

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NAR KABUĞU EKSTRAKTININ ANTİMİKROBİYAL VE  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN KÖFTE KALİTESİNE ETKİLERİ**

**Hazret ÖZDEMİR**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2013**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Hazret ÖZDEMİR tarafından hazırlanan “**Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkileri**” adlı tez çalışması **23.05.2013** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ayla SOYER  
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri :

Başkan: Prof. Dr. Ayla SOYER  
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof . Dr. Nuray KOLSARICI  
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim DEMİR**  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### NAR KABUĞU EKSTRAKTININ ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN KÖFTE KALİTESİNE ETKİLERİ

Hazret ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Nar kabuğu ekstraktının (NKE) antioksidan ve antimikrobiyal etkisi, soğukta depolanan köfte etlerde incelenmiştir. Nar kabuğundan elde edilen sulu ekstrakt, liyofilize edilerek konsantre edilmiş ve köfte formülasyonuna %0,1, %0,2 ve %0,3 düzeylerinde ilave edilmiştir. NKE içeren köfteler, %0,01 BHT içeren ve herhangi bir antioksidan içermeyen kontrol köfteler ile karşılaştırılmıştır.

NKE, sentetik antioksidan BHT'den daha yüksek ( $P<0,01$ ) antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca %0,2 ve %0,3 düzeylerinde NKE *Staphylococcus aureus* üzerine inhibitör etki göstermiş, fakat patojen bakterilerden *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, and *L. monocytogenes* ve test edilen diğer bakterilerden ise *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *E. coli Pseudomonas fluorescens* ve *Citrobacter freundii* üzerine etkili olmamıştır. Köftede TAMB gelişimi, kontrol ve BHT'li örneklerle karşılaştırıldığında NKE ilavesi ile önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) baskılanmıştır. Köftenin laktik asit bakteri sayısı üzerine NKE ilavesinin önemli bir etkisi ( $P>0,01$ ) gözlenmemiştir. İlk 6 günlük depolama boyunca *Enterobacteriaceae*, maya ve küf sayıları NKE içeren örneklerde kontrol örneklerinden daha düşük olurken. NKE konsantrasyonu arttıkça, *Enterobacteriaceae* sayısındaki artış önemli düzeyde daha az ( $P<0,01$ ) olmuştur. Mikrobiyolojik ve duyuşal test sonuçları dikkate alındığında kontrol örnekleri depolamanın 3. gününde red sınırını geçerken NKE içeren örneklerde ise raf ömrü 5. güne kadar uzamıştır.

Köfteye ilave edilen NKE konsantrasyonu arttıkça lipid oksidasyonu önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) geciktirilmiş ve %0,3 NKE içeren köftelerin tiyobarbiturik asit (TBA) değerleri depolama boyunca en düşük olmuştur. Buna göre, 9 gün depolama sırasında kontrol örneklerinde TBA değerleri 1,02'den 1,49 mg malonaldehit/kg örnek'e, %0,3 NKE içeren örneklerde 0,66'dan 0,98 mg malonaldehit/kg örnek'e artmıştır. Antioksidan kaynağı içeren köftelerin (BHT ve NKE) peroksit değerleri (PD), kontrol örneklerden önemli düzeyde daha düşük ( $P<0,01$ ) olmuştur. Altı gün depolama sırasında, kontrol örneklerde PD, 0,70'den 0,84 meq  $O_2$ /kg yağ'a antioksidan içeren örneklerde ise 0,47'den 0,58 meq  $O_2$ /kg yağ'a artmıştır.

Köftelerin  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerine NKE ilavesinin önemli bir etkisi gözlenmezken ( $P>0,01$ ), NKE içeren köftelerin  $b^*$  değerleri kontrol ve BHT'li örneklerden önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) daha düşük olmuştur. Buna karşın, duyuşal değerlendirme puanlarında kontrol ve antioksidan içeren gruplar arasında renk ve genel beğeni yönlerinden önemli bir fark belirlenmemiştir.

