

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İlyas ÖZOĞUL**

**MERSİN BİTKİSİ (*Myrtus communis* L.) VE DEFNE (*Laurus nobilis* L.)'  
DEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN YILAN BALIĞI (*Anguilla anguilla* L.,  
1758) FİLETOLARININ SOĞUK DEPOLAMA (4°C) SÜRESİNCE DUYUSAL,  
KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

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

**ADANA, 2012**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MERSİN BİTKİSİ (*Myrtus communis* L.) VE DEFNE (*Laurus nobilis* L.)' DEN  
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN YILAN BALIĞI (*Anguilla anguilla* L., 1758)  
FİLETOLARININ SOĞUK DEPOLAMA (4°C) SÜRESİNCE DUYUSAL,  
KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**İlyas ÖZOĞUL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

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

Bu Tez 04/01/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof. Dr. Abdurrahman POLAT  
DANIŞMAN

.....  
Doç. Dr. Bahar KARAKAYA  
ÜYE

.....  
Doç. Dr. İsmail AKYOL  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.  
**Kod No:**

**Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No: SUF2011YL6**

**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

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN BİTKİSİ (*Myrtus communis* L.) VE DEFNE (*Laurus nobilis* L.)' DEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN YILAN BALIĞI (*Anguilla anguilla* L., 1758) FİLETOLARININ SOĞUK DEPOLAMA (4°C) SÜRESİNCE DUYUSAL, KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**İlyas ÖZOĞUL**

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

Danışman: Prof. Dr. Abdurrahman POLAT

Yıl : 2012, Sayfa 86

Jüri : Prof. Dr. Abdurrahman POLAT

: Doç.Dr. Bahar KARAKAYA

: Doç.Dr. İsmail AKYOL

Bu araştırmada Mersin bitkisi (*Myrtus communis*) ve defne' (*Laurus nobilis*) den solvent ekstraksiyon yöntemi ile doğal antioksidan elde edilmiştir. Elde edilen doğal antioksidanların, vakum paketlenen yılan balığı (*Anguilla anguilla*) filetolarının 4°C'de depolanması süresince duyusal, kimyasal (TVB-N, TBA, PV, FFA, pH ve yağ asitleri) ve mikrobiyolojik (TAMB, TAPB ve koliform bakteri sayımı) kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yılan balığı filetosunun raf ömrü kontrol grubunda 12 gün, defne ve mersin ile muamele edilen gruplarda ise sırasıyla 16 ve 20 gün olarak bulunmuştur. Bitki ekstraktı uygulaması TVB-N değerinde önemli düşümlere yol açmıştır (p<005). TBA değeri depolama süresince tüm gruplarda 1.5 mg MA/kg'ın altında kalmıştır. Defne ekstraktının balık etindeki TBA değerini arttırdığı, mersin bitki ekstraktının ise lipit oksidasyonunu önemli düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir. Peroksit sayısı tüm gruplarda 8 meq/kg'ın altında kalmıştır. Başlangıç FFA değeri 0.44 (% oleik asit) olup, maksimum FFA sayısı depolama sonunda kontrol grubu için gözlenmiştir (2.03). Başta mersin bitkisi ekstraktı olmak üzere kullanılan ekstraktlar bakteri gelişimini önemli düzeyde azaltmış (p<0.05) olup, 7 log kob/ g olarak önerilen mikrobiyolojik limite hiçbir muamele grubunda ulaşamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Avrupa yılan balığı, mersin bitkisi, defne, antioksidan

## ABSTRACT

### MSc THESIS

**THE EFFECT OF MYRTLE (*Myrtus communis* L.) AND LAUREL  
(*Laurus nobilis* L.) EXTRACT ON SENSORY, CHEMICAL AND  
MICROBIOLOGICAL QUALITY OF EUROPEAN EEL (*Anguilla anguilla* L.,  
1758) FILLETS DURING REFRIGERATED STORAGE**

**İlyas ÖZÖĞÜL**

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

Supervisor :Prof. Dr. Abdurrahman POLAT  
:Year : 2012, Page 86  
Jury : Prof. Dr. Abdurrahman POLAT  
: Assoc. Prof.Dr. Bahar KARAKAYA  
: Assoc. Prof.Dr. İsmail AKYOL

In this study, natural antioxidants from myrtle (*Myrtus communis*) and laurel (*Laurus nobilis*) were produced using solvent extraction method. The effect of the natural antioxidant on sensory, chemical (TVB-N, TBA, PV, FFA, pH and fatty acids) and microbiological (TVC and total coliform count) changes of vacuum packaged eel fillets stored at 4°C for were investigated. The extract used resulted in significant reduction on TVB-N value ( $p<0.05$ ). TBA value in fish fillets remained below 1.5 mg MA/kg for all group during storage periods. Laurel extract increased TBA value of fish fillets, whilst myrtle extract inhibited lipid oxidation of eel during storage. Peroxide value was below 8 meq/kg for all group. Initial FFA value was 0.44 (% oleic acid) and reached maximum level for control (2.03) at the end of the storage. The extract used mainly myrtle significantly reduced bacterial growth of fish fillets ( $p<0.05$ ). The microbiological limit of 7 log cfu/g did not exceed in treated groups.

**Key Words:** European eel, myrtle, laurel, antioxidant

## TEŞEKKÜR

Tez alıőmam boyunca geniş bilgi birikimi ve deneyimiyle bana ışık tutan danışman hocam Prof. Dr. Abdurrahman POLAT'a, çalıőmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Fatih Özoğul, Doç. Dr. Yeőim ÖZOĞUL, Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA, Arş. Gör. Ayőe ŐİMŐEK, Arş. Gör. Yılmaz UÇAR, Biyolog Ali KÖŐKER'e, materyal temininde yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Deniz AYAS, Doktora Öğrencisi Mehmet KENAR, Doktora öğrencisi Esra BALIKÇI, Yüksek Su Ürünleri Mühendisi Saadet GÖKDOĞAN, Yüksek Lisans Öğrencisi iğdem KAAR, Yüksek Lisans Öğrencisi Selma ATAŐ'a ve diğer laboratuvar arkadaşlarıma, tezin yürütölmesi sırasındaki aőamalarda yardımlarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Faköltesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,

Maddi ve manevi desteğiyle bana her zaman yardımcı olan tez çalıőmam sırasında her türlü desteği esirgemeyen ablam Feriha ÖZOĞUL ve eői Ali ÖZOĞUL'a çalıőmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Nejlet ÖZOĞUL' a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
RESİMLER DİZİNİ.....	XI
KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII
1.GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Antioksidanlar.....	5
2.1.1. Antioksidanların Etki mekanizmaları.....	5
2.1.2. Sentetik ve Doğal Antioksidanlar.....	6
2.2. Aromatik Bitkiler.....	7
2.2.1. Antioksidan Kaynağı Aromatik Bitkiler.....	8
2.2.1.1. Mersin Bitkisi.....	8
2.2.1.2. Defne.....	10
2.3. Antioksidanlar ile İlgili Çalışmalar.....	12
2.4. Balık Kalitesi ile İlgili Çalışmalar.....	17
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.1.1. Aromatik Bitkiler.....	21
3.1.2. Balık.....	21
3.2. Metotlar.....	22
3.2.1. Su Buharı Distilasyonu.....	22
3.2.2. Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi Analizleri.....	23
3.2.3 Bitkilerden Doğal Antioksidan Ekstraksiyonu.....	24
3.2.4. Balığa Antioksidan Uygulanması, Depolama Koşulları....	25
3.2.5. Besin Değerleri Analizi.....	26

3.2.5.1. Toplam Protein Analizi.....	26
3.2.5.2.Lipit Analizi.....	27
3.2.5.3. Ham Kül Analizi.....	28
3.2.5.4. Nem Analizi.....	28
3.2.5.5. Yağ Asitleri.....	29
3.2.6. Kimyasal Kalite Analizleri.....	30
3.2.6.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analizi.....	30
3.2.6.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Analizi.....	30
3.2.6.3. Peroksit Sayısı.....	31
3.2.6.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi.....	32
3.2.6.5. pH Analizi.....	32
3.2.7. Duyusal Analiz.....	32
3.2.7.1. Çiğ Yılan Balığındaki Duyusal Analiz.....	32
3.2.7.2. Pişmiş Yılan Balığındaki Duyusal Analiz.....	33
3.2.8. Mikrobiyolojik Analiz.....	34
3.2.5.1. Toplam Bakteri Sayımı.....	34
3.2.5.2. Toplam Koliform Sayımı.....	35
3.2.9. İstatistik Analizler .....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	37
4.1. Uçucu Yağ Bileşenleri.....	37
4.2. Besin Değerleri.....	39
4.2.1. Yağ Asitleri.....	40
4.3. Duyusal Değerlendirme.....	45
4.3.1. Çiğ Yılan Balığının Duyusal Değerlendirilmesi.....	45
4.3.2. Pişmiş Yılan Balığının Duyusal Değerlendirilmesi.....	46
4.4. Kimyasal Değerlendirme.....	48
4.4.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N).....	48
4.4.2. Tiyobarbitürik Asit Sayısı.....	49
4.4.3. Peroksit Sayısı.....	51
4.4.4. Serbest Yağ Asitleri.....	53
4.4.5. pH Değeri.....	55

4.5. Mikrobiyolojik Değişimler.....	57
4.5.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı (TAMB).....	57
4.5.2. Toplam Aerobik Psikrofil Bakteri Sayımı (TAPB).....	58
4.5.3. Toplam Koliform Sayısı .....	59
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	81
EKLER.....	82





<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>SAYFA</b>
Çizelge 2.1. Antioksidan Etki Mekanizması.....	7
Çizelge 3.1. Gaz Kromatografisi-Kütle spektrometre Koşulları.....	24
Çizelge 3.2. Gaz Kromatografisi Koşulları.....	29
Çizelge 3.3. Modifiye Edilmiş Çiğ Yılan Balığı Filetosu için Kullanılan Kalite İndeks Metodu.....	33
Çizelge 3.4. Pişmiş Yılan Balığı Filetosu için Kullanılan Hedonoik Skala.....	34
Çizelge 4.1. Defne Ekstraktının Uçucu Yağ Bileşenleri.....	38
Çizelge 4.2. Mersin Bitkisi Ekstraktının Uçucu Yağı Kompozisyonu.....	39
Çizelge 4.3. Taze Yılan Balığı Filetosunun Besin Değerleri.....	39
Çizelge 4.4. Yılan Balığının Yağ Asidi Profili.....	41
Çizelge 4.5. Çiğ Yılan Balığının Duyusal Değişimleri.....	45
Çizelge 4.6. Pişmiş Yılan Balığının Duyusal Değişimleri .....	47
Çizelge 4.7. Yılan balığı Filetosunun Soğuk Depolanması Süresince TVB-N Değerlerindeki Değişimleri.....	48
Çizelge 4.8. Yılan balığı Filetosunun Soğuk Depolanması Süresince TBA Değerlerindeki Değişimleri.....	50
Çizelge 4.9. Yılan balığı Filetosunun Soğuk Depolanması Süresince Peroksit Sayısı Değerlerindeki Değişimleri .....	52
Çizelge 4.10. Yılan balığı Filetosunun Soğuk Depolanması Süresince FFA değerlerindeki değişimleri .....	54
Çizelge 4.11. Yılan balığı Filetosunun Soğuk Depolanması Süresince pH Değerlerindeki Değişimleri .....	56



<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>SAYFA</b>
Şekil 2.1. Sentetik Antioksidanlarının Kimyasal Yapısı.....	7
Şekil 2.2. Dört Temel Flavonoid Grubunun Moleküler Yapısı.....	8
Şekil 4.1. Yılan Balığının Soğuk Depolanması Süresince TAMB Sayısındaki Değişimleri .....	57
Şekil 4.2. Yılan Balığının Soğuk Depolanması Süresince TAPB Sayısındaki değişimleri .....	59
Şekil 4.3. Yılan Balığının Soğuk Depolanması Süresince Koliform Sayısındaki Değişimleri .....	60



<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>SAYFA</b>
Resim 2.1. Mersin Bitkisi.....	9
Resim 2.2. Defne Bitkisi.....	11
Resim 3.1. Çalışmada kullanılan Yılan Balığının Genel Görünümü.....	21
Resim 3.2. Clavenger Aparatının Genel Görünümü .....	22
Resim 3.3. Gaz Kromotografisi Kütle Spektrometresinin Genel Görünümü.....	23
Resim 3.4. Yılan Balığı Filetolarına Antioksidan Uygulaması.....	25
Resim 3.5. Yılan Balığı Filetolarının Vakum Paketlenmesi.....	26
Resim 3.6. Gaz Kromotografisinin Genel Görünümü.....	29



## KISALTMALAR DİZİNİ

KOB	: Koloni Oluşturan Birim
MAP	: Modifiye Edilmiş Atmosfer Paketleme
TAMB	: Toplam Mezofilik Bakteri
TAPB	: Toplam Psikrofil Bakteri
TVB-N	: Toplam Uçucu Bazik Azot
FFA	: Serbest Yağ Asiti
TBA	: Tiyobarbitürik Asit Sayısı
PV	: Peroksit Sayısı
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometre
GC	: Gaz Kromatografisi
SFA	: Doymuş yağ asitleri
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
C14: 0	: Miristik asit
C16: 0	: Palmitik asit
C18:1n9	: Oleik asit
C18:2n6	: Linoleik asit
C18:3n3	: Linolenik asit
C20:5n3	: Eikosapentaenoik asit(EPA)
C22:6n3	: Dokosaheksaenoik asit(DHA)





## 1. GİRİŞ

Gıdaların işlenmesi, depolanması, ısı muamelesi ve son ürünün depolanması süresince ortaya çıkan lipit oksidasyonu, gıda ürünlerinin bozulmasına neden olan temel tepkimelerden birisidir. Lipit oksidasyonu gıdaların tadı, yapısı ve aromasında değişimlere neden olan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksitlerini oluşturan bir dizi zincir reaksiyonu olmaktadır (Sarkardei ve Howell, 2008). Bu tepkimenin substratı doymamış yağ asitleridir. Bunların gıdalardaki başlıca örnekleri oleik, linoleik, linolenik ve araşidonik asittir. Bunlar 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 tadı ve aroması, her hangi bir gıdanın reddedilmesinde kriter olabilmektedir. Lipit oksidasyon ürünleri protein gibi diğer gıda bileşenlerini etkileyebilmektedir (Karpinska ve ark., 2001).

Balık eti, besleyici değeri yüksek bir besin olmasına karşın bozulmaya karşı oldukça duyarlıdır. Balık kasında bağ doku yapısının zayıf olması, yüksek enzim aktivitesi, nötrala yakın pH değeri ve yüksek su (nem) içeriği balık etini bozulmaya karşı hassas kılmaktadır (Özden ve Gökoglu, 1996). Proteolitik enzimler, balıkta kas dokuyu parçalayarak dokuda yumşamaya neden olmakta, ilerleyen bozulma ile birlikte bakteri enzimleride devreye girmektedir. Enzim ve bakterilerden başka havadaki oksijen, balık yağlarını okside ederek acılaşıma neden olur. Bu durum yağlı balıklarda daha yoğun gözlenmektedir (Serdaroglu ve Deniz, 2001; Erkan, 2003). Su ürünlerinde yaygın olarak bulunan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) oksidasyona karşı oldukça hassas olup, depolama süresince balığın tekstürü ve besinsel değerinin değişimlerinin yanında, balıkta kötü koku ve acı tada neden olmaktadır (Olafsdottir ve ark., 1997). Su ürünleri dahil gıda endüstrisinde oksidasyonu engellemek amacıyla antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Antioksidanlar serbest radikallerin olumsuz etkilerini durduran veya yok eden maddelerdir. Antioksidanlar gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda

sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla da kullanılır (Keskin ve Erkmen, 1987). Ticari olarak kullanılan en önemli antioksidanlar, tert-butilhidroquinon (TBHQ), propil gallat (PG), butillenmişhidroksi toluen (BHT) ve butillenmişhidroksi anisol (BHA)'dur. Son yıllarda, bu tür sentetik gıda katkı maddelerinin güvenilirliklerinin test edilmesi için çok ciddi çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar sonucunda BHT ve BHA gibi yaygın olarak kullanılan antioksidanların toksik aktiviteye sahip olduğu ve insanlar için kanserojen etki gösterdiği saptanmıştır (Yingming ve ark., 2004; Torre ve ark., 2001; Suja ve ark., 2004). Sentetik katkılara karşı tüketicilerin kaygısı gıda endüstrilerin doğal alternatif antioksidan ürünlerin kullanımına yönlendirmektedir (Decker ve McClements, 2011). Bu nedenle lipit oksidasyonunu önlemek için etkili doğal antioksidanların geliştirilmesi önemlidir (Ahn ve ark., 2002). Gıda endüstrisi sentetik gıda katkı maddelerinin yerine bitki orjinli doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin geliştirilmesi ve kullanımına yönelmektedir. Bitkilerde bulunan en aktif antioksidanlar fenolik ve polifenolik bileşiklerdir. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler fenilpropanoid sınıfı bileşiklerine aittir. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri redoks potansiyellerinden kaynaklanır (Parr ve Bolwell, 2000). Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin varlığı, antioksidan aktiviteleri ve aroma kazandırma özelliklerinden dolayı oldukça önemlidir. Bitkilerin esansiyel yağları ve ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Myrtaceae familyasına ait olan mersin bitkisi (*Myrtus communis* L.) Akdenizde tipik olarak bulunan yapraklarını dökmeyen bodur bir bitki olup, çeşitli ülkelerde doğal olarak yetişmektedir. Mersin bitkisi önemli aromatik ve tıbbi bitkilerden birisidir. Mersin bitkisi geleneksel olarak antiseptik, dezenfektan ilaç ve hipoglisemik madde olarak kullanılmaktadır (Elfellah ve ark., 1984). Mersin bitkisinin çeşitli kısımları, kozmetik endüstrisinin yanında ete ve sosa aroma kazandırmak amacıyla gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Chalchat ve ark., 1998). Mersin bitkisinin uçucu fraksiyonları (Lawrence, 2007; Wannas ve ark., 2010) ile yaprak ve tohumlarındaki fenolik bileşikler (Montoro ve ark., 2006; Tuberoso ve ark., 2007) ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Mersin bitkisi yaprağı ekstraktının antioksidan ve

antibakteriyel aktivitesi ile ilgili çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (Gardeli ve ark., 2008; Amensour ve ark., 2009; Gündüz ve ark., 2009). Wannes ve ark. (2010), mersin bitkisindeki fenol içeriğinin bitki kısımlarına göre değişkenlik gösterdiğini ve yaprak ekstraktındaki toplam fenol içeriğinin (33.67 mg GAE/g), çiçek (15.70 mg GAE/g) ve gövde ekstraktından (11.11 mg GAE/g) daha yüksek olduğunu rapor etmiştir.

Defne (*Laurus nobilis* L.) Akdeniz bölgesinde doğal olarak bulunan ve orta ve subtropik iklime sahip ülkelerde kültürü yapılan bir türdür. Defne yaprağı için global olarak yıllık talep edilen miktar 3000 tondan fazladır (Unctad, 2006). Defne yaprağında alkol terpenlerin ve fenollerin varlığı, bu bitkilerin gıda endüstrisinde alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Di leo lira ve ark., 2009). Defne yaprağı ve yapraklardan elde edilen esansiyel yağlar gıdalarda baharat ve aroma kazandırıcı olarak eşsiz bir değere sahiptir. Bu bitki tıpta önemli kullanıma sahip olmamasına karşın, son zamanlarda bu bitki ile ilgili bilimsel araştırmalarda önemli artışlar gözlenmektedir. Defne yaprağı ve meyvesi tamamen aromatik olup, sinir bozukluğunu giderici özelliğe sahip olmaktadır (Kang ve ark. 2002). Defne yaprağının uçucu yağında 1,8-cineol'un en önemli bileşik olduğu rapor edilmiştir (Al-Kalaldehy ve ark.,2010). Simic ve ark. (2003), defne yaprağı uçucu yağında 1,8-cineol (eucalyptol) (%40.91)'un monoterpenler  $\alpha$ -pinene (%5.82),  $\beta$ -pinene (%4.55), sabinene (%6.92), limonene (%2.10), linalool (%1.29) ve  $\alpha$ -terpinyl acetate (%5.86) tespit etmişlerdir. Balıklarda çeşitli bitki ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Mejlholm ve Dalgaard, 2002; Harpaz ve ark., 2003; Al-Bandak ve ark., 2009; Kykkidou ve ark., 2009; Medina ve ark., 2009; Özogul ve ark., 2010; Kenar ve ark., 2010; Erkan, 2010). Ancak, defne ve mersin bitkisi ekstraktının balık etindeki etkisi üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Yılan balığı, (*Anguilla anguilla*) *Anguilla* cinsinin 19 türünden biridir. Vücut yapısından dolayı yılan benzeyen bir balık türüdür. Ticari öneme sahip 4 türü bulunmakta olup *Anguilla anguilla* Avrupa'da, *Anguilla japonica* uzak doğuda, *Anguilla rostrata* Kuzey Amerika'da, *Anguilla australis* Avusturalya ve Yeni Zelanda da bulunmaktadır. Yılan balıkları Türkiye'nin güney sahilleri ve doğusu boyunca yaşayan ekonomik öneme sahip bir türdür. Yüksek et verimi ve

aromasından dolayı taze yılan balığına olan talep artmaktadır. Bunun yanında Avrupa ülkelerindeki talep artışı yılan balığı ihracatını arttırmıştır. (Ozogul ve ark., 2005). Yılan balığındaki yağ oranı yüksek olduğundan ( %20.86) hızlı bozulmaya uğramaktadır (Vishwanath ve ark., 1998).

