsimlerde Avlanan Sardalya (*Sardinella Aurita Valenciennes, 1847*)’nın 4 Oc’ De Vakum Paketli Olarak Depolanmasında Oluşan Duyusal, Kimyasal Ve Mikrobiyolojik Değişimler Tez Yüksek Lisan Tezi
- Edwards, M.R., Hauer, C., Stack, R.F. Eisele, L.E., Maccoll, R.,1997. Thermophilic C-phycoyanin: effect of temperature, monomer stability, and structure, *Biochim. Biophys. Acta* 1321 (1997)157–164.
- Edwards, M.R., Maccoll, R., Eisele, L.E.,1996. Some physical properties of an unusual C-phycoyanin isolated from a photosynthetic thermophile, *Biochim. Biophys. Acta* 1276 (1996) 64–70.
- El Marrakchi, A.E., Bennour, M., Bouchritı, N., Hamama, A. Tagafatit, H.,1990. Sensory, Chemical and Microbiological Assessments of Moroccan Sardines (*Sardina Pilchardus*) Stored in İce. *Journal of Food Protection*, 53, 600–605.
- El-Sheekh, M. M., Osman, M. E. H., Dyab, M. A. and Amer, M. S., (2006). Production and characterization of antimicrobial active substance from the Cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(1), 42–50.
- Erdem, Z., Çelik, M., 2003, Su ürünleri yağlarının yapısı ve insan sağlığı açısından önemi 1. Bölgesel Öğrenci Semp., (17-18 Nisan, 2003) Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 99-103, Adana.
- Eriksen, N.T., (2008). Production of phycoyanin – a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80:1-14. doi: 10.1007/s00253-008-1542-y

- Erkan, N., Ozkan,Ö.,(2008). Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice International Journal of Food Science and Technology 2008, 43,1549–1559
- Estrada, J.E.; Bescós, P.; Villar Del Fresno, A.M. (2001), Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco*, 56, 497-500.
- FDA, 2012. <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFisheriesProductsHazardsandControlsGuideUCM252448.Pdf>
- Fedkovic, Y., Astre, C., Pinguet, F., Gerber, M., Ychou, M., And Pujol, H., 1993. Spiruline et cancer. In: Doumenge, F., DurandChastel, H., Toulemon, A., eds. Spiruline algue de vie. Musée Océanographique. Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco. Numéro spécial 12:117-120.
- Fimbres-Olivarría, D., López-Elías, A., J., Carvajal-Millán, E., Márquez Escalant, H., A., Martínez-Córdova, L., Miranda-Baez, A., Fernando Enríquez-Ocaña, F., Valdéz-Holguín, J.E., Brown-Bojórquez, F. (2016) *Navicula* sp. Sulfated Polysaccharide Gels Induced by Fe(III): Rheology and Microstructure. International Journal of Molecular Sciences 2016, 17, 1238
- Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M. L., 1987. Fiches FAO d'identification des Espèces pour les besoins de la Pêche: Mediterranean and Black Sea (Fishing Area 37). II Vertebrates). FAO, Rome, pp. 761-1530 Food Science, 62, 40–42.
- Fleita D., El-Sayed M., Rifaat D. Evaluation of the Antioxidant Activity of Enzymatically-Hydrolyzed Sulfated Polysaccharides Extracted from Red Algae; *Pterocladia Capillacea*. LWT—Food Sci. Technol. 2015;63:1236–1244. doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.024