**Mayıs 2013, 90 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Nar kabuğu ekstraktı, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, köfte, soğukta depolama, mikrobiyal ve oksidatif kalite

## ABSTRACT

Master Thesis

### EFFECTS OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POMEGRANATE RIND EXTRACT ON QUALITY OF BEEF MEATBALLS

Hazret ÖZDEMİR

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

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

The antioxidant and antimicrobial effect of pomegranate rind extract (PE) was investigated in meat balls during refrigerated storage. Concentrated lyophilised water extract of pomegranate rind was incorporated into meatball formulation at 0,1%, 0,2% and 0,3% concentrations and compared with 0,01% BHT and control (without any antioxidant).

PE showed significantly higher ( $P<0,01$ ) antioxidant activity than BHT. PE had also a good antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* having inhibitory concentration of 0,2% and 0,3% while it was ineffective against *E. coli* O157:H7, *S. enteritidis*, and *L. monocytogenes*, and other test bacteria including *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *E. coli Pseudomonas fluorescens ve Citrobacter freundii*. The growth of total viable counts in meatball was significantly ( $P<0,01$ ) suppressed by PE addition compared to control and BHT samples. No significant difference ( $P>0,01$ ) was observed on lactic acid bacteria counts between treatments. The numbers of *Enterobacteriaceae*, yeast and moulds were lower in PE samples than in control samples during 6 days of storage. Increasing the concentration of PE was significantly ( $P<0,01$ ) reduced the increase in *Enterobacteriaceae* counts. Considering microbiological and sensory properties, control and BHT samples were not acceptable after 3 days of storage while PE treatment at all concentrations extended the shelf life up to 5 days.

Increasing the concentration of PE significantly ( $P<0,01$ ) retarded lipid oxidation in meatballs to much greater extent than control samples. PE with 0,3% had the lowest TBA values during storage. TBA values were increased from 1,02 to 1,49 mg malonaldehyde/kg samples in control and from 0,66 to 0,98 mg malonaldehyde/kg samples in 0,3% PE during 9 days of storage. Peroxide values (PV) of treated meatballs with antioxidant sources (BHT or PE) were significantly ( $P<0,01$ ) lower than that of control samples. PV in control samples increased from 0,70 to 0,84 meq  $O_2$ /kg fat while it was increased from 0,47 to 0,58 meq  $O_2$ /kg fat in treated samples during 6 days.

No significant difference ( $P>0,01$ ) was observed in  $L^*$  and  $a^*$  values while PE samples had lower  $b^*$  values than control and BHT samples. In contrast, sensory evaluation scores did not reveal any significant difference in colour and general acceptability scores between control and treated samples.

May 2013, 90 pages

**Key Words:** Pomegranate rind extract, antioxidant activity, antimicrobial activity, meatball, cold storage, microbial and oxidative quality

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca tüm bilgi ve deneyimi ile yanımda olan, desteğini ve tecrübelerini benden esirgemeyen, çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayla SOYER'e (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), tüm mikrobiyolojik analizler boyunca bilgi ve birikimini benden esirgemeyen Dr. Şeref TAĞI'ya, analizlerimde laboratuvar olanaklarından yararlandığım Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a, renk cihazı için Sayın Prof. Dr. Nevzat ARTIK'a, analizler boyunca benden yardımını ve pozitif enerjisini esirgemeyen sevgili arkadaşım Gıda. Yük. Müh. Mehser TURAN'a, istatistik analizlerimi yapan ve laboratuvar tecrübesinden yararlandığım Gıda. Yük. Müh. Berna ÖZALP ÖZEN'e, tecrübelerinden yararlandığım Gıda. Yük. Müh. Gökhan ÖZEN'e, teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi, bu zorlu çalışmada da manevi desteğini esirgemeyen, sevgili eşim İlkay ÖZDEMİR'e, teşekkür ederim.