Bu çalışmada, defne ve mersin bitkisinden solvent ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen doğal antioksidanların yılan balığı (*Anguilla anguilla*) filetosuna uygulanması (Saf su ile hazırlanmış %1 lik antioksidan solusyonlarında 4 dk süre bekletilerek) ve vakum paketlenen filetoların soğukta depolama süresince duyuşal kimyasal ve mikrobiyolojik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Antioksidanlar

Antioksidanlar biyolojik sistemde lipit oksidasyonunu geciktiren yada engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Halliwell, 1995). Antioksidanlar gıdalarda doğal olarak bulunabilmekte yada ürünlere direk olarak eklenmektedir. Antioksidanların en önemli fonksiyonu organik maddelerin oksidasyonunu engellemek ve dolayısıyla gıdaların raf ömrünü arttırmaktır. Katı ve sıvı yağlarda antioksidanlar oksidasyon başlangıcını geçiktirmekte veya okside edici reaksiyonların oranını yavaşlatmaktadır. Lipit oksidasyonu kimyasal olarak gıdalardaki farklı koku ve tat bileşiklerini oluşturmakta ve gıdanın diğer moleküllerini etkilemektedir. Gıdalarda yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) ve etoksiguindir (Wanasundara ve Shahidi, 2005).

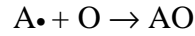
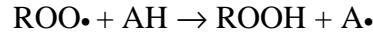
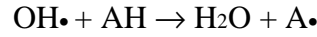
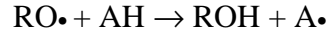
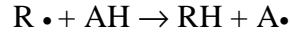
Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar ise, vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. (Miller ve Paganga, 1997). Doğal antioksidanların en önemli kaynağını aromatik bitkiler oluşturur. Bu bitkilerin ekstraktları depolama sırasında yağ oksidasyonu seviyesini düşürme ve hızını yavaşlatma özelliğini gösterdiği gözlenmiştir (Tsimogiannis ve ark., 2006).

#### 2.1.1 Antioksidaların Etki Mekanizması

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (Warma, 1995). Antioksidanların kullanımı ile aktivasyon enerjisini antioksidan molekülü kullanmakta, bu enerjiyi başka moleküllere aktaramamaktadır. Antioksidan molekülünün araya girmesiyle

otokside olabilen maddenin birçok molekülleri okside olmaktan kurtulmakta, yani oksidasyon yavaşlamış, kısmen durdurulmuş olmaktadır. Antioksidanın aktif molekülü (A•) enerjisini yağ moleküllerine aktarmamakta, genellikle inaktif moleküllere okside olmaktadır (AH: Antioksidan molekülü, A•: Aktif antioksidan molekülü, AO: inaktif antioksidan molekülü) (Josse, 1987).

Çizelge 2.1. Antioksidanın etki mekanizması (Josse, 1987).



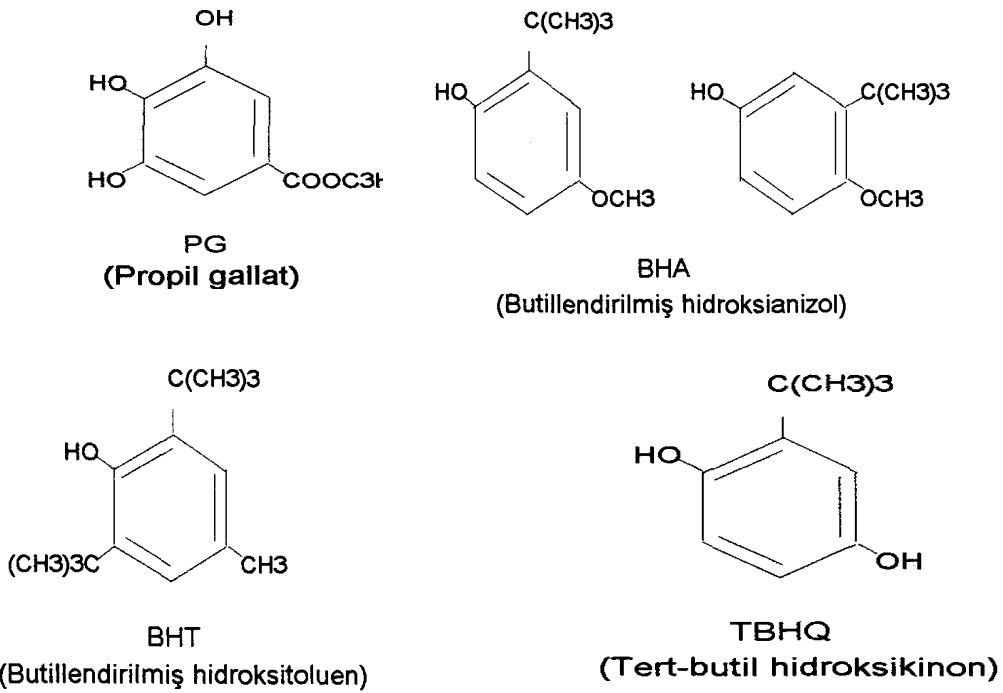
Antioksidanlar primer ve sekonder olmak üzere 2 ana grupta sınıflandırılırlar. Primer antioksidanlar lipit radikalleriyle birlikte direkt olarak tepkimeye girer ve ürünün stabil olmasını sağlar. Sekonder antioksidanlar ise farklı mekanizmalarla oksidasyon düzeyini daha düşük seviyelere düşürür. Fakat bu doğrudan serbest radikal süpürücü etkiyi kapsamamaktadır (Decker ve ark., 2005).

### 2.1.2 Sentetik ve Doğal Antioksidanlar

Antioksidanlar; doğal ve sentetik olarak iki gruba ayrılarak incelenir. Doğal antioksidanlar sentetik antioksidanlardan daha etkili ve daha yararlıdır. Örneğin  $\alpha$ - tokoferol sentetik razemik  $\alpha$ -tokoferol den daha etkilidir. Çünkü  $\alpha$ -tokoferolu taşıyan protein doğal  $\alpha$ -tokoferolu tanır (Shi ve ark., 2001). Doğal antioksidanlar, besinlerde var olan ve onların bozunma, ekşime, renk değiştirme gibi reaksiyonlarını önleyen maddelerdir. Sentetik antioksidanlar üretilerek gıdalara eklenir (De Whalley, 1990). En çok kullanılan sentetik antioksidanlar fenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşikler serbest radikalleri tutma, lipid peroksidasyonunu önleme, anti-inflamatuar hareketler ve siklo-oksigenaz, lipoksigenaz ve fosfolipaz A2 gibi enzimleri inhibe etme gibi

birçok özelliklere sahip olmasının yanında, yakın zaman önce de LDL oksidasyonunun etkin inhibitörü olarak gösterilmişlerdir (Hertog ve ark., 1993)

Sentetik antioksidanların dünya çapında kullanımını azaltılması yada yasaklanmış olmasından dolayı son on yıldan beri doğal antioksidanlara karşı olan ilgi artmaktadır (Pokorny ve Korczak, 2001). En yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar BHA, BHT, PG ve TBHQ'dır (Barlow, 1990).



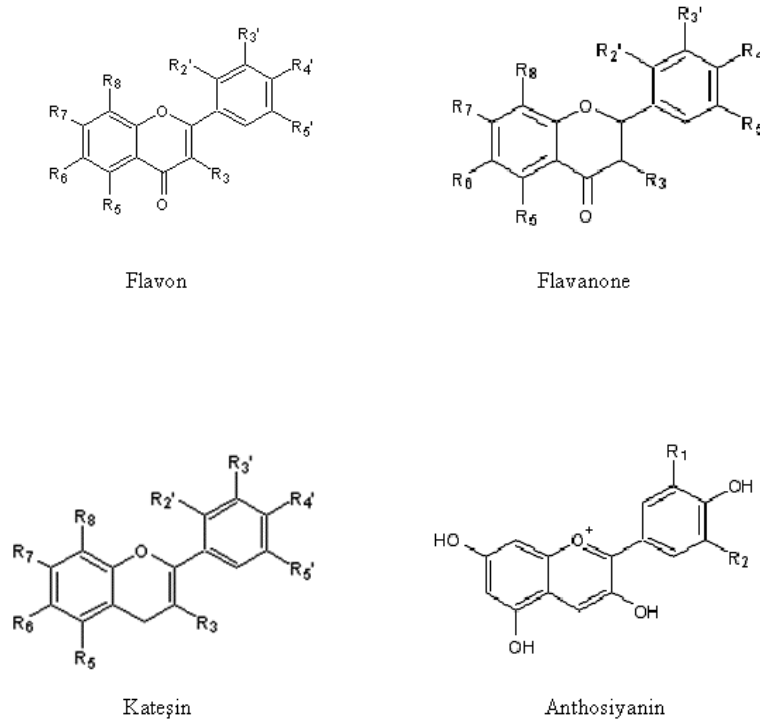
Şekil 2.1. Sentetik antioksidanların kimyasal yapısı (Dziezak 1986)

## 2.2. Aromatik bitkiler

Aromatik bitkiler doğal antioksidanların en önemli kaynağını oluşturur. (Tsimogiannis ve ark., 2006). Doğal antioksidanlar bitkilerin farklı kısımlarında bulunabilir. Çoğunlukla polifenolik yapıda olan antioksidan maddeler neredeyse tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidan maddelerin en önemlileri; tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve askorbik asittir (Yanishlieva ve ark., 2001). Flavonoidler bitki kaynaklı bileşikler olup doğada yaygın olarak bulunurlar



(Ruzsnyak ve Szent-Gyorgy, 1936). Flavonoidin temel yapısı, flavan iskeleti içerir. A, B, ve C ile adlandırılan üç halkadan (C6-C3-C6) oluşan ve 15 karbon içeren difenilpropan yapısındaki bileşiklerdir (Şekil 2.2). Ayrıca flavonoidler bitkilerde antioksidan, enzim inhibitörü ve aynı zamanda ışından koruma gibi bir dizi önemli özelliklere sahiptir (Harborne, 1975; Harborne ve Mabry, 1982; McClure, 1986).



Şekil 2.2. Dört temel flavonoid grubunun moleküler yapısı (Nijveldt ve ark.,2001)

## 2.2.1. Antioksidan Kaynağı Aromatik Bitkiler

### 2.2.1.1. Mersin Bitkisi (*Myrtus communis* L.)

Mersin bitkisi Myrtaceae familyasından olup genellikle kısa boylu ve bazı durumlarda 1-3 m yüksekliğinde, kışın yapraklarını dökmeyen ve beyaz çiçekli bir ağaç olup; yapraklar 1-3 cm uzunluğunda, 0.5-1 cm genişliğinde, sivri uçlu, tüysüz ve derimsi, meyveleri ise nohut büyüklüğünde, beyaz siyahımsı mor renklidir. Çiçekleri güzel kokulu beyaz ve uzun saplıdır. Yaprakların koltuklarında çiçekler tek tek veya nadiren de iki tanesi birarada bulunur. Bazı durumlarda ise şemsiyemsi

salkım şeklindedirler. Çiçek tablası, kadeh veya testi şeklindedir ve yumurtalığı tamamen sarmıştır, bu da çiçeğe gösterişli bir görüntü kazandırır (Baytop, 1984).



Resim 2.1. Mersin Bitkisi (*Myrtus communis* L.)

Mersin bitkisi Akdenize özgü bir bitki olup Güney ve batı Anadolu'da yaygın biçimde bulunmaktadır. Çoğunluğu Güney Amerika ve Avustralya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişir (Karamanoğlu, 1972). Yalnızca *Myrtus communis* Akdeniz çevresinde yayılmıştır. Akdeniz Havzasının tipik doğal bitkilerinden olan mersin bitkisi, ülkemizde de Adana, Antalya, İçel, Çanakkale, İstanbul, Zonguldak, Sinop, Ordu, Trabzon, İzmir, Samsun, Muğla ve Hatay çevresinde yaygındır. Türkiye'de Mersin bitkisi çam ormanında ve nehir kenarlarında, özellikle deniz seviyesinden 500-600 metre yükseklikte Toros dağlarında yetiştiği bildirilmiştir. Bitki yöresel olarak "hambeles", "mersin" veya "murt" olarak da bilinmektedir (Aydın ve Özcan, 2006).

Mersin bitkisinin taze ve/veya kuru yapraklarının uçucu yağları kozmetik, şekerleme ve içecek sanayinde kullanılmaktadır (Akgül, 1993; Akgül ve Bayrak, 1989; Boelens ve Jimenez, 1992; Özek ve ark., 2000). Yapraklardan buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ parfüm endüstrisi için de çok önemlidir.

(Baytop, 1999). Türkiye’de yetişen Mersin bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağ, ana bileşen olarak 1,8-cineol, linalool, miyrtetil asetat,  $\alpha$ -pinen ve myrtenol içermektedir (Özek ve ark., 2000; Özcan ve Chalchat, 2004).

Bitkinin yaprakları ve meyveleri yaraların iyileştirilmesinde antiseptik olarak ve idrar yolları rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılır (Baytop, 1999). Halk ilacı olarak kanamayı durdurucu ve balsamik özelliklerinden dolayı geniş ölçüde kullanılmaktadır (Benigni ve ark., 1964). Yaprakların dekoksasyonu vajinal lavaj amacıyla, lavman olarak ve solunum rahatsızlıklarına karşı halen kullanılmaktadır (Maccioni ve ark., 1994–1995; Marchini ve Maccioni, 1998).

#### 2.2.1.2. Defne (*Laurus nobilis* L.)

*Laurus* cinsi Lauraceae familyasının Lauroideae alt familyasına ait bir bitkidir. Bu cinsin Akdeniz defnesi (*Laurus Nobilis*) ve Azor defnesi (*Laurus Canariensis*) olarak 2 türü vardır. Çalışmamızda kullanılan tür *Laurus nobilis* türünün yapraklarıdır. Bu tür 3-10 m yüksekliğinde, kışın yapraklarını dökmeyen ve sarı çiçekli bir ağaç olup, yapraklar 5-10 cm uzunluğunda, 2-5 cm genişliğinde, sert ve kısa saplı, yeşil renkli; meyveleri ise küçük zeytin tanesi biçimindedir. Defne ağaçları kışın yapraklarını dökmezler. Avrupa’da yaygın bir şekilde bulunmakla birlikte, ülkemizde de Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinin sahil kısımlarında bulunmaktadır (Baytop, 2000).



Resim 2.2. Defne (*Laurus nobilis* L.)

Defnenin anavatanı birçok kaynağa göre küçük Asya ve balkanlar olarak gösterilmektedir. Başta Türkiye olmak üzere Yunanistan, İtalya, İspanya, Portekiz, Fransa, Yugoslavya, Suriye, Fas, Cezayir, Akdeniz adaları, Meksika Kanarya adalarında yaygın olarak bulunmaktadır (Ercan, 1983).

Yaprakları kısa saplı olup kendine has aromatik kokuya sahiptir ve %2.03 oranında uçucu yağ ihtiva etmektedir. Japonyada yapılan bir çalışmada kültüre edilmiş defnelerin yapraklarının içerdiği uçucu yağ haziran başlarında artmakta ve en yüksek değerine temmuz sonunda ulaşmakta, ağustos ayında biraz azalmakta eylül oratsında hafif artmakta ve daha sonraki zamanlarda sürekli düşmektedir. Erkek ve dişi ağaçlarda 1,8 cineol,  $\alpha$ -pinen terpineol, linaool, eugenol, linalyl asetat ve  $\beta$ -pinen belirlenmiştir. Ayrıca erkek ağaçlarda genç yapraklar olgun olanlara oranla yüksek  $\alpha$ -pinen içerir, buna karşılık linalol bubb tersi bir eğilim göstermektedir. Erkek bireyler dişi bireylerle kıyaslanırsa, yapraklar yüksek oranda linalol ve  $\beta$ -pinen ve biraz düşük oranda cineol içerir. Yapılan ince tabaka kromatografik analizinde defne yaprak uçucu yağ bileşenleri ve oranları linalool %25-30, lineol

%18-24, eugenol 16-20, linalyl acetate %14-16,  $\alpha$ -terpineol %10-12,  $\beta$ - pinen %6-7 olarak tespit edilmiştir (Yoshida, 1979).

Defne yaprağı ve meyvası, aromatik ve uyarıcı özelliğe sahiptir. Meyva ve yaprak yağları Hindistan cevizi yağı ve palm yağı ile karıştırılarak ekzama ve romatizma tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Garg, 1992). Kurutulmuş yapraklar genellikle doğrudan doğruya konservelerde, çorba, et ve balık yemeklerinde baharat olarak, balık konservelerinde balığın tazeliğini korumak ve kokusunu gidermek için kullanılır (Bozkurt, 1982). Ayrıca antiseptik, antiromatizmal, diüretik, kulak ve mide ağrılarını giderici olarak geleneksel tedavi amaçlı; kuru meyveleri besinlerde tatlandırıcı olarak, kuru yaprakları çay olarak, uçucu yağı ise sabun yapımında, besin ve kozmetik endüstrisinde koku verici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 2000).

Defne yaprağının etkinliği az olup uçucu yağlarının etken maddelerinin uygun konsantrasyonlarda kullanılmaları ile mikotosijenik küflerin çoğalması ve toksin oluşturmalarının engellenmesinin mümkün olduğu tespit edilmiştir (Karapınar, 1987; Polat, 1998).

### 2.3. Antioksidanlar ile İlgili Çalışmalar

Piccaglia ve ark. (1993), Akdenizde tipik olarak bulunan 11 adet aromatik bitkinin (lavanta, kekik, geyik otu, biberiye, adaçayı, nane, sarı papatya, tarhun otu, acı ve tatlı rezene), buhar distilasyonla elde edilen esansiyel yağlarının antioksidan ve antibakteriyel etkisine çalışmıştır. Bu çalışmada kekik ve geyik otunun test edilen bakteriyel üyelerle karşı en yüksek antibakteriyel, sarı papatyanın ise en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Khalil ve Mansour (1998), vakum paketlenen 5 °C de 16 gün depolanan çiğ ve pişmiş sazan balığı filetoalarının lipit oksidasyonuna bazı ticari antioksidanların etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, buzdolabı koşullarında depolanan örneklerin lipit oksidasyonu kontrolünde en iyi antioksidan maddenin 200 ppm konsantrasyonda 45 dakika daldırılan antraksin maddesi olduğu görülmüştür. Lipit oksidasyonunda, vakum paketlenmenin vakumsuz paketlenmeden daha etkili olduğu

görülmüştür. Vakumlu ya da vakumsuz paketlenmiş olan pişirilmiş filetoların TBA değerinin, pişirilmemişlerden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Akhtar ve ark. (1998), biberiye ekstraktının yüksek miktarda karnosik asit ve karnosol gibi fenolik diterpenik madde içermekte olduğunu ve yaptıkları çalışmada biberiye ekstraktının dondurulmuş ve buzdolabında depolanmış gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin depolanması boyunca çok etkili bir antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir.

Sant-Ana ve Mancini-Filho (1999), deneysel koşullarda alfa tokoferol, BHT ve biberiye ekstraktlarının balık filetolarının yağ asidi kompozisyonuna olan etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda en etkili maddenin alfa tokoferol olduğu saptanmıştır.

Dorman ve Deans (1999), *Piper nigrum*, *Syzygium aromaticum*, *Pelargonium graveolens*, *Myristica fragrans*, *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarını, hayvan ve bitki patojenleri ile gıda zehirlenmesine ve gıdaların bozulmasına neden olan bakterileri içeren 25 farklı bakteri türüne karşı antibakteriyel etkisini değerlendirdikleri çalışmada, bu uçucu yağların major komponentine bağlı olarak hatırı sayılır ölçüde antimikrobiyal etki gösterdiklerini bulmuşlardır.

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2003), sardalya filetosuna biberiye ekstraktı ve soğan özütü uygulayarak -20°C de depolama ile yapmış oldukları çalışmada TBA, FFA, PV ve yağ asitleri kompozisyonu 5 ay boyunca incelemişlerdir. Çalışma sonunda TBA, PV ve FFA oranlarının lipit oksidasyonu nedeniyle artış gösterdiğini, biberiye ekstraktının kontrol grubuna göre TBA, PV ve FFA düzeylerinde antioksidatif etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Soğan özütünün uygulandığı grubun dondurulmuş sardalyanın raf ömrünü 3 ay geciktirdiği saptanmıştır.

Yousef (2003), siyah ve yeşil çayın deneysel koşullarda antibakteriyel ve antifungal etkisine çalışmıştır. Bu çalışmada siyah çayın *Salmonella* spp. gelişiminde inhibitör etki yarattığı, %3-4 konsantrasyonundaki yeşil çay ekstraktlarının ise *E. coli* gelişimini engellediği rapor edilmiştir.

Gimenez ve ark. (2004), ticari sıvı biberiye ekstraktını çipura (*Sparus auratus*) balığı filetosuna uygulayarak modifiye atmosferik pakette buzdolabı koşullarında

depolamıştır. Bu çalışma sonucunda biberiye ekstraktının balığın raf ömrünü uzattığını bulmuşlardır.