- Foo,S,C., Yusoff, F ., Ismail, M., Basri, Ma, Yaua, S, K., Khonga, N., Chana,K.,i Ebrahim,M .(2017) Antioxidant capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents Journal of Biotechnology 241 (2017) 175–183
- Fox, D.R., 1996. Spirulina: Production and Potential, 232 p., Edisud-France
- Frankel ,E1998. Lipid oxidation. Dundee, Scotland;The Oil Press. 300 Functional and antioxidant properties of hydrolysates of sardine (*S. pilchardus*) and horse mackerel (*T. mediterraneus*) for the microencapsulation of fish oil by spray-drying . Food Chemistry 194 (2016) 1208–1216
- Glazer, A., 1999. Phycobiliproteins. In: Chemicals from Microalgae, Z. Cohen (Ed.), Taylor and Franchis Ltd., Philadelphia, PA, pp. 261-276.
- Glombitza, K. W. and M. Koch (1989) Secondary metabolites of pharmaceutical potential. pp. 161–238. In: R. C. Cresswell, T. A. V. Rees, and H. Shah (eds.).Algal and Cyanobacterial Biotechnology. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK.
- Gordon, M.H. 2001. Measuring Antioxidant Activity Practical Application. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. P73-84
- Gotoh, N., Wada, S., 2006. The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. J. Am. Oil Chem. Soc. 83: 473-474
- Gökalp, H., Kaya, M., Zorba, Ö., 2002. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:320, s:137 Erzurum.
- Gökoğlu, N. ,2002. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Su Vakfı Yayınları, İstanbul. ISBN: 975-9703-48-3. 157 s.
- Gökoğlu, N., Varlık, C., 1995. Sardalya Konservelerinin Histamin Biyojen Amini Yönünden İncelenmesi. 1995; Gıda: (5): 273-279.
- Gökoğlu, N., Yerlikaya, P., 2004. Use of Eye Fluid Refractive Index in Sardine (*Sardina Pilchardus*) as a Freshness Indicator. European Food Research Technology, 218,295–297.

- Gökpınar, Ş., Göksan, T., & Durmaz, Y. (2001). Pufa kaynağı olarak mikroalgler, XI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Hatay, 4-6 Eylül, Cilt II, s. 779-785.
- Göktan, D.1990. Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi, cilt 1, Et Mikrobiyolojisi, Ege Üniv. Basımevi, Mühendislik Fakültesi Yayınları, No:21, İzmir, 61-66 s
- Gracey, J., Collins, D., Huey, R., 1999. Meat hygiene, 10th edn. Saunders, Philadelphia, PA, p 407
- Guiry, M. D., In Guiry, M.D., & Guiry, G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; (November, 2015).
- Günaydın, B., Çelebi H. 2003. Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller Ve Antioksidanlarla İlişkileri. Anestezi Dergisi 2003; 11: 87-98
- Güner, H., Aysel, V., 1989. Tohumuz bitkiler sistematigi, Cilt.i. E.Ü. Fen Fak.
- Gür, E., Altug, T., (Ed)., 2001. Antioksidanlar. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, İzmir, 2001; 17-30.
- Habashy, N.H., Serie, M. M.A., W.E., Attia, W.E., Abdelgaleil, S. A.M., 2018. Chemical characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of Greek Thymus vulgaris extracts and their possible synergism with Egyptian Chlorella vulgaris Journal of Functional Foods 40 (2018) 317–328
- Haddar A, Sellimi, S., Ghannouchi S., Alvarez, M.O., Nasri, M., Bougatef, A. (2012) Functional, antioxidant and film-forming properties of tuna-skin gelatin with a brown algae extract International Journal of Biological Macromolecules 51 (2012) 477–483
- Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., And Holzapfel, W., 1994. Biogenic Amines and Their Production by Microorganisms In Food, Trends in Food Science and Technology. 1994; 5: 42-49.