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

Hazret ÖZDEMİR

Ankara, Mayıs 2013

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iiii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	vviii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viviii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	22
3.1 Materyal.....	22
3.1.1 Et materyali .....	22
3.1.2 Nar kabuğu ekstraktı.....	22
3.1.3 Baharat ve diğer katkı maddeleri.....	22
3.2 Yöntem .....	22
3.2.1 Nar kabuğu ekstraktı elde edilmesi.....	22
3.2.2 Nar kabuğu ekstraktında yapılan analiz yöntemleri .....	23
3.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı .....	23
3.2.2.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi).....	23
3.2.2.3 Antimikrobiyel aktivite .....	25
3.2.2.3.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri.....	25
3.2.2.3.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması.....	26
3.2.2.3.3 Kuyu difüzyon testi ile antimikrobiyel aktivite tayini.....	27
3.2.3 Köfte üretimi.....	28
3.2.4 Nem miktarı tayini.....	29
3.2.5 Kül miktarı tayini.....	29
3.2.6 Yağ miktarı tayini .....	30
3.2.7 Protein miktarı tayini .....	30
3.2.8 Mikrobiyolojik analizler .....	31
3.2.8.1 Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) ve toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayımı.....	31

3.2.8.2 Maya ve küf sayımı .....	31
3.2.8.3 Laktik asit bakteri (LAB) sayımı.....	31
3.2.8.4 Toplam enterobacteriaceae sayımı .....	32
3.2.8.5 Mikrokok-Stafilokok sayımı.....	32
3.2.9 Renk ölçümü (L*, a* ve b* değerleri) .....	32
3.2.10 Tiyobarbitürik asit ( TBA) değeri tayini.....	32
3.2.11 Peroksit değeri (PD) tayini .....	33
3.2.12 Para-Anisidin Değeri (P-Anisidin) tayini.....	33
3.2.13 Duyusal analiz .....	33
3.2.14 İstatistik analiz .....	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	36
4.1 Nar kabuğu Ekstraktında Yapılan Analiz Sonuçları .....	36
4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı .....	36
4.1.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi) .....	36
4.1.3 Antimikrobiyel aktivite.....	37
4.2 Köfte Ette Yapılan Analiz Sonuçları.....	37
4.2.1 Köfte bileşimi.....	38
4.2.2 Mikrobiyoloji Sonuçları .....	39
4.2.2.1 Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayım sonuçları .....	39
4.2.2.2 Toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayım sonuçları.....	43
4.2.2.3 Maya-Küf sayım sonuçları .....	45
4.2.2.4 Laktik asit bakteri (lab) sayım sonuçları.....	48
4.2.2.5 Toplam enterobacteriaceae sayım sonuçları .....	50
4.2.2.6 Mikrokok-Stafilokok sayım sonuçları.....	52
4.2.3 Renk değerleri .....	54
4.2.4 Tiyobarbitürik asit değeri .....	60
4.2.5 Peroksit değeri.....	65
4.2.6 p-Anisidin Değeri .....	65
4.2.7 Duyusal analiz Sonuçları .....	68
5. SONUÇ .....	77
KAYNAKLAR .....	79
EKLER.....	89

<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>90</b>
----------------------	-----------



## KISALTMALAR DİZİNİ

BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen İçeren Grup
BPA	Baird Parker Agar
GMKK	Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji kültür koleksiyonu
K	Kontrol grubu
LAB	Laktik Asit Bakterisi
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe Agar
NKE1	Nar Kabuğu Ekstraktı İçeren 1. Grup
NKE2	Nar Kabuğu Ekstraktı İçeren 2. Grup
NKE3	Nar Kabuğu Ekstraktı İçeren 3. Grup
PCA	Plate Count Agar
PD	Peroksit Değeri
TAMB	ToplamAerob Mezofil Bakteri
TAPB	Toplam Aerob Psikrotrof Bakteri
TBA	Tiyobarbitürik asit
VRBDA	Violet Red Bile Dextrose Agar
YGC	Yeast Extract Glucose Chloramphenicol