Bakarat ve ark. (2004), 9 farklı esansiyel yağın (allyl isothiocyanate, karvakrol, cinnemaldehyde, sitral, cuminaldehyde, eugenol, isoeugenol, linalol ve timol) sazanın (*Cyprinus caprio*) bağırsak, deri ve solungaçlarından izole ettikleri *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, Enterebateriaceae ve Vibrionaceae familyalarına karşı antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada karvakrol, timol ve cinnemaldehyde' in bu patojenlere karşı çok güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği ve isoeugenol, eugenol, sarımsak yağı ve sitral'in de patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdikleri rapor edilmiştir.

Pazos ve ark. (2006), üzüm ve zeytinyağı yan ürünlerinden elde edilen fenolik bileşiklerin dondurulmuş istavrit (*Sarda australis*) filetoları üzerine fizikokimyasal etkisini araştırmışlardır. Sprey yada glazeleme yöntemiyle uygulanan bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda kontrol grubunda sırasıyla depolamanın 3 ve 5. gününde oksidasyona bağlı koku belirlenirken, üzümde elde edilen glazeleme ve sprey yöntemiyle uygulanan prosiyanitlerin depolamanın sırasıyla 10 ve 13. günün de oksidasyona bağlı koku belirlenmiştir.

Mahmoud ve ark. (2006) %1' lik karvakrol ve timol içeren elektrolize suyu, kurutma sırasında sazan filetolarına uyguladıklarında, diğer yöntemlere göre oldukça kuvvetli antimikrobiyal ve antioksidan etki gösterdiğini ve bunun gıda endüstrisindeki sentetik koruyuculara iyi bir alternatif olabileceğini rapor etmişlerdir.

Venskutonis ve ark., (2008), yaptıkları bir çalışmada çeşitli aromatik ve tıbbi bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesini incelenmiştir. Çalışma sonucunda adaçayı, kekik ve ısırgan otundan elde edilen ekstraktların iyi bir antioksidan aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir.

Mahmoud ve ark. (2007), yapmış oldukları çalışmada, elektrolize NaCl ve %1 lik' karvakrol ve timol' ün sazan filetosunun besin kompozisyonunu değiştirmediğini ve gıda sanayinde kullanılan sentetik koruyuculara iyi bir alternatif olabileceğini rapor etmişlerdir.

Solomakos ve ark. (2007), %0.3, %0.6 veya %0.9 kekik esansiyel yağının, 500 veya 1000 IU/g nisin ve bunların kombinasyonlarının tryptic soy broth (TSB) ve sığır eti kıyımında *Escherichia coli*'e karşı antimikrobiyal etkisi üzerine yaptıkları çalışmada %0.6 lık esansiyel yağ ve 500 veya 1000 IU/g nisin kombinasyonu 10 °C'de depolama sırasında patojenlere karşı 4 °C de yapılan depolamadan daha yüksek etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Selmi ve Sadok (2008), kurutulmuş kekik ile (*Thymus vulgaris*) muamele edilen, vakum paketlenen ve 0 °C' de 18 gün depolanan tuna (*Thunnus thynnus*) etinin besin değeri, TBA, toplam uçucu bileşikler, trimetilamin (TMA), pH ve doymuş yağ asitlerindeki değişimleri incelemişlerdir. Protein, yağ, kül ve nem arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Depolamadan önce ve sonraki yağ asit profil gruplarında önemli farklılıklar olduğunu, kekik ile muamele edilen gruplarda ise 15 günlük depolama sonrasında yağ asitlerinin her grubu için önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Kykkidou ve ark. (2009), 4 °C de depolama sırasında taze Akdeniz kılıç balığı filetolarında paketlenme ve kekik esansiyel yağının etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmada depolama sırasında modifiye atmosfer ve hava ile paketlenmiş kılıçbalığı örneklerinde TBA değerinin değişken olduğunu ve kekik esansiyel yağ uygulanmış modifiye atmosfer uygulanmış örneklerde lipid oksidasyonunun inhibe edildiği bildirilmiştir. Akdeniz kılıçbalığının mikrobiyolojik ve duyuşal kabul edilebilir limitinde, TMA-N ve TVB-N değeri 3.72 ve 24.5 mg N/100 g olarak bulunmuştur. Bu çalışmada kılıçbalığında *Pseudomonas* ve H<sub>2</sub>S-üreten bakteriler için en etkili inhibisyon etkisini modifiye atmosfer paketlenme ve timol uygulanmış modifiye atmosfer paketlenmenin gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca paketlenme işlemine bakılmaksızın laktik asit bakterileri ve *Enterobacteriaceae*, kılıç balığının doğal mikrobiyal florası olarak bulunmuştur. Duyuşal değerlendirmeye göre taze dondurulmuş Akdeniz kılıç balığının raf ömrü aerobik ve modifiye atmosfer paket koşullarında 8 ve 13 gün olarak bulunmuştur. Aerobik koşullarda %0.1 lik kekik esansiyel yağı ilavesi, ürünlerin raf ömrünü 5 gün uzatırken, duyuşal datalara göre kontrol grubuna göre modifiye atmosfer paketlenme ve kekik esansiyel



yağ uygulanmış kılıç balığı filetoalarının kontrol grubuna göre kayda değer ölçüde (yaklaşık olarak 7.5 gün) raf ömrünün uzadığını bildirmişlerdir.

Özcan ve ark. (2010), defne bitkisinin (*Laurus nobilis* L.) esansiyel yağı, tohum yağı ve tohum yağının metanolik ekstraktının invitro antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Esansiyel yağların GC-MS analizinde 25 farklı bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden başlıcaları 1.8-cineol (%44.72), a-terpinyl acetate (%12.95) ve sabinene (%12.82) olmuştur. Yağ asidi kompozisyonları yüksek linoleik asit (%40.79) ve laurik asit (38.08%) içeriği ile karakterize edilmiştir. Serbest radikal DPPH’de esansiyel yağların %50 (IC50) inhibisyon aktivitesi 94.655 mg/ml olarak belirlenirken, tohum yağının metanolik ekstraktının IC50 değeri kararsız olmuştur. Linoleik asit sisteminde, linoleik asidin oksidasyonu esansiyel yağlar ve tohum yağının metanolik ekstraksiyonu ile %64.28 ve 88.76 inhibisyon değeri ile engellenmiştir. Tohum yağının metanolik ekstraksiyonunun inhibisyon değeri sentetik antioksidana (BHT) oldukça yakın (%92.46) olmuştur.

Govaris ve ark. (2010), % 0.6 oregano (*Oreganum vulgare*) esansiyel yağının 500 IU/g nisin ile birlikte koyun kıyma etindeki *salmonella enteridis*’ e karşı etkili olduğunu göstermişlerdir. Oregano yağının % 99.04’ ünün karvakrol (80.15), timol (4.82), p-cymen (5.18) ve  $\gamma$ -terpinen bileşiklerinden oluştuğunu bildirmişlerdir.

Özoğul ve ark. (2010), vakum paketlenmiş 20 gün soğuk depolanan ( $4 \pm 1$  °C) sardalyanın duyusal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinde farklı dozlardaki (%1 ve %2) biberiye ekstraktının etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonunda biberiye ekstraktının çiğ ve pişmiş sardalyanın duyusal kalitesini arttırdığı ve özellikle %1 biberiye ekstraktı ile muamele edilen grupların panelistler tarafından daha tercih edilebilir olduğu rapor edilmiştir. Biyokimyasal analiz sonuçlarında lipit oksidasyonunu kontrol altına almada %2 biberiye ekstraktının kullanımının daha etkili olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

Kenar ve ark. (2010),  $3 \pm 1$  °C’de 20 gün depolanan vakum paketlenen sardalyanın duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinde biberiye ve adaçayının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Balık filetoaları, kontrol ve muamele grupları (10g/L biberiye ve adaçayı içeren grup) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Duyusal verilere göre sardalya filetoalarının raf ömrü kontrol için 13 gün,

adaçayı ve biberiye için 20 gün olarak bulunmasına karşın, mikrobiyolojik analiz sonuçları kontrol için 5 gün, biberiye ve adaçayı için 9 gün olmak üzere daha kısa raf ömrü göstermiştir. Depolama sonunda, kontrol, biberiye ve adaçayı uygulanan sardalyaların TBA değerleri sırasıyla 0.98 mg MA/kg, 0.66 mg MA/kg ve 1.44 mg MA/kg olmuştur. Mikrobiyolojik sonuçlar biberiye ve adaçayıdaki doğal bileşiklerin depolama süresince balık etinde daha düşük bakteriyel gelişim sağladığını göstermiştir.

Ozyurt ve ark., (2011), biberiye ekstraktı içeren buzda depolanan sardalyanın (*Sardinella aurita*) depolama süresince kalitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Geleneksel buzlama ile depolanan sardalya duyusal değerlendirmeye göre depolamanın 12. gününde reddedilmiş, biberiye ekstraktı ile hazırlanmış buzda depolanan sardalya ise depolamanın 15. gününde ret edilmiştir. Duyusal değerlendirmeye göre %0.05 ve %0.1 biberiye ekstraktı ile hazırlanan buzda depolama sonucunda gruplar arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Biberiye ekstraktı ile hazırlanan buzda depolamanın, geleneksel buzlama ile depolamaya göre sardalyalarda raf ömrünü önemli ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir.

Özyurt ve ark (2011b), 4 aylık donmuş depolama süresince (-18 °C) farklı yöntemlerle pişirilmiş (kızartma, fırın ve ızgara) çipuranın (*Sparus aurata*) oksidatif kalitesinde, biberiye ekstraktı katkısının etkisini incelemişlerdir. Çipuranın donmuş depolanması süresince FFA, peroksit sayısı ve TBA değerinde önemli artışlar gözlemlenmiştir. Biberiye ekstraktı uygulanan grupların kontrol grubuna oranla genellikle daha düşük düzeyde peroksit sayısı ve TBA değeri içerdiği gözlemlenmiştir. Fırında pişirilen çipuranın duyusal kalitesinde biberiye ekstraktı katkısı pozitif etkiler göstermiştir.

#### 2.4. Balık Kalitesi ile İlgili Çalışmalar

Özoğul ve ark. (2005),  $3 \pm 1$  °C'de buzsuz kutularda ve buzda depolanan yılan balıklarının (*Anguilla anguilla*) duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Buzda depolanan yılan balıklarının duyusal raf ömrü 12-14 gün olarak bulunurken, buzsuz koşullarda soğuk depolanan yılan balıklarının raf

ömrü 5-7 gün olmuştur. 10 mg/100 g ve üzerindeki TVB-N seviyesinin yılan balığında kabul edilebilir limit olarak gösterilmiştir. Peroksit sayısı ve FFA'nın buzda ve  $3 \pm 1$  °C'de depolama süresince artış gösterdiği ve bu artışın  $3 \pm 1$  °C'de depolanan örneklerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. pH değerleri her iki depolama koşulunda önemli değişimler göstermemiştir.  $3 \pm 1$  °C'de depolanan filetoların su kaybı buzda depolanan örneklerden daha yüksek olmuştur ( $P < 0.05$ ). TBA değerleri her iki depolama koşulunda dalgalanma göstermiştir. Araştırma sonucunda yılan balığının duyu analizinin mikrobiyolojik analizlerle uyumlu olduğu görülmüştür.

Toku (2005), farklı sıcaklık şartlarında (+4, 0 ve -18 °C) vakumlu ve vakumsuz ortamlarda depolanan yılan balığının (*Anguilla anguilla*, L. 1758) besin madde kompozisyonlarının zamana bağlı değişimlerini incelemişlerdir. İşlenmiş ve işlenmemiş (tütsülenmiş ve çiğ) yılan balığı filetolarının farklı sıcaklık ve ortam şartlarında depolanmaları süresince ham protein (%), ham yağ (%), nem (%), pH, TVB-N (mg/100 g) ve TMA (mg/100g) içeriklerinde gözlenen değişimler kimyasal ve fiziksel analiz yöntemleri, ürünlerin kalitesinde gözlenen değişimler ise duyu analizler ile belirlenmiştir. Çalışma süresince, örneklerin raf ömürleri ile depolanma sıcaklıkları karşılaştırıldığında -18 °C' de depolanan örneklerin en uzun, + 4 °C' de depolanan örneklerin ise en kısa raf ömrüne sahip oldukları gözlenmiştir. Bununla birlikte, tütsüleme işlemi uygulanan fileto örneklerinin çiğ olanlara göre daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Paketleme yönteminin ürün kalitesi üzerine etkisi incelendiğinde ise vakum uygulanan örneklerde daha iyi sonuçların elde edildiği saptanmıştır.

Özoğul ve ark. (2006), -20 °C'de donmuş depolanan yılan balığının (*Anguilla anguilla*) depolama süresince kalitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Duyusal analiz sonuçlarına göre donmuş yılan balığının raf ömrünün 48 haftadan fazla olduğu bildirilmiştir. Yılan balığının besin değerinde dondurmanın etkisi bulunmamıştır. Donmuş depolama süresince TVB-N değerlerinde dalgalanmalar gözlendiği (7.09–14.72 mg TVB-N/100 g) ve bu nedenle TVB-N'in dondurulmuş yılan balığının kalitesini değerlendirmede iyi bir indikatör sağlamadığı bulunmuştur. FFA, peroksit değeri ve TBA değerleri donmuş depolama süresince dalgalanma göstermiş fakat

depolama sonunda düşük değerlerde kalmıştır. Peroksit sayısı  $13.20 \pm 1.73$  meq/kg değer ile maksimum seviyeye ulaşmıştır. FFA, 0.88 (% oleik asit) başlangıç değerinden donmuş depolamanın 32. haftasına kadar 2.14 değerine hafif bir şekilde artış göstermiştir ( $P > 0.05$ ). TBA, 0.08 mg MA/kg başlangıç değerinden 40 hafta sonra 0.77 mg MA/kg maksimum seviyesine ulaşmıştır. 48. haftada bu değer 0.56 mg MA/kg'a düşmüştür.

Stamatis ve ark. (2007), +3 °C de vakumlu, vakumsuz ve modifiye atmosfer (%50 CO<sub>2</sub>-%50 N<sub>2</sub>) paketlerde depolanan sardalya filetoalarının mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal kalite değişimlerini incelemişlerdir. Mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda en düşük bakteriyel gelişme modifiye atmosferik paketlemede görölmesine karşın, bakteriyel gelişim vakum paketsiz grupta daha fazla görölümüştür. Depolama boyunca gruplar arasında nem, kül, protein, yağ ve PUFA değerleri etkilenmezken, pH değeri ve laktat ve amonyum miktarlarının kendi aralarında önemli farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir ( $P < 0.05$ ).

Mendes ve ark. (2008), sardalya filetoalarını vakumlu, vakumsuz ve modifiye atmosferik paketlerde depolayarak raf ömrünü araştırdıkları çalışmada, TVB-N değerinin depolama boyunca hemen hemen değişmediğini gözlemişlerdir. Modifiye atmosfer paketlerde depolanan örnek ile vakumsuz paketlerde depolanan örneğin raf ömrünün 5 gün olmasına rağmen vakum paketlenen örneğin 8 gün raf ömrünün olduğu saptanmıştır.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Aromatik Bitkiler

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak ticari olarak temin edilen mersin ve defne bitkileri kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Balık

Yılan balıkları (*Anguilla anguilla*) Haziran 2010 tarihinde Mersin Körfezinden taze olarak temin edilmiştir. Balıklar avlanır avlanmaz buzda depolanmış ve 4 saat içerisinde Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojileri Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Balıkların ortalama boy ve ağırlıkları sırasıyla  $59.67 \pm 4.80$  cm ve  $464.59 \pm 5.85$  gramdır (Resim 3.1). Bu çalışmada toplam 12 kg balıketi kullanılmıştır



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan yılan balığının genel görünümü( Orjinal)

### 3.2. Metotlar

#### 3.2.1. Su Buharı Distilasyonu

Ayıklanmış, kurutulmuş mersin ve defne yapraklarından 100 g alınarak, 2000 ml'lik balona yerleştirilmiştir. Daha sonra örnek üzerine 1000 ml saf su eklenerek 4 saat boyunca distilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Distilasyon işlemi tamamlandıktan sonra Clevenger aparatının (Resim 3.2) dereceli kısmından yağ miktarı okunarak % yağ verimi hesaplanmıştır.

Su buharı distilasyonu sonucunda elde edilen uçucu yağlar gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanılarak uçucu yağ kompozisyonları analiz edilmiştir.



Resim 3.2. Clevenger aparatının genel görünümü

### 3.2.2. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi Analizleri

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Resim 3.3) analizleri Su Ürünleri Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. 1 damla uçucu yağ örneği içerisine 1 ml n-hekzan eklenerek vortekste karıştırılmıştır. Bu örnekler sonrasında enjektörle 1 $\mu$ l alınarak GC-MS'e enjekte edilmiştir. Araştırmada kullanılan GC-MS koşulları Çizelge 3.1. deki gibidir.



Resim 3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle spektrometre (GC-MS)'in genel görünümü



Çizelge 3.1. Gaz Kromatografisi-Kütle spektrometre Koşulları

<b>Cihaz</b>	Perkin Elmer Clarus 500(GC-MS)
<b>Kolon</b>	SGE kolunu (60 m. 0,25mm ID. BPX5 0,25um, USA)
<b>Kolon Sıcaklığı</b>	60 °C'de 10 dk, 4°C/dk artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dk beklenir. 4 °C/dk artışla 250 °C'ye , 250 °C'de 10 dk beklenir.
<b>Enjeksiyon Sıcaklığı</b>	240 °C
<b>Taşıyıcı Gaz</b>	Helyum (1,5 ml/dk)
<b>Split Oranı</b>	0
<b>Elektron Enerjisi</b>	70eV
<b>Kütle Aralığı</b>	35-425 m/z
<b>Tarama Kütüphanesi</b>	Nist ve Wiley

### 3.2.3. Bitkilerden Doğal Antioksidan Ekstraksiyonu

Bitkilerden doğal antioksidan ekstraksiyonu için solvent ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerden doğal antioksidan ekstresi elde etmek amacıyla su buharı distilasyonu ile esansiyel yağlarından arındırılmış bitki posaları kullanılmıştır. Ekstraksiyon 2000 ml hacimli geri soğutmalı ekstraktörde gerçekleştirilmiştir. 200 g öğütülmüş bitki üzerine 1000 ml etanol konularak 60 °C'de 2 saat boyunca geri soğutmalı sistemde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt filtre kâğıdından süzülerek ayrı bir kaba konulmuştur. Ardından tekrar 1000 ml etanol eklenerek aynı ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ekstraktlar birleştirilerek 60 °C 30 dakika boyunca 40 gr aktif karbon ile ağartma işlemi gerçekleştirilmiştir. Karbon kısmını ayırmak için filtre edildikten sonra evaporatörde (Heidolph, 2000) etanol uçurularak doğal antioksidan ekstresi elde edilmiştir (Chen ve ark., 1992).

Elde edilen antioksidan ekstraktları küçük plastik kaplarda hava almayacak şekilde sıkıca kapatılarak -18°C'de saklanmıştır

### 3.2.4 Balığa Antioksidan Uygulanması ve Depolama Koşulları

Baş ve iç organları temizlendikten sonra yılan balığının derisi alınarak fileto haline getirilmiştir. filetolar daha sonra 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu steril saf sudan geçirilmiştir. Diğer gruplar (muamele grupları) ise antioksidan ekstrakt içeren steril saf su içerisinde bekletilmiştir. Balık etine antioksidan uygulanması Kenar ve ark. (2010) yöntemine göre yapılmıştır. Muamele grupları için filetolar, UV ışını altında steril edilen 10 g defne veya mersin ekstraktı içeren 1L saf su içerisinde 4 dakika süresince bekletilmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.4. Yılan balığı filetolarına antioksidan uygulaması

Tüm gruplar için, her bir paket içerisinde 3 balık filetosu olacak şekilde, balık filetoları 90 µm kalınlığında polyamid bazlı paketlerde (Polinas, Manisa, Turkey) vakum paketlenme makinası (Reepack RV50, Italy) ile paketlenmiştir (Resim 3.5). Vakum paketlenen filetolar  $4\pm 1$  °C'de depolanmıştır. Balık örnekleri depolamanın 0, 4, 8, 12, 16, 20 ve 24. günlerinde analize alınmıştır. Çalışmada veriler her analiz gününde her bir grup için 3 tekerrürlü olacak şekilde 3 farklı paket kullanılarak elde edilmiştir.