- Hall, Iii, C., 2001. Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. *Antioxidants in Food, Practical Applications*, Pokorny,J., Yanislhlieva, N., and Gordon,M., (eds), pp. 169-219, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- Halliwell, B., Murcia, Ma., Chirico, S., Aruoma, OI., 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 35:7
- Harpaz S., Glatman L., Drabkin V., Gelman A., 2003 Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-treated Asian Sea bass fish (*Lates calcarifer*), *Journal of Food Protection* 66 (3), pp. 410–417
- Hasegawa,T., Okuda,M ., Makino,M., Hiromatsu,K., Kikuo N., Yoshikai,Y (1995) .Hot Water Extracts Of *Chlorelu Vulgaris* Reduce Opportunistic Infection With *Listeria Monocytogenes* In C57blk-5 Mice Infected With Lp-Bay5 Murine Leukemia Viruses *Inl. J. Immunopharmac.*, Vol. 17, No. 6, pp. 505-512, 1995
- HMSO, 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease: Report on health and social subjects. Committee of Medical Aspects of Food Policy, 46; Department of Health, London, UK.
- Hussain, M.M. Ve Uddin, M.H. 1995. Quality control and marketing of fish and fish products: needs for infrastructure and legal support, National workshop on fisheries resources development and management in Bangladesh-Bay of Bengal Programme, FAO, p. 9
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K. ve Nakayama, T. 1996. “An Improved Method for Rapid Analysis of the Fatty Acids of Glycerolipids. *Lipids*, 31:535–539.
- ICMSF, 1986. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Societies. *Microorganisms in Foods*, 181–196.

- Jayasinghe, P.S. Ve Rajakaruna, R.M.A.G.G., 2005 Bacterial contamination of fish sold in fish markets in the central province of Sri Lanka J. Natn.Sci.Foundation Sri Lanka 2005-33(3):155-156
- Jenkinson, A. M., Collins, A. R., Duthie, S. J., Wahle, K. W. J., & Duthie, G. G.,1999. The effect of increased intakes of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on DNA damage in human lymphocytes. The FASEB Journal, 13(15), 2138–2142.
- Jensen A (1978), “Chlorophylls and Carotenoids. In: Hellebust A and J S Cragie (eds) Handbook of Phytological methods”,Cambridge Univ press, London, pp. 59-70.
- Josse, R., 1987, Food oxidation and its prevention with the use of naturel antioxidants, The First International Symposium on Food Industry “Food Additives”, 363-382.
- Karpinska, M ., Borovvski, J. And Danovvska-Oz1evv1cz, M. 2001. The use of naturel antioxidants in ready to serve foods. Food Chemistry. 72, 5-9.
- Kenar,M.,2009. Aromatik Bitkilerden Elde Edilen Doğal Antioksidanların Balık Filetosu Üzerindeki Duyusal, Kimyasal Ve Mikrobiyolojik Etkilerinin İncelenmesi Yüksek Lisan Tezi
- Keskin, H., Erkmen, G., 1987. Besin Kimyası, Guryay Matbaacılık,. Beşinci Basım, İstanbul,
- Kılınc, B., Cakli, S., 2004. Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (Sardina pilchardus) during marination,Food Chemistry 88 (2004) 275–280
- Kılınc .B., 2003. Sardalya Balığından (Sardina Pilchardus W., 1792) Marinat Üretimi Ve Raf Ömrü Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tez Kitaplar Serisi 108, 245 S.
- Kolsarıcı,N., Özkaya Ö., 1996. Gökkusadı Alabalığı (Salmo gairdneri)’nın Raf Ömrü Üzerine Tütsüleme Yöntemleri ve Depolama Sıcaklığının Etkisi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sicences 22 (1998) 273-284