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Köfte üretimi işlem basamakları .....	29
Şekil 4.1 Soğukta depolama sırasında köftenin TAMB sayısında meydana gelen değişimler.....	41
Şekil 4.2 Soğukta depolama sırasında köftenin TAPB sayısında meydana gelen değişimler .....	44
Şekil 4.3 Soğukta depolama sırasında köftenin maya-küf sayısında meydana gelen değişimler .....	46
Şekil 4.4 Soğukta depolama sırasında köftenin LAB sayısında meydana gelen değişimler .....	49
Şekil 4.5 Soğukta depolama sırasında köftenin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişimler.....	51
Şekil 4.6 Soğukta depolama sırasında köftenin mikrokok-stafilokok sayısında meydana gelen değişimler.....	53
Şekil 4.7 Soğukta depolama sırasında köftenin L* değerinde meydana gelen değişimler .....	55
Şekil 4.8 Soğukta depolama sırasında köftenin a* değerinde meydana gelen değişimler .....	57
Şekil 4.9 Soğukta depolama sırasında köftenin b* değerinde meydana gelen değişimler .....	59
Şekil 4.10 Soğukta depolama sırasında köftenin TBA değerinde meydana gelen değişimler .....	62
Şekil 4.11 Soğukta depolama sırasında köftenin peroksit değerinde meydana gelen değişimler .....	64
Şekil 4.12 Soğukta depolama sırasında köftenin p-anisidin değerinde meydana gelen değişimler .....	67
Şekil 4.13 Köfte örneklerinin renk puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler .....	69
Şekil 4.14 Köfte örneklerinin ransit aroma puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler.....	71
Şekil 4.15 Köfte örneklerinin kokuşma aroması puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler.....	72

Şekil 4.16 Köfte örneklerinin kötü aroma puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler .....	74
Şekil 4.17 Köfte örneklerinin genel beğeni puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler .....	75

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Standart inokulumda bakteri sayıları .....	27
Çizelge 3.2 Köfte formülasyonu .....	29
Çizelge 4.1 Nar kabuğu ekstraktlarında belirlenen toplam fenolik madde miktarları.....	36
Çizelge 4.2 BHT ve NKE ekstraktlarının ortalama inhibisyon yüzdeleri.....	37
Çizelge 4.3 Bitkisel ve kimyasal antioksidan kaynaklarının antioksidan aktivite sonuçları.....	37
Çizelge 4.4 Nar ekstraktlarının antimikrobiyel aktivite değerleri.....	38
Çizelge 4.5 Soğukta depolanan köftenin nem, kuru madde, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişimler .....	39
Çizelge. 4.6 Köftelerin toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	40
Çizelge 4.7 Soğukta depolanan köftelerin TAMB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	41
Çizelge 4.8 Köftelerin toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	44
Çizelge 4.9 Soğukta depolanan köftelerin TAPB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	45
Çizelge 4.10 Köftelerin maya-küf sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi.....	46
Çizelge 4.11 Soğukta depolanan köftelerin maya-küf sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	47
Çizelge 4.12 Köftelerin laktik asit bakteri (LAB) sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	48

Çizelge 4.13 Soğukta depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	50
Çizelge 4.14 Köftelerin Enterobacteriaceae sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi.....	51
Çizelge 4.15 Soğukta depolanan köftelerin Enterobacteriaceae sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu .....	52
Çizelge 4.16 Köftelerin mikrokok-stafilokok sayısına (log <sub>10</sub> KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi.....	53
Çizelge 4.17 Soğukta depolanan köftelerin mikrokok-stafilokok sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	54
Çizelge 4.18 Köftenin L* değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	55
Çizelge 4.19 Soğukta depolanan köftelerin L* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	56
Çizelge 4.20 Köftenin a* değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	57
Çizelge 4.21 Soğukta depolanan köftelerin a* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	58
Çizelge 4.22 Köftenin b* değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi.....	59
Çizelge 4.23 Soğukta depolanan köftelerin b* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	60
Çizelge 4.24 Köftenin TBA değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	61
Çizelge 4.25 Soğukta depolanan köftelerin TBA değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	62