Resim 3.5. Yılan balığı filetoalarının vakum paketlenmesi

### 3.2.5 Besin Değerleri Analizi

#### 3.2.5.1 Ham Protein Analizi

Ham protein analizleri Kjeldahl metoduna (AOAC, 1998) göre yapılmıştır. Kjeldahl tüpleri içerisindeki 1 g homojenize edilmiş örnek üzerine, 2 adet kjeldahl tablet (Merck, TP826558) ve 20 ml  $H_2SO_4$  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.

$$N = \frac{14.01 \times (A-B) \times M \times 100}{g \times 10} \quad (3,2,5,1)$$

$$\% \text{ Protein} = \%N \times 6.25$$

**A:** Örnek için sarf edilen HCl miktarı

**B:** Kör için sarf edilen HCl miktarı

**M:** Asit molaritesi

**g:** Örnek miktarı

### 3.2.5.2. 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<sub>2</sub> solüsyonundan eklenerek süzme kağıdından (Scliecher&Schuell, 595<sup>1/2</sup> 185 mm) süzülen örnekler, 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan balon jöjelere 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.

$$\text{Lipit miktarı (\%)} = \frac{[\text{Balon Darası(g)} + \text{Lipit(g)}] - [\text{Balon Darası (g)}] \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (3,2,5,2)$$

### 3.2.5.3 Ham Kül Analizi

Ham kül analizinde kullanılan porselen krozeler ilk önce 103 °C’de 2 saat süreyle etüvde kurutulup daha sonra desikatörde soğutulduktan sonra 0.1 mg duyarlı hassas terazide daraları alınmıştır. Krozeler 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 (Mattissek ve ark., 1989). Örneğe ait % ham kül sonuçları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Kül (\%)} = \frac{[\text{Dara (g)} + \text{Ham Kül(g)}] - \text{Dara(g)} \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (3,2,5,3)$$

### 3.2.5.4. Nem Analizi

Nem analizi Ludorf ve Meyer (1973)’in uyguladığı yöntem esas alınarak yapılmıştır. Petri kutuları 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 petrilere 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.

$$\% \text{Nem miktarı} = \frac{\text{İlk Tartım} - \text{Son Tartım} \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (3,2,5,4)$$

### 3.2.5.5. Yağ Asitleri Tayini

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 santüfuj edilmiş ve heptan tabakası GC'de (Resim 3.6) analiz için alınmıştır. Çizelge 3.2 gaz kromatografisi koşullarını vermektedir.



Resim 3.6. Gaz Kromatografisi genel görünümü

Çizelge 3.2. Gaz Kromatografisi Koşulları

<b>Cihaz</b>	Perkin Elmer Clarus 500(GC)
<b>Kolon</b>	SGE kolunu(30 m. 0,32mm ID.BPX20 0,25um, USA)
<b>Kolon Sıcaklığı</b>	140 °C'de 5 dk, 4°C/dk artışla 200 °C'ye, 1 °C/dk artışla 220 °C'ye getirilerek sonlandırıldı.
<b>Enjeksiyon Sıcaklığı</b>	220 °C
<b>Taşıyıcı Gaz</b>	16psi
<b>Split Oranı</b>	1:100
<b>Dedektör</b>	Alev iyonizasyon dedektörü (FID)
<b>Dedektör Sıcaklığı</b>	280 °C
<b>Örnek Miktarı</b>	2µl

Yağ asitleri standartı 37 bileşenden oluşan FAME 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).

### 3.2.6 Kimyasal Kalite Analizleri

#### 3.2.6.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini

Antonocopoulos (1973)'ün uyguladığı yönteme 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 Taşiro 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 HCl asit ile mevcut rengin pembemsi renge döndüğü noktaya kadar titre edilmiştir. TVB-N miktarının hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{TVB-N mg/100g} = \frac{\text{Harcanan 0.1 N Asit Miktarı (ml)} \times 1.4 \times 100}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (3,2,5,6)$$

#### 3.2.6.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Tayini

Tarladgis ve ark. (1960)'nın uyguladığı yönteme 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 edilinceye 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).

### 3.2.6.3. 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 birkaçla 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 (AOAS, 1994).

$$\text{Peroksit Sayısı} = \frac{2(C-B)}{W} \text{ meq O}_2/\text{kg} \quad (3,2,5,7)$$

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

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

**W:** Örnek Ağırlığı



#### 3.2.6.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi

Önceden ekstrakte edilmiş lipitten 0.5g örnek tartılarak, dietileter:ethanol (25:25 ml oranında) içerisinde nötrale edilmiştir. Daha sonra bu dietileter:ethanol 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 (AOAS, 1994).

$$\% \text{ Serbest Yağ Asiti} = (C-B) \times 2.805 / w \quad (3.2.5.8)$$

**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

#### 3.2.6.7. pH Analizi

Balık etindeki pH değişimleri Santos ve ark. (1981) 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.

#### 3.2.7. Duyusal Analiz

##### 3.2.7.1. Çiğ Yılan Balığındaki Duyusal Analiz

Balığın çiğ olarak duyusal değerlendirilmesi, Bonilla (2007) tarafından morina balığı için önerilen modifiye edilmiş Kalite İndeks Metoduna (QIM) göre yapılmıştır. Her değerlendirme minimum 6 deneyimli panelist tarafından yürütülmüştür. QIM şeması toplam 13 puan olmak üzere 7 parametreden oluşmaktadır (Çizelge 3.3). 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 3.3 Modifiye edilmiş kalite indeks metodu (Bonilla, 2007)

Kalite parametreleri		Tanımlama	Kontrol	Defne	Mersin
Et	Tekstür	Sert	0	0	0
		Hafif yumuşak	1	1	1
		Çok yumuşak	2	2	2
	Su	Su sızıntısı yok	0	0	0
		Su sızıntısı var	1	1	1
	Kan	Açık kırmızı	0	0	0
		Mat kırmızı	1	1	1
		Koyu kahverengi	2	2	2
	Koku	Taze ve nötral	0	0	0
		Yosunumsu	1	1	1
		Ekşimiş süt	2	2	2
		Asetik ve amonyak kokusu	3	3	3
	Renk	Beyaz ve kahverengi	0	0	0
		Sarımsı ve koyu kahverengi	1	1	1
	Parlaklık	Saydam	0	0	0
		Mat	1	1	1
	Parçalanma durumu	Yok	0	0	0
		Hafif parçalanmış	1	1	1
		Biraz parçalanmış	2	2	2
		Yoğun parçalanmış	3	3	3

Bu balık filetosunu satın alırmıydınız?

Evet

Hayır

### 3.2.7.2. Pişmiş Yılan Balığındaki Duyusal Analiz

Pişmiş yılan balığı filetosunun duyusal değerlendirilmesi (Paulus ve ark., 1979) hedonik skalaya göre yapılmıştır (Çizelge 3. 4). Pişmiş yılan balığı filetoları, deneyimli 6 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Duyusal özellikler 9'dan  $\geq 3$ 'e kadar olan tanımlayıcı kriterler ile değerlendirmiştir. 9 tamamen taze balığı,  $\geq 3$  ise

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

Çizelge 3.4. Pişmiş yılan balığı için kullanılan hedonoik skala

	9 Çok iyi	8 Oldukça İyi	7 İyi	6 Biraz İyi	5 Yorumsuz	4 Biraz kötü	3 Kötü	2 Oldukça Kötü	1 Çok kötü
Renk									
Koku									
Lezzet									
Doku Yapısı									
Genel Kabul Edilebilirlik									

### 3.2.8. Mikrobiyolojik Analiz

#### 3.2.8.1. Toplam Bakteri Sayımı

Toplam mezofilik ve psikrofil bakteri sayımı (standart koloni sayımı), petri yüzeyine yayma metodu (ICMSF, 1982) 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 PCA (Plate Count agar) 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 10 gün inkübe edilmiştir. Sonrasında petri kutularında oluşan kolonilere bakılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır.

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

$$\text{Koloni oluşturan birim sayısı (kob/g)} = \frac{\text{Koloni sayısı} \times \text{Seyreltme faktörü}}{\text{Aşılama miktarı}} \quad (3,2,8,2)$$

### 3.2.8.2. Koliform Bakteriler

Toplam koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA, Oxoid, CM0107) ile çift katlı dökme plak yöntemi (FDA, 1998) kullanılmıştır. Uygun dilasyon 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.

### 3.2.9 İstatistik Analizler

Araştırmanın sonunda elde edilen veriler SPSS 13.0 paket programı kullanılarak kontrol, defne ve mersin ekstraktı uygulanan gruplar arasındaki zamana bağlı değişimler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir (Duncan 1955). Ayrıca bazı veriler standart sapma kullanılarak değerlendirilmiştir.



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

##### 4.1. Uçucu Yağ Bileşenleri

Çalışmada kullanılan defne ve mersin bitkisi ekstraktlarının uçucu yağ bileşenleri sırasıyla Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir. Defne bitkisi ekstraktından 31 bileşen belirlenmiőt olup, ana bileşenler sırasıyla 1.8-cineol (%29.60), delta-terpinyl acetate (%18.16), alpha-terpineol (%11.75) ve 4-terpineol (%10.38) olmuştur. Yoshida (1979), ince tabaka kromatografik analizinde defne yaprak uçucu yağ bileşenleri ve oranları linalool % 25-30, lineol % 18-24, eugenol 16-20, linalyl acetate % 14-16,  $\alpha$ -terpineol % 10-12,  $\beta$ - pinen %6-7 olarak tespit etmiştir.

Çizelge 4.1. Defne ekstraktının uçucu yağ bileşenleri

GELİŞ ZAMANLARI	% DEĞER	BİLEŞENLER
14.99	0.24	4-CARENE
15.54	2.67	ALPHA.-PINENE
17.97	2.30	BETA.-PHELLANDRENE
18.34	2.09	BETA.-PINENE
19.24	0.63	BETA-MYRCENE
19.87	0.11	DELTA-3-CARENE
20.36	0.46	ALFA-TERPINENE
21.06	3.81	CYMOL
21.74	29.60	1.8-CINEOL
23.71	0.42	GAMMA-TERPINENE
24.68	0.85	ALFA-TERPINOLENE
26.10	0.30	LINALOOL
26.97	0.13	CIS -SABINENE HYDRATE
27.08	0.43	LINALYL-3-METHYLBUTANOATE
28.44	0.17	CHRYSANTHENE
28.72	10.38	4-TERPINEOL
29.50	11.75	ALPHA.-TERPINEOL
29.67	1.36	P-MENTHA-1,5-DIEN-8-ol
30.86	0.69	TRANS-P-MENTHA-1(7),8-DIEN-2-OL
32.36	0.39	ENDOBORNYL ACETATE
33.35	1.10	TERPINYL ACETATE
34.74	18.16	DELTA.-TERPINYL ACETATE
35.41	2.78	EUGENOL
36.97	4.64	METHYL EUGENOL
38.25	0.29	BETA-SELINENE
38.72	0.73	CINNAMYL ACETATE
39.43	0.44	GAMMA-HIMACHALENE
39.55	0.20	ALPHA-HELMISCAPENE
40.06	0.49	GAMMA.-CADINENE
42.75	1.31	CARYOPHYLLENE OXIDE
45.06	1.06	BETA.-EUDESMOL

Mersin bitkisi ekstraktından 16 farklı bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden başlıcaları eucalyptol (%48.68) ve alpha-pinene (32.56) olmuştur. Mersin bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağlarının ana bileşenlerinin 1,8-sineol, linalool, miyrtetil asetat,  $\alpha$ -pinen ve miyrtetil olduğu rapor edilmiştir (Özek ve ark., 2000; Özcan ve Chalchat, 2004).

Çizelge 4.2. Mersin bitkisi ekstraktının uçucu yağ bileşenleri

GELİŞ ZAMANLARI	%DEĞER	BİLEŞENLER
15.54	32.56	ALPHA.-PINENE
20.96	5.24	DL-LIMONENE
21.61	48.68	EUCALYPTOL
22.40	0.22	GAMMA-TERPINENE
23.63	0.13	ALPHA-HUMULENE
24.60	0.84	LINALOOL
27.06	0.11	TRANS-PINOCARVEOL
28.25	0.11	DELTA-TERPINEOL
28.51	0.39	4-TERPINEOL
29.31	5.69	ALPHA TERPINEOL
29.51	0.47	MYRTENOL
31.17	1.89	GERANIOL
34.51	2.85	1-P-MENTHEN-8-YL ACETATE
36.89	0.26	CARYOPHYLLENE
40.47	0.29	DUROHYDROQUINONE
42.70	0.26	BERGAMOTENE

#### 4.2. Besin Değerleri

Araştırmada kullanılan yılan balığı filetosunun temel besin madde değerleri Çizelge 4.3’de verilmiştir. Araştırma sonucunda ham protein, lipit, nem ve ham kül oranlar sırasıyla % 15.79, %, 19.95, % 62.74 ve % 1.41 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Araştırmada kullanılan taze yılan balığı filetosunun temel besin değerleri

Besin değerleri	(%)
Ham Protein	15.79 <sup>x</sup> ±0.41 <sup>y</sup>
Lipid	19.95±1.20
Nem	62.74±2.33
Ham Kül	1.41±0.07

x= ortalama,y=standart sapma

Özoğul ve ark. (2005),yapılan çalışmada yılan balığı için biraz daha yüksek protein (%17.5) ve lipit (%20.86) değeri bulmuşlardır. Ekanayake ve ark. (2005) taze



yılan balığının (*Anguilla anguilla*) protein, yağ ve nem içeriğinin sırasıyla %19.10, %31.50 ve %56.20 olduğunu belirtmişlerdir. Vishwanath ve ark (1998) taze yılan balığı için (*Monopterus albus*) daha düşük düzeyde lipit (%10.74) rapor etmiştir. Toku (2005) oldukça yüksek miktarda lipit (%69.35) ve protein (%29.07) düzeyi bulmuşlardır. Özoğul ve ark. (2006) yılan balığının donmuş depolama süresince protein ve yağ içeriğinin sırasıyla %18.08-19.64 ve %19.03-24.45 arasında değişkenlik gösterdiğini rapor etmiştir. Balığın besin kompozisyonu, avlandığı mevsime, bölgeye, balık büyüklüğüne cinsiyete ve diyeteye göre değişkenlik göstermektedir (FAO, 2001).

#### 4.2.1. Yağ asitleri

Antioksidan ekstraktı ilaveli ve soğukta depolanan yılan balıklarının başlangıç ve depolama süresince belirlenen yağ asitleri kompozisyonu Çizelge 4.4'de verilmiştir. Doymuş yağ asitleri (SFA) arasında en yüksek orana sahip yağ asitleri depolama süresince tüm gruplarda myristik (C14:0), palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) olduğu bulunmuştur. Depolama boyunca tüm grupların SFA değerleri depolama süresince artma göstermiştir. Depolamanın 0. gününde %30,76 olan SFA değeri, depolamanın 20. gününde kontrol grubunda % 38.14, defne grubunda %37.44, mersin grubunda ise %35.49 olarak bulunmuştur.

Toplam tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), kontrol ve muamele gruplarında depolama boyunca azalış ve artışlar göstermiştir. Kontrol ve muamele gruplarında (defne ve mersin) en yüksek değerde olan tekli doymamış yağ asitleri palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), ve C18:1n7 olmuştur. Tüm grupların MUFA değeri 0.günde %34.16 iken, depolama boyunca MUFA miktarı artmış olup, 8. depolama gününde (defne grubu dışında) düşme gözlenmiştir. Depolama sonunda mersin grubu en düşük (%36.87) MUFA içeren grup olmuştur.

Çizelge 4.4 Yılan Balığının Yağ asidi Profili

Yağ asitleri	Depolama süresi (Gün)						Gruplar
	0	4	8	12	16	20	
C14:0	3.67 ± 0.03	2.71±0.29	2.89±0.15	2.99±0.35	3.23±0.06	4.55±0.15	Kontrol
	-	2.35±0.01	3.39±0.12	3.00±0.77	2.52±0.11	2.29±0.25	Defne
	-	2.45±0.65	2.43±0.08	3.16±0.50	2.89±0.04	3.01±0.69	Mersin
C16:0	20.10±0.16	19.47±0.29	18.49±1.16	20.96±0.91	25.07±0.49	24.40±1.58	Kontrol
	-	20.98±1.17	21.02±0.38	22.94±0.08	24.50±0.71	26.08±1.13	Defne
	-	20.91±0.52	21.46±5.24	20.40±0.62	20.67±0.37	22.84±0.30	Mersin
C17:0	0.24±0.01	0.13±0.01	0.39±0.01	0.44±0.05	0.79±0.04	0.81±0.04	Kontrol
	-	0.82±0.08	0.73±0.10	0.62±0.01	0.64±0.04	0.77±0.23	Defne
	-	0.50±0.01	0.73±0.25	0.72±0.11	0.60±0.00	0.63±0.02	Mersin
C18:0	4.29±0.16	4.28±1.14	6.15±0.54	6.24±0.64	6.05±0.76	6.45±0.09	Kontrol
	-	4.31±0.13	4.34±1.26	4.71±0.79	5.30±0.42	6.81±0.78	Defne
	-	4.52±0.35	5.87±1.12	5.06±0.01	5.99±0.06	7.43±0.01	Mersin
C20:0	1.76±0.06	2.66±0.45	2.12±0.04	0.47±0.16	0.46±0.04	1.94±0.24	Kontrol
	-	1.36±0.25	1.87±0.11	0.20±0.02	1.06±0.12	1.50±0.28	Defne
	-	0.90±0.01	0.91±0.28	2.79±0.32	2.23±0.04	1.60±0.13	Mersin
C22:0	0.29±0.02	-	-	-	-	-	Kontrol
	-	-	-	-	-	-	Defne
	-	-	-	-	-	-	Mersin
C24:0	0.42±0.00	-	-	-	-	-	Kontrol
	-	-	-	-	-	-	Defne
	-	-	-	-	-	-	Mersin
<b>SFA</b>	<b>30.76</b>	<b>29.23</b>	<b>30.02</b>	<b>31.09</b>	<b>35.58</b>	<b>38.14</b>	Kontrol
		<b>29.82</b>	<b>31.35</b>	<b>31.46</b>	<b>34.01</b>	<b>37.44</b>	Defne
		<b>29.27</b>	<b>31.39</b>	<b>32.12</b>	<b>32.37</b>	<b>35.49</b>	Mersin

- : Tespit edilemedi

Çizelge 4.4 Yılan Balığının Yağ asidi Profili (Devamı)

Yağ Asitleri	Depolama süresi (Gün)						Gruplar
	0	4	8	12	16	20	
C14:1	0.11±0.00	1.22±0.22	0.40±0.01	1.34±0.15	0.95±0.01	0.15±0.04	Kontrol
	-	0.37±0.01	1.03±0.06	0.21±0.01	0.2±0.04	0.585±0.19	Defne
	-	0.28±0.01	0.24±0.22	0.61±0.10	0.53±0.02	1.37±0.00	Mersin
C16:1	8.33±0.42	7.58±0.48	6.04±0.01	7.21±0.83	8.58±0.19	7.71±0.22	Kontrol
	-	8.49±0.09	8.33±0.71	9.15±0.11	8.3±0.72	4.765±0.33	Defne
	-	8.79±0.13	7.81±0.48	7.21±0.97	7.26±0.68	6.36±1.05	Mersin
C17:1	-	0.11±0.00	0.14±0.00	0.14±0.02	0.19±0.03	0.19±0.01	Kontrol
	-	0.13±0.03	0.20±0.06	0.15±0.00	0.2±0.01	4.765±0.33	Defne
	-	-	0.15±0.00	0.12±0.01	0.12±0.01	0.20±0.01	Mersin
C18:1n7	3.65±0.13	3.80±0.02	4.33±0.28	4.34±0.06	6.44±0.78	5.18±0.54	Kontrol
	-	5.18±0.35	5.66±0.65	5.86±0.04	5.06±0.42	5.48±0.49	Defne
	-	5.59±0.18	4.56±3.34	4.09±0.57	4.16±0.71	3.71±0.30	Mersin
C18:1n9	20.13±1.34	22.00±1.41	23.35±1.66	22.84±1.80	21.25±0.49	24.75±0.28	Kontrol
	-	19.38±0.33	20.74±0.23	21.15±0.28	23.25±0.49	22.50±2.12	Defne
	-	19.54±0.37	20.75±0.02	22.46±1.75	22.25±0.49	23.03±1.26	Mersin
C20:1	0.43±0.06	0.67±0.11	0.64±0.01	0.72±0.17	0.78±0.07	0.44±0.04	Kontrol
	-	0.74±0.02	0.80±0.05	0.74±0.03	0.66±0.08	0.47±0.01	Defne
	-	0.51±0.01	0.62±0.11	0.64±0.18	0.56±0.00	0.47±0.01	Mersin
C22:1n9	1.52±0.05	0.78±0.11	0.70±0.03	0.80±0.10	0.60±0.02	1.59±0.08	Kontrol
	-	0.89±0.01	0.62±0.05	0.91±0.01	0.49±0.04	1.38±0.34	Defne
	-	0.51±0.02	0.48±0.11	1.20±0.18	0.90±0.01	1.75±0.13	Mersin
C24:1	<b>2.09±0.90</b>	-					Kontrol
	-	-					Defne
	-	-					Mersin
<b>MUFA</b>	<b>34.16</b>	<b>36.14</b>	<b>35.6</b>	<b>37.37</b>	<b>38.78</b>	<b>39.99</b>	Kontrol
	-	<b>35.17</b>	<b>37.37</b>	<b>37.15</b>	<b>38.18</b>	<b>38.08</b>	Defne
	-	<b>35.21</b>	<b>34.59</b>	<b>36.31</b>	<b>35.77</b>	<b>36.87</b>	Mersin

-: Tespit edilemedi

Çizelge 4.4 Yılan Balığının Yağ asidi Profili (Devamı)