- Koning, A.J. And Mol T.H., 1991. Quantitative quality tests for frozen fish: Soluble protein and free fatty acid content as quality criteria for hake (*Merluccius capensis*) stored at -18°C . *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 54, Issue 3, pages 449–458.
- Konishi, F., Mitsuyama, M., Okuda, M., Tanaka, K., Hasegawa, T., & Nomoto, K., 1996. Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* against myelosuppression by 5-fluorouracil. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 42(5), 268–274.
- Kuleya, E., Durmus ,M., Ucar, Y., Kosker,A.R., Tumerkan, E. T.A., Regenstein, J.M., Ozogul, F., 2018. Combined effects of plant and cell-free extracts of lactic acid bacteria on biogenic amines and bacterial load of fermented sardine stored at $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$. *Food Bioscience* 24 (2018) 127–136
- Ludorff, W., ve Meyer, V., 1973, *Fische und Fischerzeugnisse*, Paul Parey Verlag,95-111,176-269
- Macartain, P., Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R., Rowland, I.R., 2007. Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutrition Reviews*, 65(12) :535–543.
- Machu , L., Ladislava Misurcova., L, Ambrozova .,J,V., Jana,O., Mlcek,J., Sochor ,J., Jurikova,T. 2015 *Molecules* **2015**, 20, 1118-1133
- Madigan, T.M., Martinko, J. M., Stahl, D. A., Clark, D. P., 2012 .*Brock biology of microorganisms*. Thirteen edition.
- Maf (Ministry of Agricultural and Forestry).,2011. Guidance for the Control of *Listeria monocytogenes* in Ready –To-Eat Foods. Part:1 *Listeria management*. MAF Information Bureau, Wellington markets in the central province of Sri Lanka, *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka*, 33(3):219-221.
- Martin, E. R., Gray, R.J.H., And Pierson, M.D., 1978. Quality Assessment of Fresh Fish and The Role of the Naturally Occurring Microflora. *Food Technology*, 188-192.

- Martin, R.E., Rodney ,J.H., Pierson, M.D.,1978. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. *Food Technology*, 188-192
- Meinesz, A., 2010. Yaşam Nasıl Başladı – Evrimin Üç Kökeni. Ankara, Odtü Yayıncılık.
- Mendes de Leon CF, Beckett LA, Fillenbaum GG, Brock DB, Branch LG, Evans DA, et al. Black-white differences in risk of becoming disabled and recovering from disability in old age: A longitudinal analysis of two EPESE populations. *American Journal of Epidemiology*. 1997;145:488–497.
- Mendes, R., Pestana, C. And G, Amparo., 2008. The Effects of Soluble Gas Stabilisation on The Quality of Packed Sardine Fillets (*Sardina Pilchardus*) Stored in Air, Vp and Map. *International Journal of Food Science and Technology* 43: 2000–2009.
- Mendiola, J. A., Jaime, L., Santoyo, S., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibañez, E., and Señoráns, F. J., (2007). Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chem.*, 102,1357–1367.
- Morris, H. J., Carrillo, O.,Almarales, A., Bermudez, R. C., Lebeque, Y., Fontaine, R., Llaurodo, G., Beltran, Y.,2007. Immunostimulant activity o fan enzymatic protein hydrolysate from green microalga *Chlorella vulgaris* on undernourished mice. *Enzyme Microb. Technol.* . 40, 456–460.
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, J.D., Et Al., 2000. Natural Antioxidants From Residual Sources. *Food Chem* 2000; 172: 145–71
- Nawar ,W.W., 1985. Lipids. *Food Chemistry*, OR Fennema (ed), pp. 139-244,
- Nawar ,W.W., 1996. Lipids. In: Fennema OR, editor. *Food chemistry*, 3rd ed. New Yorkp 225-319.
- Ndaw, A., Zinedine, A., Faid, M., & Bouseta, A., 2007. Assessment of histamine formation during fermentation of sardine (*Sardina pilchardus*) with lactic acid bacteria. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2(2), 42–48.