Yağ Asitleri	Depolama süresi (Gün)						Gruplar
	0	4	8	12	16	20	
C18:2n6	1.47±0.35	1.16±0.05	2.94±0.00	1.40±0.04	1.30±0.04	1.26±0.18	Kontrol
		1.99±0.08	1.27±0.08	2.60±0.01	2.27±0.29	1.76±0.13	Defne
		1.86±0.11	1.21±0.13	1.27±0.05	1.23±0.06	1.36±0.18	Mersin
C18:3n6	0.33±0.06	0.47±0.04	0.45±0.01	0.40±0.05	0.38±0.01	0.20±0.02	Kontrol
		0.29±0.01	0.24±0.01	0.28±0.00	0.67±0.02	0.38±0.07	Defne
		0.30±0.00	0.56±0.07	0.40±0.04	0.37±0.01	0.44±0.01	Mersin
C18:3n3	0.73±0.24	0.13±0.01	2.65±0.09	0.79±0.08	1.17±0.04	0.43±0.01	Kontrol
		1.93±0.03	1.09±0.16	1.85±0.01	1.49±0.16	0.11±0.20	Defne
		1.31±0.05	2.17±0.20	0.65±0.11	0.60±0.04	0.13±0.00	Mersin
C20:2 cis	2.99±0.30	4.95±0.23	1.83±0.01	1.77±0.24	1.36±0.28	1.49±0.52	Kontrol
		3.46±0.67	2.55±0.55	2.73±0.00	1.82±0.05	1.79±0.30	Defne
		1.81±0.04	1.65±0.30	1.37±0.33	1.86±0.00	1.91±0.11	Mersin
C20:3 n6	0.18±0.04	0.16±0.00	0.36±0.06	0.17±0.04	0.23±0.04	0.15±0.00	Kontrol
		0.29±0.01	0.21±0.04	0.38±0.01	0.51±0.04	0.22±0.01	Defne
		0.36±0.01	0.47±0.01	0.18±0.01	0.15±0.00	0.17±0.00	Mersin
C20:4 n6	0.77±0.06	0.50±0.01	0.44±0.02	0.31±0.05	0.35±0.01	0.46±0.00	Kontrol
		1.93±0.03	1.34±0.03	0.49±0.00	0.84±0.05	0.36±0.06	Defne
		0.77±0.03	0.76±0.06	1.54±0.38	1.70±0.28	1.10±0.14	Mersin
C20:5n3	3.31±0.03	1.95±0.03	2.05±0.01	2.31±0.92	2.42±0.025	1.85±0.01	Kontrol
		3.06±0.74	3.17±0.15	2.52±0.03	2.06±0.04	1.70±0.32	Defne
		3.58±0.13	2.63±0.39	2.63±0.26	2.47±0.13	2.06±0.07	Mersin
C22:2 cis	3.30±0.10	1.24±0.04	1.53±0.04	1.61±0.21	1.53±0.03	1.31±0.04	Kontrol
		2.40±0.03	2.49±0.10	2.47±0.02	2.59±0.15	1.64±0.30	Defne
		2.77±0.08	2.31±0.30	2.74±0.28	2.06±0.28	1.07±0.17	Mersin
C22:6 n3	12.22±1.14	14.78±2.11	13.00±1.41	10.44±0.62	9.69±0.44	10.62±1.05	Kontrol
		10.55±0.64	11.99±0.01	9.50±0.71	10.00±1.41	10.86±0.18	Defne
		13.50±0.19	12.41±0.15	13.10±1.21	12.70±0.42	12.19±1.12	Mersin
PUFA	<b>25.29</b>	<b>25.31</b>	<b>25.22</b>	<b>19.17</b>	<b>18.42</b>	<b>17.75</b>	Kontrol
	-	<b>25.89</b>	<b>24.33</b>	<b>22.81</b>	<b>22.22</b>	<b>19.79</b>	Defne
	-	<b>26.24</b>	<b>24.15</b>	<b>23.86</b>	<b>23.12</b>	<b>20.43</b>	Mersin

-: Tespit edilemedi

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), depolama sonunda tüm gruplarda azalış göstermiştir. Depolama sonunda en düşük PUFA içeriğine sahip grup kontrol grubu olmuştur (%17.75). Başlangıç PUFA değeri (%25.29) depolama sonunda azalış göstererek kontrol grubu için 17.75, defne ve mersin grubu için sırasıyla %19.79 ve %20.43'e düşmüştür. Mersin bitkisi başta olmak üzere kullanılan ekstraktlar depolama sonundaki PUFA içeriğini kontrol grubuna göre daha iyi koruduğu gözlenmiştir.

Tüm gruplarda oransal olarak en yüksek düzeyde bulunan PUFA'lar eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5 $\omega$ 3) ve dekosaheksaenoik asit (DHA, C22:6 $\omega$ 3) tir. Deniz balıkları lipitlerinde genellikle düşük düzeyde linoleik asit (C18:2 $\omega$ 6) ve linolenik asit (C18:3 $\omega$ 3) bulunmasına karşın, yüksek düzeyde uzun zincirli n-3 çoklu doymamış (PUFA) yağ asiti bulunmaktadır (Steffens, 1997). Özoğul ve ark. (2008) 34 deniz balığının yağ asidi kompozisyonunu araştırdıkları çalışmada deniz balıklarının linoleik asit (C18:2 $\omega$ 6) ve linolenik asiti (C18:3 $\omega$ 3) az miktarda içerdiklerini bulmuşlardır. Yağ asidi kompozisyonları tür, mevsim, cinsiyet, yaş, yakalanılan coğrafi bölge gibi faktörlerden dolayı büyük farklılıklar gösterebilmektedirler (Saito ve ark. 1999; Ackman, 1989).

Uçak ve ark. (2011)'de uskumru burgerlerinin PUFA değerleri depolama başlangıcında kontrol, %0,4 ve 0,8 biberiye ilaveli gruplarda sırasıyla %42.20, %42.55 ve %43.82 olarak bulunmuştur. Depolama sonunda kontrol ve %0,4 biberiyeli gruplarda PUFA değerleri düşüş gösterirken, %0,8 biberiye ilaveli grupta artış gözlenmiştir. Bu artışın yüksek konsantrasyonda kullanılan (%0.8) biberiyenin depolama boyunca PUFA yağ asitlerini oksidasyona karşı koruduğu ve bozulmalarını önlediği düşünülmektedir.

Serdaroğlu ve Felekoğlu (2003), biberiye ve soğan ekstresi uygulanan sardalya filetosundaki SFA ve PUFA değerlerinin sırasıyla %32.17-42.1 ve %43.81-32.78 arasında değişkenlik gösterdiğini ve yağ asitleri kompozisyonları arasında önemli bir değişim olmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bulgularımızı desteklemektedir.

Kenar (2009), doğal antioksidanların (biberiye ve adaçayı) vakum paketlenen sardalya filetosu üzerindeki etkisini araştırmıştır. Kontrol grubunun depolama boyunca yağ asitlerindeki değişimine bakıldığında depolama süresince doymuş yağ asitlerinin (SFA) %29.09-32.28, tekli doymamış yağ asitlerinin (MUFA) % 19.19-21.36 ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) %22.10-28.62 arasında değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Biberiye grubu kontrol grubuyla benzerlik gösterirken adaçayı grubu oranlarının yüksek olduğu ve en iyi etkiyi adaçayının gösterdiği saptanmıştır.

### 4.3. Duyusal Değerlendirme

#### 4.3.1. Çiğ Yılan Balığının Duyusal Değerlendirilmesi

Yılan balığının soğuk depolanması süresince çiğ duyusal değerlendirilmesi Çizelge 4.5’de verilmiştir. Depolama süresince balık etinde önemli duyusal değişimler gözlenmiş olup ( $p<0.05$ ), duyusal puanlar depolama süresi ile artışlar göstermiştir. Başta mersin bitkisi olmak üzere ekstrakt uygulaması balığın raf ömründe önemli etkiye sahip olmuştur.

Çizelge 4.5. Çiğ yılan balığının duyusal değişimleri

Depolama günleri	Duyusal Puanlar		
	Kontrol	Defne	Mersin Bitkisi
0	2.27±0.23	2.27±0.23	2.27±0.23
4	4.00±0.32a	2.92±0.20b	2.42±0.18c
8	5.67±0.52a	4.17±0.41b	2.50±0.13c
12	10.67±1.21a	7.67±0.52b	6.42±0.49c
16	10.83±0.75a	8.67±0.82b	7.00±0.63c
20	11.17±0.26a	10.17±0.98b	7.17±0.68c
24	11.17±0.75a	10.58±0.49a	8.17±0.75b

\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ( $p<0.05$ ).

En yüksek duyusal puanlar kontrol grubu için gözlenirken, mersin ekstraktı balığın duyusal özelliklerini korumada en yüksek etkiye sahip olmuştur. Ekstrakt uygulaması balığın raf ömrünü 4-8 gün uzatmıştır. Vakum paketlenen soğuk depolanan yılan balığının raf ömrü kontrol için 12 gün, defne ve mersin ekstraktı uygulanan grup için sırasıyla 16 ve 20 gün olmuştur. Balığın ret edildiği bu depolama günlerinde duyusal puanlar sırasıyla 10.67, 8.67 ve 7.17 olmuştur. Bu

değerler depolama sonunda kontrol için 11.17, defne ve mersin ekstraktı uygulanan gruplar için sırasıyla 10.58 ve 8.17 olmuştur.

Özoğul ve ark. (2005), buzda ve buzsuz kutularda soğuk depolanan yılan balığı için sırasıyla 12–14 ve 5–7 gün bir raf ömrü rapor etmişlerdir. Erkan ve ark. (2010), buzda depolama süresince kekik ve defne esansiyel yağı uygulanan lüferin (*Pomatomus saltatrix*) duyu kalitesinin arttığı ve kontrol örneklerine kıyasla 3-4 gün daha uzun raf ömrüne sahip olmuştur. Kenar ve ark. (2010) adaçayı ve biberiye ekstraktı uygulanan vakum paketlenmiş sardalyaların raf ömrününün 20 gün olduğu kontrol grubunun ise 13 gün raf ömrüne sahip olduğunu bulmuşlardır. Özyurt ve ark. (2011a) sade buzda ve %0.05 and %0.1 biberiye ekstraktı içeren buzda depolanan sardalyanın raf ömrünü sırasıyla 12 gün ve 15 gün olarak belirlemişlerdir.  $4 \pm 1$  °C’de depolanan vakum paketlenmiş sardalyaların raf ömrü kontrol için 13 gün, %1 ve %2 biberiye ekstraktı uygulanan balıklar için ise sırasıyla 17 ve 20 gün olmuştur (Özoğul ve ark. 2010). Harpaz ve ark. (2003) 0 ile 2 °C’de depolanan %0.05 kekik ile muamele edilen levreğin (*Lates calcarifer*) kontrol grubuna kıyasla daha uzun bir raf ömrüne sahip olduğunu (>33) rapor etmişlerdir.

#### 4.3.2. Pişmiş Yılan Balığının Duyusal Değerlendirilmesi

Çizelge 4.6 pişmiş yılan balığının duyu değişimlerini göstermektedir. Depolama süresince pişmiş balığın duyu özelliklerinde önemli değişimler kaydedilmiştir ( $p<0.05$ ). Renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlik bakımından gruplar arasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) gözlenmiştir. Renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlik bakımından en yüksek düşüşler kontrol grubunda kaydedilirken, mersin bitkisi ekstraktı uygulanan yılan balıkları en yüksek duyu puanına sahip grup olmuştur. Renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlikte başlangıç duyu puanları sırasıyla 8.29, 8.43, 8.71, 8.86 ve 8.71 olup depolamanın 12. gününde genel kabul edilebilirlik açısından kontrol grubu diğer gruplardan ayrılmış ve tüketilemez dereceye inmiştir. Raf ömrü defne ekstraktı uygulanan gruplar için 16. gün mersin bitkisi ekstraktı uygulanan gruplar için ise 20. gün olarak tespit edilmiştir. Genel kabul edilebilirlik bakımından depolama süresince

mersin en yüksek duyuşsal puana sahip grup olup, panelistler tarafından en çok tercih edilen grup olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Pişmiş yılan balığının duyuşsal değişimleri

Depolama Günleri	Renk	Koku	Lezzet	Doku Yapısı	Genel Kabul	
					Edilebilirlik	Gruplar
0	8.29±0.76a*	8.43±0.53a	8.71±0.39a	8.86±0.38a	8.71±0.43a	-
4	7.00±0.00c	6.83±0.41c	7.00±0.00c	7.33±0.52b	7.33±0.52b	Kontrol
	7.67±0.52b	8.17±0.26b	8.17±0.27b	8.17±0.41a	8.17±0.41a	Defne
	8.67±0.52a	8.67±0.43a	8.83±0.41a	8.50±0.41a	8.67±0.41a	Mersin
8	6.20±0.45b	4.80±0.35c	5.20±0.45c	6.00±0.00b	5.00±0.00c	Kontrol
	6.60±0.55ab	6.60 ±0.55b	6.00±0.00b	6.40±0.90b	6.40±0.60b	Defne
	7.20±0.27a	7.40±0.55a	7.20±0.31a	7.40±0.55a	7.40±0.55a	Mersin
12	4.50±0.45c	3.43±0.35b	2.86±0.27c	4.00±0.58b	3.50±0.32b	Kontrol
	5.71±0.49b	6.00±0.00a	5.29±0.49b	6.14±0.38a	5.67±0.52ab	Defne
	6.57±0.53a	6.43±0.53a	5.86±0.38a	6.43±0.53a	6.00±0.00a	Mersin
16	2.5±0.13b	1.83±0.19c	1.80±0.15c	2.00±0.28b	1.50±0.00c	Kontrol
	2.83±0.26b	2.33±0.26b	2.17±0.26b	2.33±0.26b	2.18±0.21b	Defne
	4.83±0.41a	4.50±0.32a	3.83±0.29a	4.17±0.41a	3.33±0.41a	Mersin
20	5.33±0.13a	1.50±0.13c	1.00±0.00b	2.33±0.52b	1.50±0.00b	Kontrol
	5.50±0.45a	1.83±0.19b	1.17±0.14b	2.50±0.32ab	1.83±0.15a	Defne
	5.83±0.26a	2.00±0.00a	1.83±0.20a	2.83±0.26a	1.83±0.19a	Mersin
24	2.8±0.27b	1.4±0.22b	1.4±0.14b	3.40±0.22ba	1.50±0.35b	Kontrol
	3.60±0.42a	2.00±0.00a	2.00±0.00a	3.40±0.26b	1.80±0.19a	Defne
	3.80±0.27a	2.20±0.27a	2.00±0.00a	3.70±0.27a	2.00±0.00a	Mersin

\*Aynı sütunda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05).

Bu çalışmaya benzer olarak, diğer çalışmalarda da antioksidan uygulamasının balığın renk, koku, tekstür ve genel kabul edilebilirliğinde önemli artışlar sağladığı rapor edilmiştir (Özoğul ve ark., 2010; Kenar ve ark., 2010; Özyurt ve ark. 2011a).



#### 4.4. Kimyasal Değerlendirme

##### 4.4.1. Toplam Uçucu Bazik Azot

Çizelge 4.7. vakum paketlenen yılan balığının TVB-N değerindeki değişimleri göstermektedir. Yeni avlanan balıktaki TVB-N değeri genellikle 5 ve 20 mg/100 g olarak bilinmektedir (Connel, 1995). Mevcut çalışmada, depolama başlangıcında TVB-N değeri 6.5 mg/100 g olarak bulunmuştur. Depolama süresince balık etinde TVB-N bakımından önemli değişimler gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Çizelge 4.7. Yılan balığının soğuk depolanması süresince TVB-N değerindeki değişimleri (mg/100g)

Depolama Süresi (gün)	Mersin		
	Kontrol	Defne	Bitkisi
0	6.50±0.37	6.50±0.37	6.50±0.37
4	10.46±0.04ab	8.36±0.02c	9.75±0.03
8	13.72±0.41a	10.47±0.03b	9.78±0.01c
12	27.36±0.81a	12.57±0.03c	15.35±0.04b
16	27.88±0.06a	20.92±0.05b	18.35±0.37c
20	69.96±7.41a	19.49±0.05c	29.27±0.12b
24	43.21±3.05a	33.17±0.46b	29.31±0.08c

\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ( $p<0.05$ ).

Çeşitli çalışmalarda yılan balığı (Özoğul ve ark. 2005), mezgit (Perez-Villarreal & Howgate, 1987) ve sardalya (Ababouch ve ark., 1996; Özoğul ve ark., 2004, Ozogul ve ark., 2010; Özyurt ve ark., 2011a) için TVB-N değerinin iyi bir tazelik indikatörü sağladığı rapor edilmiştir. Biberiye ve adaçayı gibi doğal antimikrobiyal ve antioksidanların balık kasında düşük amonyak birikimine sebep olduğunu belirtmişlerdir (Kenar ve ark. 2010).

Yine, Özyurt ve ark. (2011a) biberiye ekstraktı içeren buzda depolanan sardalya ile ekstrakt içermeyen buzda depolanan örnekler arasında depolama süresince TVB-N bakımından önemli farklılıklar gözlenmediğini belirtmişlerdir.

EEC (1995) balık ve balık ürünlerinde maksimum izin verilen TVB-N limitini 35 mg/100 g olarak belirtmiştir. Bu değere ekstrakt uygulanan hiçbir grupta ulaşılmaz iken, kontrol grubunda bu değer depolamanın 20 gününden itibaren aşılmıştır. TVB-N değeri balığın duyusal olarak ret edildiği depolamanın 12 gününde kontrol için 27.36 mg/100 g, depolamanın 16. gününde defne ekstraktı uygulanan grupta 20.92mg/100 g ve depolamanın 20. gününde mersin ekstraktı uygulanan grup için 29.27 mg/100g olmuştur. Depolama sonunda TVB-N değerleri kontrol, defne ve mersin uygulanan grup için sırasıyla 43.21, 33.17 ve 29.31 mg/100 g. Olarak belirlenmiştir. Selmi ve Sadok (2008) ton balığındaki başlangıç TVB-N seviyesinin 11.69 mg/100 g olduğunu ve soğuk depolama süresince bu değer kontrol ve kekik uygulanan ton balığında 35 mg/100 g'ın altında kaldığını rapor etmiştir. Kenar ve ark. (2010) biberiye ve adaçayı uygulanan vakum paketlenmiş soğuk depolanan sardalyalarda TVB-N değerlerinin depolamanın 10. gününe kadar dalgalanma gösterdiği ve sonrasında kademeli artışlar sergilediğini gözlemlemişlerdir. Depolama sonunda en düşük TVB-N değerleri biberiye (29.26 mg/100 g) ve adaçayı ekstraktı (31.04 mg/100g) uygulanan gruplarda gözlenmiştir (Kenar ve ark., 2010). Özoğul ve ark. (2005) buzda ve buzsuz kutularda buzdolabı koşullarında depolanan yılan balıklarının TVB-N değerinin depolama başlangıcında 6.96 mg/100 g olduğunu bu değer depolama sonunda (19. gün) 19,3 mg TVB-N/100 g ve 103 mg TVB-N/100 g'a ulaşmıştır. Mevcut çalışmada defne ve mersin bitkisi ekstraktının ,TVB-N oluşumunu kontrol grubuna göre önemli derecede yavaşlattığı bulunmuştur.

#### 4.4.2. Tiyobarbitürük Asit Sayısı

Soğuk depolanan yılan balıklarının depolama süresince ortaya çıkan TBA değişimleri Çizelge 4.8'de verilmiştir. TBA lipid oksidasyonu derecesini belirlemede yaygın olarak kullanılan bir kimyasal indekstir (Sallam ve ark., 2007). Nishimoto ve ark. (1985), uskumru balığında 4 mg malonaldehit (MA)/kg TBA değerine sahip

balığın iyi kalitede, 27 mg MA/kg TBA değerine sahip balığın ise düşük kalitede olduğunu belirtmiştir.

Çizelge 4.8. Yılan balığının soğuk depolanması süresince TBA değerindeki değişimleri

Depolama Süresi gün	TBA değerleri (mg malonaldehit/kg±standart sapma)		
	Kontrol	Defne	Mersin Bitkisi
0	0.40±0.01	0.40±0.01	0.40±0.01
4	1.34±0.05a*	1.18±0.03b	1.06±0.02c
8	0.66±0.03b	1.17±0.02a	0.46±0.01c
12	0.69±0.03b	0.93±0.03a	0.66±0.02b
16	0.65±0.03b	0.69±0.03a	0.53±0.02c
20	0.53±0.02b	0.72±0.01a	0.48±0.01c
24	0.38±0.02b	0.48±0.02a	0.40±0.03b

\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05).

Nunes ve ark. (1992) ise yeni yakalanmış balıktaki TBA konsantrasyonunun 3 ve 5 mg MDA/kg arasında olduğunu ancak 5-8 mg MDA/kg TBA değerlerini buzda depolanan balık için kabul edilebilir limit olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada yılan balığındaki başlangıç TBA değeri 0.40 mg MA/kg olup, depolama süresince bu değer tüm gruplarda 1.5 mg MA/kg'ın altında kalmıştır. Buzda ve buzsuz kutularda soğuk depolanan yılan balığı için de oldukça düşük TBA değerleri (<0.2 mg MA/kg) rapor edilmiştir (Özoğul ve ark., 2005). Yılan balığının başlangıç TBA değerinin 0.085 mgMA/kg olduğu ve donmuş depolama (-20 °C) sonunda (40 hafta) 0.7696 mg MA/kg maksimum değere ulaştığı rapor edilmiştir (Özoğul ve ark., 2006). Hinneburg ve ark. (2006) defnenin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bu nedenle sentetik antioksidanlara alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Ancak mevcut çalışmada, depolamanın 4. gününde en yüksek TBA değeri kontrol grubunda

gözlenirken, diğer depolama günlerinde en yüksek TBA değerleri defne uygulanan gruplarda gözlenmiştir. Chryssavgi ve ark. (2008) mersin bitkisinin yüksek monoterpen yüzdesine (80.9–85.7%) sahip fenolik bileşikleri içerdiği ve çok güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Tironi ve ark. (2009), soğuk depolanan som balığına (*Pseudopercis semifasciata*) 200 veya 500 ppm biberiye ekstraktı katkısının ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu önemli düzeyde engellediğini bulmuşlardır. Özyurt ve ark. (2011a) sardalyanın başlangıç TBA değerinin düşük olduğunu (0.19 mg MA/kg) ve buzda depolama süresince kontrol grubunda 6.55 mg MA/kg 'a ulaştığını belirtmişlerdir. Biberiye ekstraktı uygulanan (%0.05 ve %0.1) buzda depolanan sardalyaların depolama süresince sade buzda depolanan örneklerle kıyasla daha düşük TBA değerlerine (<5.4 mg MA/kg) sahip olduğu görülmüştür. Kenar ve ark. (2010) vakum paketlenen  $3 \pm 1$  °C'de depolanan sardalyalarda kontrole kıyasla %1 biberiye ekstraktı uygulanan grupların daha düşük TBA değerlerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Özyurt ve ark. (2011b) farklı yöntemlerle (kızartma, fırın ve ızgara) pişirilen ve biberiye ekstraktı (20 g/l) ile muamele edilen dondurulmuş çipuranın kontrol gruplarına kıyasla daha düşük TBA değerlerine sahip olduğunu gözlemişlerdir. Mevcut çalışmada kontrol grubu ile defne ve mersin bitkisi ekstraktlarının uygulandığı balıklarda TBA değerleri açısından dikkat çekici bir farklılığın oluşmadığı görülmektedir.

#### 4.4.3. Peroksit Sayısı

Yağlı balıkların raf ömrü lipit oksidasyonundan dolayı sınırlı olmaktadır. Peroksit sayısı ile hesaplanan hidroperoksitler lipit oksidasyonu sonucu ortaya çıkan ürünlerdir. 5 meq/kg'ın altındaki peroksit sayısı yağların taze olduğunu veya hidroperoksitlerin ketonlara indirgenmediğini, 5 ve 10 meq/kg arasındaki peroksit sayısı ise yağların bozulmaya başladığını göstermektedir (Grace ve ark., 1999). 100 meq/kg seviyesinde peroksit sayısına sahip yağların insanlarda nörotoksik etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Gotoh ve ark., 2006a,b). Çizelge 4.6. vakum paketlenmiş yılan balığının soğuk depolanması süresince peroksit sayısındaki değişimlerini göstermektedir. Depolama süresince peroksit sayısında önemli değişimler

gözlenmiştir. Başlangıç peroksit sayısı 0.72 meq/kg olup, depolama süresince dalgalanmalar göstermiştir. Depolama süresince peroksit sayısı tüm gruplarda 8 meq/kg'ın altında kalmıştır.

Çizelge 4.9. Yılan balığının soğuk depolanması süresince peroksit sayısındaki değişimleri

Depolama süresi (gün)	meqO <sub>2</sub> /kg±standart sapma		
	Kontrol	Defne	Mersin Bitkisi
0	0.72±0.03	0.72±0.03	0.72±0.03
4	1.04±0.02a	1.05±0.02a	0.57±0.05b
8	1.14±0.05a	0.63±0.02b	0.69±0.09b
12	2.41±0.11a	1.75±±0.06b	2.34±0.03a
16	5.76±0.21a	4.47±0.17b	2.17±0.04c
20	3.83±0.10a	4.14±0.29a	3.77±0.07a
24	7.88±0.24a	4.27±0.17c	5.64±0.05b

\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05).

Başlangıç peroksit sayısı barbun için 0.64 meq/kg (Özyurt ve ark. 2009), sardalya için 0.2-27.6 meq/kg (Cho ve ark., 1989;Özoğul ve ark., 2010; Kenar ve ark., 2010;Özyurt ve ark., 2011) olarak belirtilmiştir. Buzda ve buzsuz kutularda soğuk depolanan yılan balığı için başlangıç peroksit sayısının sırasıyla 5.19 ve 5.28 meq/kg olduğu ve peroksit sayısının yılan balığının buzda depolanması süresince dalgalanma gösterdiği rapor edilmiştir. Yılan balığı kasındaki en yüksek peroksit sayısı 19.7 meq/kg ile buzda (15. gün), 21.6 meq/kg ile buzsuz kutularda (12. gün) depolanan yılan balıklarında gözlenmiştir (Özoğul ve ark. 2005). Donmuş depolanan (-20 °C) yılan balığının başlangıç peroksit sayısının 6.81 meq/kg olduğu, depolama süresince dalgalanma gösterdiği ve depolama sonunda (12 ay) 13.20 meq/kg'a ulaştığı bulunmuştur (Özoğul ve ark., 2006).

Amensour ve ark. (2010) mersin bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların diğer bölgelerinde elde edilen ekstraktlara oranla daha yüksek fenolik ve flavonoid içerdiği ve bu nedenle yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar, mersin bitkisinin antioksidan aktivitesinde fenolik

bileşiklerin önemli bir rol oynadığını ve gıdalarda alternatif antioksidan olarak kullanımının mümkün olabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan diğer bazı çalışmalarda biberiye ekstraktının balıklarda daha düşük peroksit sayısına yol açtığı rapor edilmiştir (Da Silva Afonso ve Santana, 2008; Sarkardei ve Howell, 2008; Tironi ve ark., 2009; Özoğul ve ark., 2010; Özyurt ve ark., 2011). Mevcut çalışmada, depolama süresince gruplar arasında peroksit sayısı bakımından da önemli farklılıklar gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). Depolama süresince defne ve mersin bitkisi ekstraktı uygulanan balıklarda peroksit oluşumu, kontrol grubuna göre daha düşük seviyede gerçekleşmiştir. Depolama sonunda peroksit sayısı kontrol, defne ve mersin ekstraktı uygulanan gruplar için sırasıyla 7.88, 4.27 ve 5.64 meq/kg olmuştur.

#### 4.4.4. Serbest Yağ Asitleri

Gliseritler, glikolipitler ve fosfolipitler lipaz enzimi ile serbest yağ asitlerine (FFA) hidrolize olmakta, sonrasında aldehit ve keton gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin üretimi için oksidasyona uğramaktadır (Hamilton ve ark., 1997). Bu bileşikler balıkta kötü koku, aroma ve tadın oluşumuna yol açmaktadır (Toyomizu ve ark., 1981). Ayrıca, FFA ve oksidasyon ürünleri miyofibriler proteinlerle reaksiyona girmesinden dolayı kas tekstüründe ve fonksiyonunda bir etkiye sahiptir (Pacheco-Aguilar ve ark., 2000). Vakum paketlenmiş yılan balığının soğuk depolanması süresince FFA sayısındaki değişimleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Depolama süresince FFA değerinde önemli değişimler gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Çizelge 4.10. Yılan balığının soğuk depolanması süresince FFA sayısındaki değişimleri

Depolama süresi (gün)	(% oleik asit±Standart sapma)		
	Kontrol	Defne	Mersin bitkisi
0	0.44±0.03	0.44±0.03	0.44±0.03
4	0.66±0.06a	0.67±0.02a	0.66±0.04a
8	1.04±0.05a	0.61±0.03c	0.77±0.05b
12	1.12±0.14a	0.66±0.05b	0.60±0.06b
16	1.39±0.11a	1.37±0.05a	0.89±0.06b
20	1.44±0.18a	1.77±0.06a	1.33±0.48a
24	2.03±0.17a	1.84±0.19a	1.46±0.06b

\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05).

Başlangıç FFA değeri 0.44 (% oleik asit) olup, FFA değerinde depolama süresince genellikle artışlar gözlenmiştir. Özogul ve ark. (2005) yılan balığının tazelik kaybı ile FFA sayısı arasında bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, buzda ve buzsuz kutularda soğuk depolanan yılan balığının başlangıç FFA değerinin sırasıyla 0.59 ve 0.57 olduğu ve depolama sonunda bu değerlerin 1.79 ve 1.60'a ulaştığı gözlenmiştir (Özogul ve ark., 2005). Donmuş yılan balıklarının başlangıç FFA değerinin (0.88) donmuş depolamanın 8. ayına kadar 2.14 'e ulaştığı bulunmuştur. Ancak depolama sonunda (12. ay) bu değer 1.82'e düştüğü gözlenmiştir (Özogul ve ark., 2006).

Defne ekstraktı uygulaması depolamanın 8. ve 12. günü dışında FFA değerinde istatistiksel olarak herhangi bir etkiye sahip olmamıştır. Benzer sonuçlar biberiye ekstraktı içeren buzda depolanan sardalyalar için rapor edilmiştir (Özyurt ve ark., 2011). Depolamanın 8. gününde en düşük FFA değeri defne ekstraktı uygulanan grupta gözlenirken, mersin bitkisi ekstraktı depolamanın 4. ve 20. günü dışında en düşük FFA sayısına sahip grup olmuştur. Maksimum FFA sayısı depolama sonunda gözlenmiş olup, kontrol, defne ve mersi ekstraktı uygulanan gruplarda sırasıyla 2.03, 1.84 ve 1.46 olarak bulunmuştur. Özoğul ve ark. (2010) sardalya etindeki başlangıç

FFA değerinin 2.88 olduğunu, depolama sonunda ise bu değer kontrol grubu için 7.23, %1 biberiye ekstraktı uygulanan grup için 5.98 ve %2 biberiye ekstraktı uygulanan grup için 6.13'e ulaştığını kaydetmişlerdir. Bu çalışmada lipit hidrolizinin biberiye ekstraktı uygulanan grupta daha düşük oranda geliştiği gözlenmiştir. Kenar ve ark. (2010) vakum paketlenen sardalya için başlangıç FFA değerinin 2.72 olduğunu rapor etmişlerdir. Kontrol grubu ile biberiye ve adaçayı uygulanan gruplar arasında depolamanın 13. gününe kadar herhangi bir önemli değişim gözlenmediği ancak depolama sonunda en düşük FFA değerlerinin biberiye ve adaçayı uygulanan gruplarda olduğu bulunmuştur. Mevcut çalışmada ise defne ve mersin bitkisi ekstraktlarının uygulamalarının 8,16.ve 24.günlerinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha düşük FFA oluşumuna neden olduğu bulunmuştur.

#### 4.4.5. pH Değeri

Post-mortem aşamasındaki balığın pH'sı mevsime, türe ve diğer faktörlere bağlı olarak 6.0 ile 7.1 arasında değişkenlik göstermektedir (Simeonidou ve ark., 1998). Yılan balığının başlangıç pH değeri 6.4 olmuştur (Çizelge 4.11). Bu durum yılan balığının başlangıçta iyi durumda olduğunu göstermektedir. Buzda ve buzsuz kutularda depolanan yılan balığı için biraz daha düşük başlangıç (1. gün) pH değeri rapor edilmiştir (sırasıyla 6.03 ve 6.09). Buzda depolanan yılan balığının pH değerinde depolama süresince artışlar gözlenirken, buzsuz koşullarda soğuk depolanan yılan balığının pH değeri depolamanın 5. gününde düşüş gösterirken (6.04) depolama sonunda (12. Gün) 6.65'e ulaşmıştır (Özoğul ve ark., 2005). Yılan balığının pH değerinin (0. gün 6.15) 4 aylık donmuş depolama sonrasında azaldığı (6.03) ve donmuş depolamanın 10. ayına kadar artış gösterdiği (6.22) bulunmuştur. Depolama sonunda (12. ay) ise bu değer 6.16'a düşmüştür (Özoğul ve ark., 2006)



Çizelge 4.11.Yılan balığının soğuk depolanması süresince pH değerindeki değişimleri

Depolama süresi	Kontrol	Defne	Mersin
0	6.40±0.05	6.40±0.05	6.40±0.05
4	6.37±0.03a*	6.32±0.01a	6.36±0.04a
8	6.26±0.02 ab	6.20±0.06b	6.27±0.01a
12	6.24±0.04a	6.17±0.01b	6.21±0.02ab
16	6.32±0.01a	6.27±0.04ab	6.22±0.01b
20	6.16±0.23a	6.10±0.07a	6.22±0.04a
24	6.38±0.06b	6.43±0.06ab	6.52±0.05a

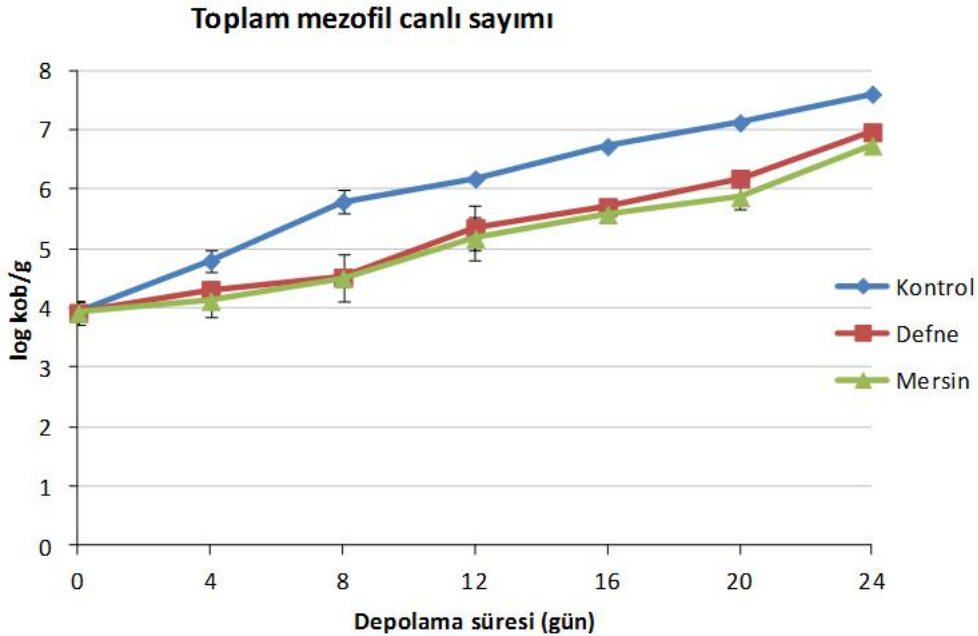
\*Aynı satırda farklı harflerle (a-c) belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05).

Bu çalışmada, depolama süresince pH'da önemli değişimler gözlenmiş olup (p<0.05), depolama süresince dalgalanmalar bulunmasına karşın genellikle pH'da düşüşler gözlenmiştir. En düşük pH değerleri defne (6.10) uygulanan grup ve kontrol grubunda (6.16) depolamanın 20. gününde gözlenirken, depolama sonunda mersin ve defne uygulanan grupların pH değerinde artışlar olduğu gözlenmiştir (sırasıyla 6.52 ve 6.43). Depolama süresince pH değerlerindeki artışın balık kasının bozulması süresince başlıca mikrobiyal faaliyetlerden ortaya çıkan amonyak gibi alkalik bileşiklerin birikiminden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Campos ve ark., 2005; Erkan ve ark., 2010; Özyurt ve ark., 2011). Özyurt ve ark., (2011) sardalyanın başlangıç pH değerinin 6.46 olduğunu ve depolama süresince pH değerinde hafif artışlar gözlendiğini bulmuşlardır. Ancak depolamanın 12. gününde biberiye ekstraktı uygulanan buzda depolanan balıkların kontrol grubuna oranla daha düşük pH değerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

#### 4.5. Mikrobiyolojik Değişimler

##### 4.5.1. Toplam Aerobik Mezofil Bakteri (TAMB) Sayısı

Şekil 4.1. yılan balığındaki toplam aerobik mezofilik canlı sayımını göstermektedir. Yılan balığının başlangıç TAMB sayısı 3.92 log kob/g olmuştur. TAMB sayısı depolama süresine bağlı olarak artışlar göstermiş olup, en yüksek artış kontrol grubunda gözlenmiştir.



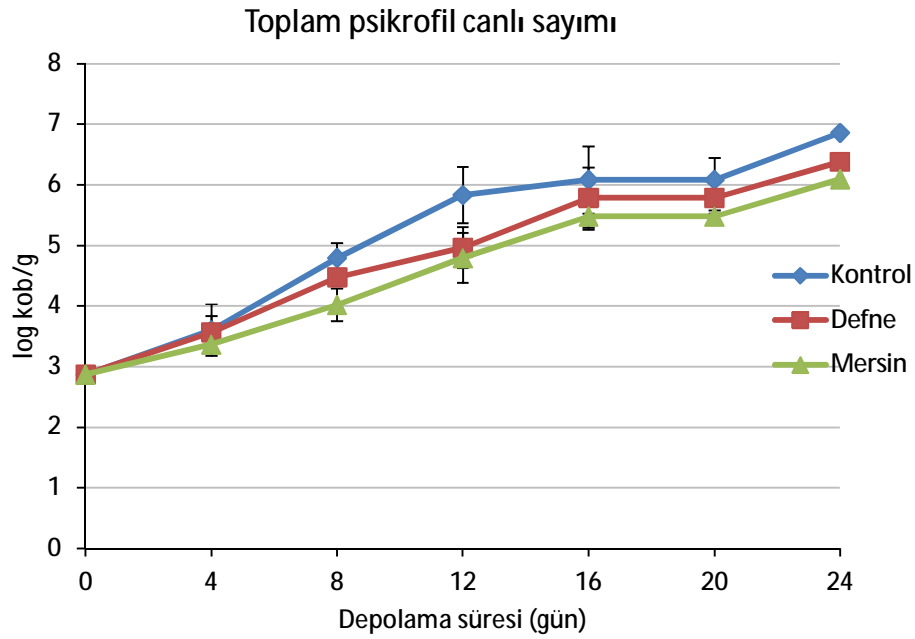
Şekil 4.1. Yılan balığının soğuk depolanması süresince TAMB sayısındaki değişimler

Çeşitli çalışmalarda defne bitkisinin esansiyel yağı, tohum yağı ve tohum yağının metanolik ekstraktının antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Dadalioglu ve Evrendilek, 2004; Simic ve ark., 2004; Özcan ve ark., 2010). Başta mersin bitkisi ekstraktı olmak üzere kullanılan ekstraktlar bakteri gelişimini önemli düzeyde azaltmıştır. Balığın duyusal olarak red edildiği depolama günlerinde yılan balığındaki TAMB sayısı kontrol için 6.17 log kob/g (12. gün), defne ekstraktı uygulanan grup için 5.70 log kob/g (16. gün) ve mersin ekstraktı uygulanan grup için 5.86 log kob/g (20. gün) olmuştur. ICMSF (1986) tarafından 7 log kob/g olarak

önerilen mikrobiyolojik limite hiçbir muamele grubunda ulaşamaz iken, kontrol grubu için depolamanın 20. gününde ulaşılmıştır. Depolama sonunda TAMB sayısı kontrol için 7.60 log kob/g, defne ekstraktı uygulanan grup için 6.96 log kob/g ve mersin bitkisi ekstraktı uygulanan grup için 6.74 log kob/g'a ulaşmıştır. Mejlholm ve Dalgaard (2002) kekik yağının *Photobacterium phosphoreum* gelişiminde antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve morina filetosunun raf ömrünü uzattığını rapor etmişlerdir. Sacchetti ve ark. (2005) biberiye ekstraktının mikroorganizma gelişimini kontrol etmede etkili olduğunu rapor etmiştir. Kenar ve ark. (2010) sardalya filetosundaki mikrobiyal gelişimi azaltmada adaçayının biberiyeye oranla daha az etkili olduğunu bildirmiştir. Bu araştırmacılar sardalya etindeki toplam mezofilik canlı sayımının 4.2 log kob/ g olduğunu ve 20 günlük soğuk depolama sonunda kontrol grubu için 9.3, %1 biberiye ekstraktı ile muamele edilen gruplar için 8.8 ve %1 adaçayı ile muamele edilen gruplar için ise 9.2 log kob/ g' a ulaştığını rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada depolama süresince mersin ekstraktının defne ekstraktına kıyasla biraz daha yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmüştür.

#### 4.5.2. Toplam Aerobik Psikrofil Bakteri (TAPB) Sayısı

Psikrofil bakteriler, koku ve tekstür gibi duyuşal özelliklerde değişimlere yol açması, keton, aldehit, uçucu sülfid ve biyojenik amin gibi farklı metabolikleri üretmesi bakımından önemli bir yere sahiptir (Safari ve Yosefian, 2006). Şekil 4.2 yılan balığının depolanması süresince toplam aerobik psikrofil bakteri (TAPB) sayısındaki değişimleri göstermektedir. Başlangıç psikrofil sayısı 2.87 log kob/g olup, depolama süresince kademeli artışlar sergilemiştir. 7 log kob/ g olarak önerilen mikrobiyolojik limite (ICMSF 1986) depolama süresince hiçbir grupta rastlanmamıştır. Depolama süresince en yüksek TAPB miktarı kontrol grubunda gözlenmiştir. Mersin ve bunu takiben defne ekstraktının psikrofil bakteri gelişimini önemli düzeyde engellediği bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Yılan balığı duyuşal olarak ret edildiği zaman, TAPB sayısı kontrol için 5.83 log kob/g, defne ekstraktı uygulanan grup için 5.78 log kob/g ve mersin bitkisi uygulanan grup için 5.47 log kob/g'a ulaşmıştır.