- Negasi, T., Michael, W., Abraha, B., Solomon, K., Irene, W., 2018 . Physicochemical and microbiological characteristics of fresh Indian mackerel, spotted sardine and yellowtail scad, from Eritrea Red Sea waters *Journal of Food Composition and Analysis* 70 (2018) 98–104
- Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., Exon, J.H.A., 2006. Review Of The Effects And Mechanisms Of Polyphenolics In Cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2006; 46: 161-183.
- Njinkoué, J.-M., Barnathan, G., Miralles, J., Gaydou, E.-M., & Samb, A. (2002). Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(3), 395–402.
- Nollet, L.M.L. Ve Toldrá, F., 2010. Handbook of seafood and seafood product analysis CRC Press. Taylor& Francies Group. Boca Raton. New York.
- Nunes, M.L., Batista, I., & Morao De C. R., 1992. Physical, chemical and sensory analysis of Sardine (*Sardine pilchardus*) stored in ice. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 59: 37–43.
- Ohshima, T., Wada, S., And Koizumi, C., 1984. Effect of accumulated free fatty acid on reduction of salt soluble protein of cod flesh during frozen storage, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50:1567–1572.
- Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P. Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I. M., Henahan, G., Nielsen, J., Nilsen, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry, *Trends in Food Science and Technology*, 8: 258-265.
- Özbay, T., Ayas D., 2011. Dondurarak Depolanın Sardalya (*Sardinella aurita*, Valenciennes, 1847) Filetolarının Raf Ömrü Üzerine Kitosan ve Asetik Asit Uygulamalarının Etkileri. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 7(2): 11-22 (2011).

- Özdemir, N., & Erkmen, J., 2013. Yenilenebilir biyoplastik üretiminde alglerin kullanımı. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 3(8): 89-104
- Özden, Ö., Gökoğlu, N., 1996. Soğukta saklanan sardalya balığının *Sardina pilchardus* (W. 1792) raf ömrünün belirlenmesi. Gıda Teknolojisi, 1, 6, 37-42.
- Özdekan, Ö., Üren, A., 2012. Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi. 12: 32-40.
- Özogul, F., Özogul, Y., 2006. Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging Food Chemistry 99 (2006) 574–578
- Özoğul, F., Polat, A., Özoğul, Y., 2004. The Effects of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging on Chemical, Sensory and Microbiological Changes of Sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry, 85, 49–57.
- Özoğul, F., Taylor K.D.A., Quantick, P., ve Özoğul, Y. 2002b. Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. Journal of Food Science, 67:2497-2501.
- Özyurt, G., Kuley, E., Balıkcı, E., Kaçar, Ç., Gökdoğan, S., Etyemez, M., & Özogul, F. (2011). Effect of the Icing with Rosemary Extract on the Oxidative Stability and Biogenic Amine Formation in Sardine (*Sardinella aurita*) During Chilled Storage. Food and Bioprocess Technology, 5(7), 2777–2786
- Palanisamy S., Vinosha M., Marudhupandi T., Rajasekar P., Prabhu N, M (2017) Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* Brown algae Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity Int.J.Biol.Macromol, 2017.Sep;102:405-412

- Pandian Vijayabaskar, P., Vaseela, N., Thirumaran, G.,(2012) Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii* Chinese Journal of Natural Medicines 2012, 10(6): 0421–0428
- Pang, Q.S., Guo, B.J., Ruan, J.H.,1998. Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*, I Chuan Hsueh Pao 15 (1998) 374–381
- Perera, C.O., Yen, G.M., 2007. Functional Properties Of Carotenoids In Human Health. International Journal of Food Properties 2007; 10: 201-230.
- Pigott, G.M., ve Tucker, B.W. 1990. Seafood effects of technology on nutrition. Marcel Dekker, Inc. New York
- Pokorny, J.,Korcak.J.,2001. Preparation of Natural Antioxidants Antioxidants in Food: Practical Application. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. pp. 311-41.
- Priyadarshani, I., Rath, B. 2012. Commercial and industrial applications of micro algae –A Review, J. Algal Biomass Utln., 3 (4): 89–100
- Qutral, V. , Donoso, M. L. , Ortiz J., Herrera M. V., Araya H.S ., Aubourg P., 2009. Chemical changes during the chilled storage of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*) Effect of a plant-extract icing system Food Science and Technology 42 145014
- Qureshi, M.A., Garlich, J.D., Kidd, M.T.,1996. Dietary *Spirulina platensis* enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens, Immunopharmacol. Immunotoxicol. 18 (1996) 465– 476.
- Qureshi, M.A., Ali, R.A.,1996. *Spirulina platensis* exposure enhances macrophage phagocytic function in cats, Immunopharmacol. Immunotoxicol. 18 (1996) 457–463.
- Qureshi, M.A., Kidd, M.T., Ali, R.A.,1995. *Spirulina platensis* extract enhances chicken macrophage functions after in vitro exposure, J. Nutritional Immunol. 3 (1995) 35–45.