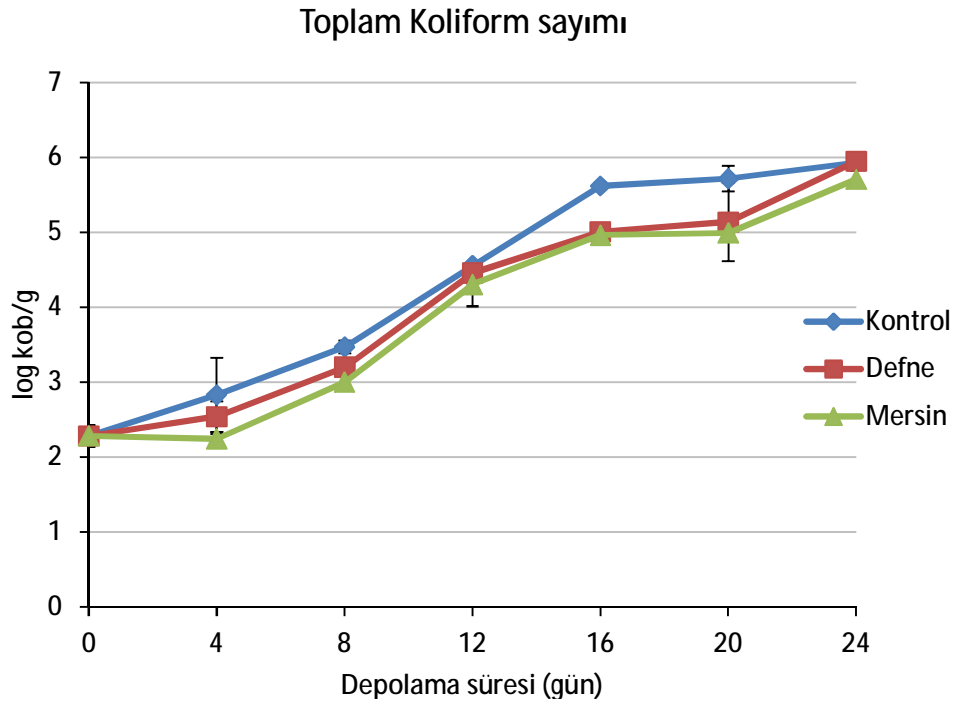
Şekil 4.2. Yılan balığının soğuk depolanması süresince TAPB sayısındaki değişimler

Erkan (2010) vakum paketlenmiş sıcak tütülenen gökkuşağı alabalığına kekik ve sarımsak yağı katkısının psikrofil bakteri gelişimini kontrol grubuna kıyasla düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, başlangıç TAPB sayısı kontrol, kekik ve sarımsak yağı uygulanan gökkuşağı alabalığında 2.88 log kob/g'ın altında olup, 7 haftalık depolama sonunda sırasıyla 7.47, 7.18 ve 6.90 log kob/g maksimum değere ulaştığı bildirilmiştir.

#### 4.5.3. Toplam Koliform Sayısı

Yılan balığındaki toplam aerobik Enterobacteriaceae sayısı Şekil 4.3'de verilmiştir. Yılan balığının başlangıçta Enterobacteriaceae sayısı 2.28 log kob/g olmuştur. Toplam koliform sayısı depolama süresine bağlı olarak kademeli artışlar göstermiş olup, en yüksek artış kontrol grubunda gözlenmiştir. Yılan balığındaki bakteriyel yükün mersin bitkisi ekstraktı ve defne ekstraktı katkısıyla azaldığı bulunmuştur.

Çeşitli çalışmalarda mersin bitkisi yaprağı yağının *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*'u içeren *Enterobacteriaceae* üyelerine, *Lactobacillus spp.*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkiler gösterdiği bulunmuştur (Bouzouita ve ark., 2003; Sağdıç ve ark., 2003; Gündüz ve ark., 2009).



Şekil 4.3. Yılan balığının soğuk depolanması süresince koliform sayısındaki değişimler

Depolama süresince en yüksek koliform sayısı depolama sonunda gözlenmiş olup, kontrol, defne ve mersin bitkisi ekstraktı uygulanan gruplar için sırasıyla 5.93, 5.92 ve 5.71 log kob/g olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmaya benzer olarak, Özoğul ve ark. (2008) buzda ve 4 °C'de depolanan lagosun (*Epinephelus aeneus*) başlangıç koliform miktarının 2.8 log kob/g olduğunu ve bu değerin depolama süresince 6 log kob/g'dan daha düşük düzeyde kaldığını bulmuştur.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, mersin ve defneden solvent ekstraksiyon yöntemiyle doğal antioksidanların üretilmesi ve üretilen antioksidanların yılan balığı filetosuna uygulanması ile balık filetosu üzerindeki duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda belirtildiği şekilde sıra ile verilmiştir.

1. Araştırmamızda defne ve mersin bitkilerinden su buharı distilasyonu ile elde edilen başlıca uçucu yağ bileşenleri, defne için 1.8-cineol (%29.60), delta-terpinyl acetate (%18.16), alpha-terpineol (%11.75) ve 4-terpineol (%10.38), mersin bitkisi için ise eucalyptol (%48.68) ve alpha-pinene (32.56) olmuştur.
2. Araştırmamızda yılan balığı filetosundaki protein, lipit, nem ve ham kül oranı sırasıyla % 15.79, %, 19.95, % 62.74 ve % 1.41 olarak bulunmuştur.
3. Çiğ olarak değerlendirilen yılan balığının depolanması süresince duyuşal puanlarında artışlar gözlenmiştir. Başta mersin bitkisi olmak üzere ekstrakt uygulaması balığın raf ömründe önemli etkiye sahip olmuştur. En yüksek duyuşal puanlar kontrol grubu için gözlenirken, mersin ekstraktı balığın duyuşal özelliklerini korumada en yüksek etkiye sahip olmuştur. Vakum paketlenen ve soğuk depolanan yılan balığının raf ömrü kontrol için 12 gün, defne ve mersin ekstraktı uygulanan grup için sırasıyla 16 ve 20 gün olmuştur. Balığın ret edildiği bu depolama günlerinde duyuşal puanlar sırasıyla 10.67, 8.67 ve 7.17 olmuştur.
4. Depolama süresince pişmiş balığın duyuşal özelliklerinde önemli değişimler kaydedilmiştir. Renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlik bakımından en yüksek düşüşler kontrol grubunda kaydedilirken, mersin ekstraktı uygulanan yılan balıkları en yüksek duyuşal puana sahip grup olmuştur. Renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlikte başlangıç duyuşal puanlar sırasıyla 8.29, 8.43, 8.71, 8.86 ve 8.71 olup bu değerler depolama sonunda kontrol grubunda sırasıyla 2.8, 1.4, 1.4, 3.40 ve 1.50 olarak belirlenmiştir.

5. Bu çalışmada, depolama başlangıcında TVB-N değeri 6.5 mg/100 g olarak bulunmuştur. Depolamanın 24. ve 20 gününde sırasıyla kontrol ve defne ile muamele edilen grup dışında TVB-N değeri depolama süresi ile artışlar göstermiştir. Defne ve mersin ekstraktı uygulaması TVB-N değerinde önemli düşümlere yol açmıştır. TVB-N değeri balığın duyusal olarak ret edildiği depolamanın 12 gününde kontrol için 27.36 mg/100 g, depolamanın 16. gününde defne ekstraktı uygulanan grupta 20.92mg/100 g ve depolamanın 20. gününde mersin ekstraktı uygulanan grup için 29.27 mg/100g olmuştur.
6. Araştırmamız sonucunda yılan balığındaki başlangıç TBA değeri 0.40 mg MA/kg olup, depolama süresince bu değer tüm gruplarda 1.5 mg MA/kg'ın altında kalmıştır. En yüksek TBA değeri, depolamanın 4. gününde kontrol grubunda gözlenirken, diğer depolama günlerinde en yüksek TBA değerleri defne uygulanan gruplarda gözlenmiştir. Mersin bitkisi ekstraktı balıktaki lipit oksidasyonunu önemli düzeyde düşürmüş olup, depolama süresince en düşük TBA değerleri (24. gün dışında) mersin ekstraktı uygulanan gruplarda gözlenmiştir.
7. Depolama süresince gruplar arasında peroksit sayısı bakımından da önemli farklılıklar gözlenmiştir Başlangıç peroksit sayısı 0.72 meq/kg olup, depolama süresince dalgalanmalar göstermiştir. Depolama süresince peroksit sayısı tüm gruplarda 8 meq/kg'ın altında kalmıştır. Depolamanın 20. günü dışında başta mersin olmak üzere ekstrakt uygulaması peroksit sayısını önemli düzeyde düşürmüştür.
8. Başlangıç FFA değeri 0.44 (% oleik asit) olup, FFA değerinde depolama süresince genellikle artışlar gözlenmiştir. Defne ekstraktı uygulaması depolamanın 8. ve 12. günü dışında FFA değerinde istatistiksel olarak herhangi bir etkiye sahip olmamıştır. Depolamanın 8. gününde en düşük FFA değeri defne ekstraktı uygulanan grupta gözlenirken, mersin ekstraktı depolamanın 4. ve 20. günü dışında en düşük FFA sayısına sahip grup olmuştur. Maksimum FFA sayısı depolama sonunda gözlenmiş olup, kontrol, defne ve mersi ekstraktı uygulanan gruplarda sırasıyla 2.03, 1.84 ve 1.46 olarak bulunmuştur.

9. Yılan balığının başlangıç pH değeri 6.4 olmuştur. Depolama süresince pH'da önemli değişimler gözlenmiş olup, depolama süresince dalgalanmalar bulunmasına karşın genellikle pH'da düşüşler gözlenmiştir. En düşük pH değerleri defne (6.10) uygulanan grup ve kontrol grubunda (6.16) depolamanın 20. gününde gözlenirken, depolama sonunda mersin ve defne uygulanan grupların pH değerinde artışlar olduğu gözlenmiştir (sırasıyla 6.52 ve 6.43).
10. Yılan balığının başlangıç TAMB sayısı 3.92 log kob/g olmuştur. TAMB sayısı depolama süresine bağlı olarak artışlar göstermiş olup, en yüksek artış kontrol grubunda gözlenmiştir. Başta mersin bitkisi ekstraktı olmak üzere kullanılan ekstraktlar bakteri gelişimini önemli düzeyde azaltmıştır. Balığın duyuşal olarak red edildiği depolama günlerinde yılan balığındaki TAMB sayısı kontrol için 6.17 log kob/g (12. gün), defne ekstraktı uygulanan grup için 5.70 log kob/g (16. gün) ve mersin ekstraktı uygulanan grup için 5.86 log kob/g (20. gün) olmuştur. 7 log kob/g olarak önerilen mikrobiyolojik limite hiçbir muamele grubunda ulaşamaz iken, kontrol grubu için depolamanın 20. gününde ulaşılmıştır.
11. Başlangıç psikrofil sayısı 2.87 log kob/g olup, depolama süresince kademeli artışlar sergilemiştir. 7 log kob/g olarak önerilen mikrobiyolojik limite depolama süresince hiçbir grupta rastlanmamıştır. Yılan balığı duyuşal olarak ret edildiği zaman, TAPB sayısı kontrol için 5.83 log kob/g, defne ekstraktı uygulanan grup için 5.78 log kob/g ve mersin bitkisi uygulanan grup için 5.47 log kob/g'a ulaşmıştır.
12. Yılan balığının başlangıç Enterobacteriaceae sayısı 2.28 log kob/g olmuştur. Toplam koliform sayısı depolama süresine bağlı olarak kademeli artışlar göstermiş olup, en yüksek artış kontrol grubunda gözlenmiştir. Yılan balığındaki bakteriyel yükün mersin bitkisi ekstraktı ve defne ekstraktı katkısıyla azaldığı bulunmuştur. Depolama süresince en yüksek koliform sayısı depolama sonunda gözlenmiş olup, kontrol, defne ve mersin bitkisi ekstraktı uygulanan gruplar için sırasıyla 5.93, 5.92 ve 5.71 log kob/g olarak kaydedilmiştir.



Bu çalışmada, mersin ve defne solvent ekstraksiyon yöntemiyle doğal antioksidanların üretilmesi ve üretilen bu antioksidanların yılan balığı filetosuna uygulanması ile balık filetosu üzerindeki duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimleri araştırılmıştır. Çalışmada mersin ekstraktı uygulanan gruplar dışında toplama uçucu bazik azot (TVB-N), tiyobarbitürik asit (TBA), peroksit sayısı PV ve serbest yağ asitleri (FFA) değerleri depolama süresi ile dalgalanma sergiledikleri için buzdolabında depolanan yılan balığı filetolarında iyi bir tazelik göstergesi olmamıştır. Kontrol grubuna göre başta mersin ekstraktı olmak üzere bitki ekstraktı ile muamele edilen grupların soğukta depolanan vakum paketlenmiş yılan balığı filetolarının raf ömrünü uzatmada etkili oldukları ve 4-8 gün daha fazla raf ömrü sağladıkları görülmüştür. Mersin bitkisi ekstraktının yılan balığı filetolarında depolama süresince genellikle antioksidan etki gösterdiği ancak defne ekstraktının balık etinde kontrole kıyasla prooksidan etki yarattığı gözlenmiştir. Kullanılan her iki ekstrakt bakteriyel gelişimini engellediğinden dolayı yılan balığı kasında TVB-N oluşumunda önemli düşümlere yol açmıştır. Kontrol grubuna göre defne ve mersin ekstraktları ile muamele edilen gruplarda daha düşük TAMB, TAPB ve toplam koliform bakteri sayısının gözlenmesi başta mersin olmak üzere bu bitki ekstraktlarının yılan balığı etinde alternatif antibakteriyel katkı maddesi olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak yılan balığı filetoları panelistler tarafından duyusal olarak kontrol grubunda 12. gün, defne ve mersin grubunda 16. ve 20. günde reddedilmiştir.

Yılan balığı filetosunda defne ve mersin bitki ekstraktlarının yararlı etkilerinin gözlenmesinden dolayı ileriye yönelik daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu çalışmada vakum paketlenme sistemi kullanıldığından dolayı ileriye yönelik çalışmalarda başta ekstraktların antioksidan etkisini belirlemede normal ve farklı atmosfer koşullarının denenmesinde yarar vardır. Ayrıca mersin bitkisinin ve defnenin balık bozucu mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi için daha spesifik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Mvcut çalışmada her iki ekstrakt için tek konsantrasyon (%1) kullanılmıştır. Sonraki çalışmalarda farklı konsantrasyonlar kullanılarak balık ve balık ürünlerinde en etkili ve uygun dozun belirlenmesi önemlidir. Özellikle mersin bitkisinin balık ve balık

ürünlerinde kullanımına yönelik yetersiz çalışmalar bulunmasından dolayı bu bitki ile balık ve balık ürünlerinin muhafazasına yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- ABABOUCHE, L. H., SOUIBRI, L., RHALIBY, K., OUADHÍ, O., BATTAL, M., & BUSTA, F. F. 1996. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperatures. *Food Microbiology*, 13:123–132.
- AHN, H. S., JEON T.I., LEE, J.Y., HWANG, S.G., LIM, Y., PARK, D. K. 2002. Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: In vivo and in vitro. *Nutrition Research*, 22: 1265-1273.
- AKGUL, A., BAYRAK, A. 1989. Essential oil content and composition of myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves. *Doğa TU Tar ve Or. D.*, 13-: 143–147.
- AKGUL, A., KIVANÇ, M. 1988. Bazı yerli baharatların antimikrobiyal özellikleri: Adaçayı, çemenotu, ihlamur, mersin, sumak. In: I. Ulusal Biyoteknoloji Sempozyumu, 5-7 Eylül 1988, Ankara.
- AL-BANDAK, G., TSIRONI, T., TAOUKIS, P. & OREOPOULOU, V. (2009). Antimicrobial and antioxidant activity of *Majorana syriaca* in Yellowfin tuna. *International Journal of Food Science & Technology*, 44: 373–379.
- AL-KALALDEH, J. Z. ABU-DAHAB, R. AFIFI F. U. (2010). Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research* 30: 271–278
- AMENSOUR, M., SENDRA, E., ABRİNİ, J., BOUHDID, S., PÉREZ-ALVAREZ, J.A., FERNÁNDEZ- LÓPEZ, J., 2009. Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Nat. Prod. Commun.* 4 (6): 819–824.
- AMENSOURA, M., SENDRA, E., ABRİNİA, J., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. 2010. Antioxidant activity and total phenolic compounds. *Journal of Food*, 8: 95-101.
- ANONYMOUS, 1991. Fish for food and development Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Strategy and Action programmes for Fisheries, Rome.

- AOAC 1984. Official methods of analysis. 15th Ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemist.
- AYDIN, C., ÖZCAN, M. 2005. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, (in press).
- BARLOW, S.M. 1990. Toxicological Aspects of Antioxidants Used as FoodAdditives. I. Food Antioxidants. New York: Elsevier. pp. 253-307.
- BAYTOP, T. 1984. Treatment with plants in Turkey (Publ. No. 3255). Istanbul, Turkey: Istanbul Univ.
- BAYTOP, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Therapy with Medicinal Plants in Turkey, past and present), second ed. Nobel Tıp Kitapevi.
- BAYTOP, T., 2000. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri. 3. Baskı; 13-31.
- BENIGNI, R., CAPRA, C., CATTORINI, P. E. 1964. Piante Medicinali. Milano: *Inverni Della Beffa*.
- BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E., FAGERSTEDT, K.V. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Annals of Botany*, 91:179-94.
- BOELEN, M.H., JIMENEZ, R. 1991. The chemical composition of Spanish myrtle leaf oils. Part I. *J. Essent. Oil Res.* 3:173-177
- BOUZOUITA, N., NAFTI, A., CHAABOUNI, M.M., LOGNAY, G.C., MARLIER, M., ZGHOULLI, S., THONART, P. 2001. Chemical composition of *Laurus nobilis* oil from Tunisia. *J. Essent. Oil Res.* 13: 116–117.
- BOZKURT, Y., Yaltrık ,F., Özdönmez, M. (1982) Türkiye de Orman Yan Ürünleri, İ.Ü. Orman Fak. Yay.NO: 2845/302, İstanbul.
- CAMPOS, C.A., RODRIGUEZ, O., LOSADA, V., AUBOURG, S.P. & BARROS-VELAZQUEZ, 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: 121–130.

- CHO, S., ENDO, Y., FUJIMOTO, K. & KANEDA, T. (1989). Oxidative deterioration of lipids in salted and dried sardines during storage at 5 C. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 541–544.
- CHRYSSAUGÍ, G., VASSILIKI, P., ATHANASÍOS, M., KIBOURIS, T., MICHAEL, K. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107:1120–1130.
- CHRYSSAUGÍ, G., VASSILIKI, P., ATHANASÍOS, M., KIBOURIS, T., MICHAEL, K. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107:1120–1130.
- CONNELL JJ. 1995. *Control of Fish Quality*. 4th ed. Fishing News Books Limited, London, UK
- DA SILVA AFONSO, M. & SANTANA, L.S. 2008. Effects of pretreatment with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in the prevention of lipid oxidation in salted tilapia fillets. *Journal of Food Quality*, 31:586–595.
- DADALIOGLU, I., EVRENDILEK, G.A. 2004. Chemical composition and antibacterial effect of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutifolium*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*), on common Foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chemistry* 52: 8255-8260.
- DADALIOGLU, I., EVRENDILEK, G.A. 2004. Chemical composition and antibacterial effect of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutifolium*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*), on common Foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chemistry* 52: 8255-8260.
- DAVIS, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 4, Edinburgh, Edinburgh University Press, 1972
- DE WHALLEY, C., RANKIN, S.M., HOULT, J.R.S., JESSUP, W. AND LEAKE, D.S., 1990. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages, *Biochem. Pharm.*, 39 :1743-1750.

- DEAN, L.M. 1990. Nutrition and preparation. p. 255-267 In R.E. Martin, G.J. Flick (eds.), The seafood industry. Chap.16. Published Van Nostrand Reinhold, New York.
- DECKER, E., ELIAS, R., MCCLEMENTS D. J. 2011. Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications: Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity., Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition No. 199.
- DECKER, E.A, WARNER, K., RICHARDS, M.P., SHAHIDI, F. 2005. Measuring Antioxidant Effectiveness in Food. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 4303-10.
- DI LEO LIRA, P. RETTA D., TKACIK, E. RINGUELET, J. COUSSIO, J.D. VAN BARENA, C. BANDONÍ A.L. 2009. Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina, Ind. Crops Prod. 30: 259–264.
- DZIEZAK, J.D. 1986. Preservatives: Antioxidants. Food technol., September, 94:102
- EEC. 1995. Decision 95 / 149 / EC. Total volatile basic nitrogen TVBN limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used. Official Journal, L 097: 84–87.
- EKANAYAKE, P.M, TAE PARK, G., LEE, Y.D, KIM, S.J., JEONG, S.J, LEE, J. 2005. Antioxidant potential of eel (*Anguilla japonica* and *Conger myriaster*) flesh and skin. Journal of Food Lipids 12 : 34–47.
- ELFELLAH, M.S., AKHTER, M.H., KHAN, M.T., 1984. Anti-hyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. J. Ethnopharmacol. 11: 275–281.
- ERCAN, 1983 Defne Yaprağı ve Yağı İhracatının Geliştirilmesi. İhracatı Geliştirme Etüd Merkez , Yay.NO:Ankara.
- ERKAN, N. 2010. The Effect of Thyme and Garlic Oil on the Preservation of Vacuum-Packaged Hot Smoked Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Bioprocess Technol* DOI 10.1007/s11947-010-0412-7.