- Ramalhosa, M.J., Paiga, P., Morais, S., Alves, M.R., Delerue-Matos, C., Oliveira, M.B.P.P., 2011. Lipid content of frozen fish: Comparison of different extraction methods and variability during freezing storage. *Food Chemistry* 131 (2012) 328–336
- Rice-Avans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M. And Pridham, J.B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenol flavonoids. *Free Radical Research*, 22 (4): 375-383.
- Rodriguez-Garcia I, Guil-Guerrero JL. (2008) Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chem.* 108: 1023-1026
- Rodriguez-Garcia, I., & Guil-Guerrero, J. L. (2008). Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chemistry*, 108(3), 1023–1026.
- Romay, C., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D., & Rimbau, V. (2003). C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein & Peptide Science*, 4(3), 207–216
- Saldanha, T., Benassi, M. T., & Bragagnolo, N. (2008). Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling. *LWT - Food Science and Technology*, 41(7), 1301–1309
- Sandstrom, P.A., Murray, J., Folks, T.M., Diamond, A.M., 1998. Antioxidant defenses influence HIV-1 replication and associated cytopathic effects. *Free Radical Biol. Medicine* 24, 1485-1491.
- Sarkardei, S and Howell, NK (2008) Effect of natural antioxidants on stored freeze-dried food product formulated using horse mackerel (*Trachurus trachurus*) international journal of food science and technology, 43 (2). pp. 309-315.

- Serdaroğlu, M., Deniz, E. E., 2001. Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. *Ege J Fish Aqua Sci*, 18 (3-4): 575-581.
- Sheng, J., Yu, F., Zhihong, X., Zhao, L., Zhu, X., Hu, Q., 2007. Preparation, identification and their antitumor activities in vitro of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa*. *Food Chem.* 2007.105, 533–539.
- Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. 2001. Introducing Natural Antioxidants. In: Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M, editors. *Antioxidants in food: practical application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. pp.147-58.
- Stal, L., 2002. Cyanobacterial Mats and Stromatolites..Eds: Whitton, B.A., Potts, M., in: *The Ecology of Cyanobacteria: Diversity in time and space*. Springer, Netherlands, Dordrecht. doi: 10.1007/0-306-46855-7_4
- Stamatis, N., And Arkoudeios, J. S., 2007. Effect of Modified Atmosphere and Vacuum Packaging on Microbial, Chemical and Sensory Quality Indicators of Fresh, Filleted *Sardina Pilchardus* at 3 oC. *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric.*, 87:1164–1171
- Sudha, S., Karthic, R. Rengaramanujam, J., (2011) .Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* and *Aphanothece* sp. on selected clinical bacterial isolates and its Antioxidant activity *South As. J. Biol. Sci.* 1(2)2011:87 – 98.
- Szalontai, B., Gombos, Z., Csizmadia, L., Bagyinka, M., Structure and interactions of phycocyanobilin chromophores in phycocyanin and allophycocyanin from an analysis of their resonance Raman spectra, *Biochemistry* 33 (1994) 11823–11832.
- Şen, E.B., Çaklı, Ş., & Kılınç, B., (2017). Changes on quality parameters of surimi and surimi gels produced from frozen whiting and sardine. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(1): 81-91. doi:10.12714/egejfas.2017.34.1.12