- ERKAN, N. (2010). The Effect of Thyme and Garlic Oil on the Preservation of Vacuum-Packaged Hot Smoked Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Bioprocess Technol DOI 10.1007/s11947-010-0412-7.
- ERKAN, N., 2003, Verderb von Fisch und Fischwaren- chemische und mikrobiologische Veränderungen und Gefahren, *Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung*, 55: 254-258.
- ERKAN, N., TOSUN, S Y., ULUSOY, S., & URETENER, G. 2010. The use of a thyme and laurel essential oil treatments to extend the shelf life of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) during storage in ice. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. doi:10.1007/ s00003-010-0587-x.
- FOO, L.Y., PORTER, L.J., “The structure of tannins of some edible fruits”, *Journal Science Food Agricultural*, 32: 711–716, 1981.
- GARDELI, C., PAPAGEORGIOU, V., MALLOUCHOS, A., THEODOSIS, K., KOMAITIS, M., 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chem. 107:1120–1130.
- GARG ,S.N., Siddiqui, M.S., Agorwall, S.K., (1992) New Fatty Acid Esters and Hydroxy Ketones from Fruits of *Laurus nobilis*.Journal of Naturel Products. (55: 1315-1319
- GORDON, D.T., V. RATLIFF. 1992. The implications of omega 3 fatty acids in human health. p. 69-98. In G.J. Flick, R.E. Martin (eds.), *Advances in seafood biochemistry composition and quality*, Technomic Publishing Co. Inc.
- GORDON, M.H. 2001. *Measuring Antioxidant Activity Practical Application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. P73-84.
- GORGA, C. 1998. *Quality assurance of seafood*. An avi Book Published by Van Nostrand Reinhold New York.
- 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.



- GOTOH N, WATANABE H, OSATO R, INAGAKI K, IWASAWA A, WADA S. (2006). Novel approach on the risk assessment of oxidized fats and oils for perspectives of food safety and quality. I. Oxidized fats and oils induces neurotoxicity relating pica behavior and hypoactivity. *Food Chem. Toxicol.* 44: 493-498.
- GRACEY J, COLLIMS DS, HUEY R 1999. Meat hygiene, 10th edn. Saunders, Philadelphia, PA, p 407
- GUNDUZ, G.T., GONUL, S.A., KARAPINAR, M. 2009. Efficacy of myrtle oil against *Salmonella Typhimurium* on fresh produce. *International Journal of Food Microbiology* 130 : 147–150.
- OZYURT,G., KULEY, E., BALIKÇI, E., KACAR, C., GOKDOGAN, S., ETYEMEZ, M. AND OZOGUL, 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* (In press).
- HAIGH, R.,1986. “Safety and necessity of antioxidants: EEC approach”, *Food and Chemical Toxicology*, 24,:1031–1036.
- HALL, C. 2001. Sources of Natural Antioxidants: Oilseeds, Nuts, Cereals, Legumes, Animal Products and Microbial Sources. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. pp. 159-209.
- HAMILTON, R.J., KALU, C., PRISK, E., PADLEY, F.B. & PIERCE, H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry*, 60: 193–199.
- HARBORNE , J. B., 1975., MABRY, T.J. (Eds.) *The Flavonoids: Advances in Research*, Chapman and Hall, London.
- HARBORNE , J. B., 1986, in *Plant Flovonoides in Biology and Medicine* (Cody, B., Middleton, E., and Harborne, J. B.,) 15, A. R. Liss, New York.
- 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: 410–417.

- HERTOG, M.G.L., HOLLMAN, P.C.H. AND VAN DE PUTTE, B., 1993, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices, *J. Agr. Food Chem.*, 41: 1242-1246.
- HINNEBURG, I., DORMAN, D., HILTUNEN, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry* 97 : 122–129.
- HUANG, D., OU, B., PRIOR, R.L.. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53: 1841-56.
- HUSS, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper, No: 348. Rome. Istanbul.
- ICMSF. 1986. Microorganisms in Foods. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Societies. Pp. 181–196. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- JOSSE, R., 1987, Food oxidation and its prevention with the use of natural antioxidants, *The First International Symposium on Food Industry "Food Additives"*, 363-382.
- KANG, H., YU, K., JUN, W., CHANG, I., HAN, S., KİM, H., et al. 2002. Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compound from leaves of *Laurus nobilis*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25, 102–108.
- KARAMANOĞLU, K. *Farmasötik Botanik*, A. Ü. Ecz. Fak. Yayınları, 1972
- KARAPINAR, M., 1987 *Bazı Baharat ve Etken Maddelerin Aflotoksin Oluşturan Küflerin Üremesine ve Aflotoksin Oluşumuna Etkileri* Ege Üni. Arş. Fonu Proje no: 10,34 s, İzmir.
- KARPINSKA, M., BOROWSKI, J. & DANOWSKA-OZIEWICZ, M. 2001. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chemistry*, 72:5–9.
- KENAR, M., OZOGUL, F., KULEY, E., 2010. Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *International Journal of Food Science and Technology* 2010, 45: 2366–2372.

- KESKIN, H., ERKMEN G., 1987. Besin Kimyası, Güryay Matbaacılık,. Beşinci basım, İstanbul,
- KYKKIDOU, S., GIATRAKOU, V., PAPAVERGOU, A., KONTOMINAS, M.G. & SAVVAIDIS, I.N. 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 °C. *Food Chemistry*, 115:169–175.
- LACHANCE, P.A., NAKAT, Z., JEONG, W.S., 2001. Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition*, 17: 835-8.
- LAWRENCE, B.M., 2007. Progress in essential oils. *Perfum. Flavor*. 32: 54–62.
- MARCHINI, G., Maccioni, S. 1998. Liguria in parole povere. La bassa Val di Magra. Genova: Sagep. Oğur, R. A research about myrtle tree (*Myrtus communis* L.). *Ecology Journal*, 10: 21–25.
- MCCLURE J.W., (Eds. Cody, V., Middleton, And Harborne, J. B.), Alan R. Liss, 1986., New-York, 77-85,
- MEDINA, I., GALLARDO, J.M. & AUBOURG, S.P. 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:1467–1479.
- MEJLHOLM, O. & DALGAARD, P. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage microorganism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 34: 27–31.
- MILLER, N. J., PAGANGA, G., 1996. “Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids”, *Free Radical Biology & Medicine*, 20: 933-956,
- MONTORO, P., TUBEROSO, C.I.G., PIACENTE, S., PERRONE, A., DE FEO, V., CABRAS, P., PIZZA, C., 2006b. Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41:1614–1619.

- NISHIMOTO J, SUWETJA IK, MIUKI H 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries. Kagoshima University* 34(1):89–96
- NISHINA, A., KUBOTA, K., KAMEOKA, H., OSAWA, T., 1991. “Antioxidizing component, musizin, in *Rumex japonicus* houtt”, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68: 735-739,
- NORREN, K, VAN LEEUWEN, P.A. 2001. Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74: 418-25.
- NUNES, M.L., BATISTA, I. & MORAO DE CAMPOS, R. 1992. Physical, chemical and sensory analysis of Sardine (*Sardine pilchardus*) stored in ice. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 59: 37–43.
- OLAFSDOTTIR, G., MARTÍNSDOTTIR, E., OEHLENSCHLAGER, J., DALGAARD, P. JENSEN, B., UNDELAND, I., MACKIE, I. M., HENEHAN, G., NIELSEN, J., NILSEN, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry, *Trends in Food Science and Technology*, 8: 258-265.
- OZCAN, B., ESEN, M., SANGUN, M.K., COLERI, A., CALISKAN, M. 2010. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology* 31: 637-641.
- OZOGUL, F. & OZOGUL, 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, 574–578.
- OZOGUL, F., KULEY, E., KENAR, M., 2011. Effects of rosemary and sage tea extract on biogenic amines formation of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *International Journal of Food Science and Technology*, 46:761–766
- OZOGUL, F., OZOGUL, Y., KULEY, E. 2008. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4 C). *Food Chemistry*, 108: 933–941.

- OZOGUL, F., POLAT, A. & OZOGUL, 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.
- OZOGUL, Y., AYAS, D., YAZGAN, H., OZOGUL, F., BOGA, E.K., OZYURT, G. 2010. The capability of rosemary extract in preventing oxidation of fish lipid. *International Journal of Food Science and Technology* 45:1717–1723.
- OZOGUL, Y., OZOGUL, F., & GOKBULUT, C. 2006. Quality assessment of wild European eel (*Anguilla anguilla*) stored in ice. *Food Chemistry*, 95: 458–465.
- OZOGUL, Y., OZYURT, G., OZOGUL, F., KULEY, E., & POLAT, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chemistry*, 92: 745–751.
- OZYURT, G., KULEY, E., BALIKCI, E., KACAR, Ç., GOKOGLAN, S., ETYEMEZ, M., OZOGUL, 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 Bioprocess Technol* DOI 10.1007/s11947-011-0586-7.
- OZYURT, G., KULEY, E., OZKUTUK, S., OZOGUL, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry* 114 : 505–510.
- OZYURT, G., OZKUTUK, S., POLAT, A.(2011b). Capability of the rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the oxidative stability of cooked sea bream (*Sparus aurata*) during frozen storage. *J. Verbr. Lebensm.* 6:167–174.
- OZCAN, M., CHALCHAT, J.C. 2004. Effect of collection period on the flavour profiles of the leaves of myrtle tree (*Myrtus communis* L.) growing wild in Turkey. *Research Journal of Chemistry and Environment*.
- OZDEN, O. ve N. GOKOGLU., 1996, Sogukta saklanan sardalya balığının *Sardina pilchardus* (W. 1792) raf ömrünün belirlenmesi, *Gıda Teknolojisi*, 1 (6): 37-42.

- OZEK, T., DEMIRCI, F., BAŞER, K. H. C. 2000. Chemical composition of Turkish myrtle oil. *Journal of Essential Oil Research*, 12: 541–544.
- PACHERO-AGUILAR, R., LUGO-SANCHEZ, M.E. & ROBLES-BURGUENO, M.R. (2000). Post-mortem biochemical and functional characteristics of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Journal of Food Science*, 65: 40–47.
- PARR AJ, BOLWELL GP 2000. Phenols in plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric.* 80: 985-1012.
- PEREZ-VILLARREAL, B., & HOWGATE 1987. Composition of European hake, *Merluccius*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40:347–356.
- PIGOTT, G.M., B.W. TUCKER. 1990. *Seafood effects of technology on nutrition*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- POKORNY, J., KORCZAK, J., 2001. *Preparation of Natural Antioxidants in Food: Practical Application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. pp. 311-41.
- POLAT, O., (1998) Ege Bölgesinde Yetişen Defne Bitkisi (*Laurus nobilis*)'n Yapraklarında Bulununan Esansiyel Yağlardaki Aroma Bileşenlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniv. F.B.E., İzmir
- SACCHETTI, G., MAIETTI, S., MUZZOLI, M., SCAGLIANTI, M., MANFREDINI, S., RADICE, M., ET AL. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91: 621–632.
- SAGDIC, O., KARAHAN, A.G., OZCAN, M., OZKAN, G., 2003. Note: effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International* 9: 353–358.
- SALLAM K, AHMED AM, ELGAZZAR MM, ELDALY EA. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Food Chem.* 102: 1061-1070.

- SARKARDEI, S. & HOWELL, N.K. 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: 309–315.
- SELMİ, S. & SADOK, S. 2008. The Effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus thynnus* (Linnaeus) during chilled storage. Pan-American Journal of Aquatic Science, 3: 36–45.
- SERDAROĞLU, M. ve DENİZ, E.E., 2001, Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Olusumunu Etkileyen Kosullar, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18 (3-4): 575-581.
- 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.
- SIMEONIDOU S, GOVARIS A, VARELTZIS K 1998. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice Food Res Int 30:479–484
- SİMİC M, KUNDAKOVIC T, KOVACEVIĆ N. 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia 74(6):613-616.
- SİMİC, M., KUNDAKOVIC, T., KOVACEVIC, N. 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia 74 (2003): 613–616.
- SUJA K. P., ABRAHAM J. T., THAMİZH S. N., JAYALEKSHMY A. AND ARUMUGHAN C. 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. Food Chemistry, 84: 393-400.
- 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.
- TIAN, L.L., WHITE, P.J., 1994. Antioxidant activity of oat extract in soybean and cottonseed oils. Journal of American Oil Chemists' Society, 71(10): 1079-1086.

- TIRONI, V., TOMAS, M. & ANON, M. 2009. Lipid and protein changes in chilled sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*): effect of previous rosemary extract (*Rossmarinus officinalis* L.) application. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:1254–1262.
- TOKU, T. 2005. Farklı sıcaklık koşullarında, vakumlu ve vakumsuz ortamlarda depolanan yılan balığı (*Anguilla anguilla*, L., 1758) fileto besin madde kompozisyonlarının zamana bağlı olarak değişimleri. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri ABD.
- TORRE, J., LORENZO, M.P., MARTINEZ-ALCAZAR, M.P. and BARBAS, C. 2001. Simple high performance liquid chromatography method for a-tocopherol content. *J. Chromatogr. A* 919: 305–311.
- TOYOMIZU, M., HANAOKA, K., & YAMAGUCHI, K. 1981. Effect of release of free fatty acids by enzymatic hydrolysis of phospholipids on lipid oxidation during storage of fish muscle at 5 C. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47:615–620.
- TSIMOGIANNIS, D., STAVRAKAKI, M., OREOPOULUS, V., 2006, Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*), *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 39-48.
- TUBEROSO, C.I.G., MELIS, M., ANGIÒNÌ, A., PALA, M., CABRAS, P., 2007. Myrtle hydroalcoholic extracts obtained from different selections of *Myrtus communis* L. *Food Chem.* 101: 806–811.
- UNCTAD, World Market in the Spices Trade 2000–2004, UNCTAD, Geneva
- VISHWANATH, W. LILABATI H. AND BIJEN, M. 1998. Biochemical, nutritional and microbiological quality of fresh and smoked mud eel fish *Monopterus albus* – a comparative study. *Food Chemistry*, 61: 153–156.
- WANNES WÌ. A., MHAMDI, B., SRITI, J., JEMIA, M.B., OUCHIKH, O., HAMDAR, G., KCHOUK, M. E., MARZOUK B., 2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower *Food and Chemical Toxicology* 48 :1362–1370



- WARMA, S.D., DEVAMANOCHARAN, P.S., MORRIS, S.M., 1995, *Crit.Rev.Food Sci.Nutr.* 35: 111-129.
- YANISHLIEVA NV, POKOMY J, GORDON, M. 2001. Inhibiting Oxidation in Antioxidants in Food: Practical Applications., CRC press LLC and Woodhead Publishing Ltd, New York, USA, 288s.
- YOSHIDA, T., 1979. On the oil containing issue the essential oil contents and chemical composition of essential oil in laurel leaf (*Laurus nobilis* L.). *Nettai Nogyo*, Vol.23:6-10p

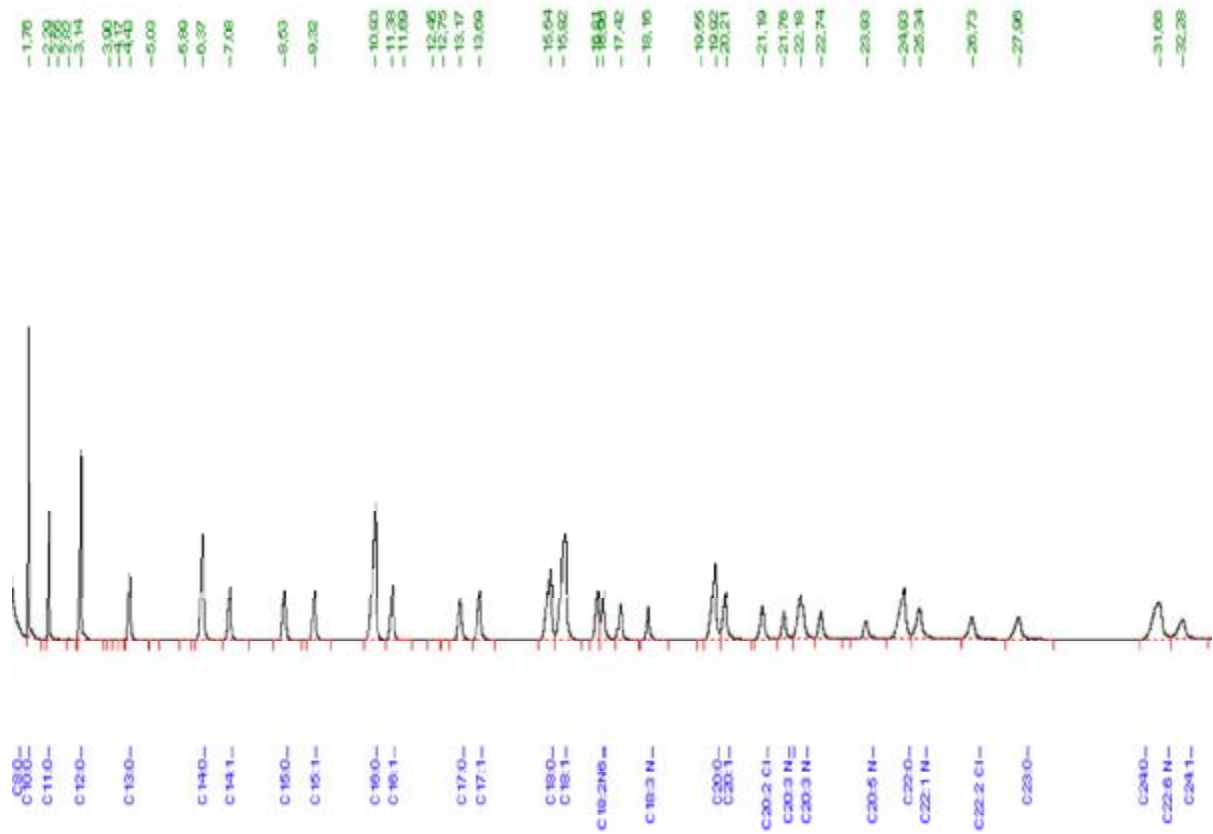
## **ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Adana ili Saimbeyli ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Kozan, lise öğrenimini ise Seyhan ilçesinde tamamladı. 1999 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde lisans öğrenimine başladı ve 2003 yılında mezun oldu. 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

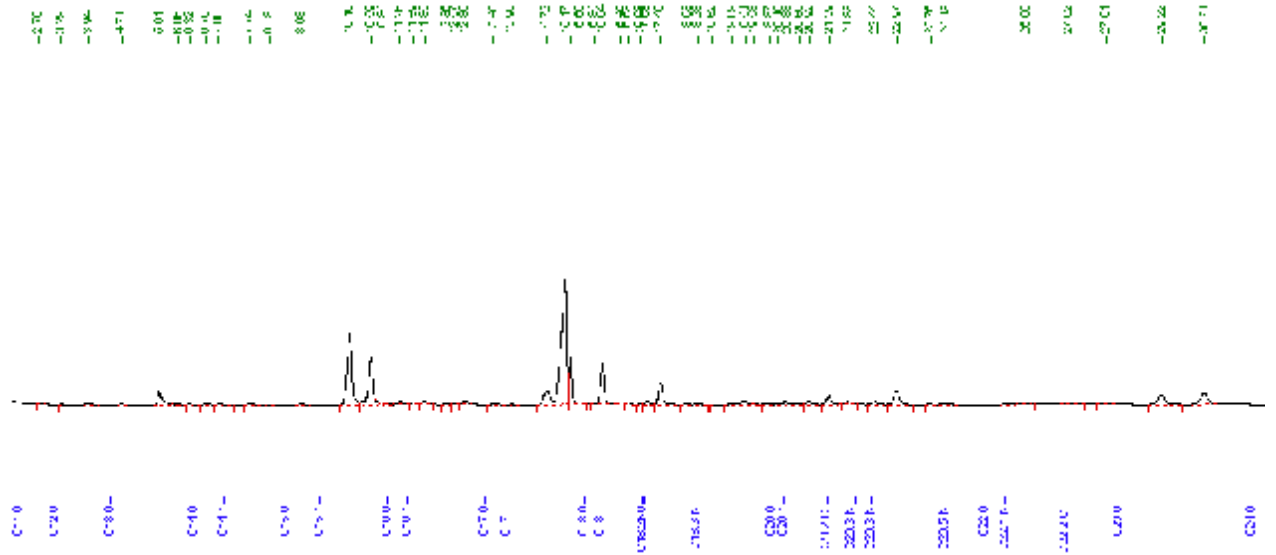
## **EKLER**



## EK 1. Standart yağ asidi kromotogramı



**EK 2.** Defne ekstraktı ile muamele edilen yılan balığı filetosunun yağ asidi kromotogramı



**EK 3.** Mersin bitkisi ekstraktı ile muamele edilen yılan balığı filetosunun yağ asidi kromotogramı