- Tanaka, K., Yamada, A., Noda, K., Hasegawa, T., Okuda, M., Shoyama, Y., Nomoto, K., (1998). A novel glycoprotein obtained from *Chlorella vulgaris* strain CK22 shows antimetastatic immunopotentiality. *Cancer Immunol. Immunother.*, 45 (6): 313–320.
- Taner, G., 2005. Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma, *Bilim Teknik*, Ağustos 113: 453.
- Tarladgis, B., Watts, B.M. & Yonathan, M. 1960. Distillation method for determination of malonaldehyde in rancid food. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 37: 44–48.
- Tatar, O., 1995. Balığın gıda değeri ve su ürünleri açısından önemi. *Su Ürünleri Dergisi*. Cilt No: 12, -Sayı: 1-2 169-170.
- Taylor, Sl., 1985 Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. *World Health Organization*. 1985; WPH/FOS/85: 11, I-47.
- Tekinşen, C., 2000. Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. *Ege J Fish Aqua Sci*, 18 (3-4): 575-581
- Tseng, C.K., 1981. Commercial cultivation [Algae]. In: *Botanical monographs (USA)*, C.S. Lobban, M.J. Wyne (Ed.), Blackwell Science Publication, pp. 680-725.
- Uma, R., Sivasubramanian, U., S. Devaraj, N. 2011 Preliminary phytochemical analysis and in vitro antibacterial screening of green micro algae, *Desmococcus Olivaceus*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris* *J. Algal Biomass Utiln.* 2011, 2 (3): 74– 81
- Upasani, C. D., Balaraman, R., 2003. Protective effect of *Spirulina* on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytother. Res.* 2003. 17, 330-334.
- USDA. 2012. http://www.fsis.usda.gov/factsheets/salmonella_questions_&_answers/ (United States Department of Agriculture)

- Ünal, G., 1995. Gökkuşığı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* W.) Tütsülenmesi ve Bazı Kalite Kriterlerinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma, Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri. Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi. Anabilim
- Ünlüsayın, M., Erdilal, R., 2008. Taze su ürünleri için tekstür profil analizi e- Journal of New World Sciences Academy2008, ISSN:1306-3111
- Vareltzis, K., Koufidis , E., Papavergou E., Vasiliadou S., 1997. Effectiveness of natural rosemary (*Rosmarinus offi cinalis*) extract on the stability offilleted and minced fish during frozen storage. *Z Lebensm Unters Fors ch A*, 205: 93-96.
- Varlık, C., 1994. Soğukta depolanan sardalyalarda histamin düzeyinin belirlenmesi. *Gıda Teknolojisi*, 19, 2, 119- 124.
- Vijayavel, K., Anbuselvam, C., Balasubramanian, M. P.,2007. Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene- induced oxidative stress in the albino rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2007. 303, 39–44.
- Wanasundara, U.N. , And Shahidi, F., 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, Vol. 63, No. 3, pp. 335-342.
- Yeannes, M.I., Almando M.E., 2003. Estimation of fish proximate composition starting from water content *Journal of Food Composition and Analysis*, 16, 81–92.
- Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar Ve Oksidatif Stres. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2010. 17(2); 143 – 153.
- Yücecan, S., Baykan, S.,1981. *Food Chemistry, Food control and Analyses* (in Turkish), M.E.B. Temel Ders Kitabı, Yayın No:5, s.51-53, İstanbul.
- Zaid,A.A.A.,Hammad,M.D., Sharaf ,M (20015) Antioxidant and Anticancer Activity of *Spirulina platensis* Water Extracts *International Journal of Pharmacology* 11 (7): 846-851, 2015 ISSN 1811-7775

- Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hou, Y., Zhang, Q (2010) Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro *Carbohydrate Polymers* 82 (2010) 118–121
- Zlatanos, S., & Laskaridis, K., (2007). Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish—sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 103, 725–728.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Adana Saimbeyli ilçesinde doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi mezun oldu. 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme teknolojisi Ana Bilim Dalında doktora eğitimine başladı.