Çizelge 4.26 Köftenin peroksit değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	64
Çizelge 4.27 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	65
Çizelge 4.28 Köftenin p-anisidin değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	66
Çizelge 4.29 Soğukta depolanan köftelerin p-anisidin değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	67
Çizelge 4.30 Köftenin renk puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	68
Çizelge 4.31 Soğukta depolanan köftelerin renk puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	69
Çizelge 4.32 Köftenin ransit aroma puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	70
Çizelge 4.33 Soğukta depolanan köftelerin ransit aroma puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	71
Çizelge 4.34 Köftede kokuşma aroması puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	72
Çizelge 4.35 Soğukta depolanan köftelerin kokuşma aroması puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	73
Çizelge 4.36 Köftede kötü aroma puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	73
Çizelge 4.37 Soğukta depolanan köftelerin kötü aroma puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	74
Çizelge 4.38 Köftede genel beğeni puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi .....	75

Çizelge 4.39 Soğukta depolanan köftelerin genel beğeni puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu.....	76
--	----

## 1. GİRİŞ

Günümüzde gıda kaynaklı enfeksiyonların tüketici sağlığı açısından hala çok önemli riskler oluşturduğu bilinmektedir. Diğer yandan gıda üretiminde kullanılan sentetik koruyucuların da insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olduğu, tedavi giderleri ve işgücü kaybı gibi önemli ekonomik kayıplara yol açtığı bilinmektedir (Al-Zoreky2009). Gıda güvenliğini ilgilendiren birçok faktör arasında mikroorganizmalar ilk sırada yer almakta olup, son yıllarda çeşitli etkenlere bağlı olarak gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmelerde artış gözlenmektedir. Toplumların yaşam tarzlarındaki değişiklikler, hassas tüketici gruplarındaki artış, ithalat-ihracat olanaklarındaki gelişmeler, hayvansal gıda maddelerinin üretimindeki artış, gıda işleme tekniklerindeki yeni uygulamalar, seyahat olanaklarının artması, global ısınma, doğal beslenmeye olan eğilim, katkı maddesi içermeyen gıdalara yoğun talep gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmelerdeki artışın nedenleri arasında yer almaktadır (Şahin 1996).

Gıdanın güvenliği ve kalitesi üzerinde çeşitli faktörlerin (engellerin) tekli veya birlikte etkileri vardır. Gıda muhafazasında engellerin optimum kombinasyonu, mikrobiyel stabiliteyi olduğu kadar gıdanın duyuusal, besinsel, toksikolojik ve ekonomik niteliklerini de olumlu yönde etkilemektedir (Leistner 2000).

Gıdaların raf ömrünün artırılmasında kimyasal koruyucuların kullanımı uzun yıllardır başvurulan bir uygulamadır (Gould 1999). Fakat kullanılan kimyasal maddelerin sıklıkla kanser ve kalp rahatsızlıkları gibi olumsuz sağlık etkisi ile ilişkilendirilmesi, üreticileri uzun süreli raf ömrüne sahip gıdaların korunması konusunda farklı alternatifler aramaya yönlendirmiştir (Bagamboula vd. 2003).

Hem et hem de et ürünleri, fonksiyonel oldukları düşünülen katkı maddelerinin kullanımıyla veya sağlık açısından zararlı oldukları düşünülen maddelerin etin yapısındaki miktarlarının azaltılması sureti ile modifiye edilebilirler ve böylece et ürünü temeli değiştirilmeksizin sağlıklı gıda sınıfına katılabilir ( Fernandez ve Perez 2005). Bu bağlamda sağlıklı ürün teması ortaya çıkmaktadır. Sağlıklı ürün teması fonksiyonel gıda



olarak bilinmektedir. Fonksiyonel gıdalar, temel besin değerlerine ilaveten, hastalıklardan korunmada veya hastalık tedavisinde doğrudan yardımcı olan ve yaşam kalitesini yükseltmek için gerekli ingredientleri içeren gıdalardır. Terim bütün gıdalardan, kuvvetlendirilmiş, zenginleştirilmiş, geliştirilmiş gıdalara ve diyet takviyelerine kadar hepsiyle ilgilidir ve bu gıdalar zihinsel ve bedensel yapıya katkıda bulunur ve hastalık risklerini azaltmaktadır (Anonim 2007).

Bu amaçla et ürünlerinin fonksiyonel olarak modifikasyonunda yağ asidi dağılımının ve kolesterol seviyesinin düzenlenmesi, bitkisel yağların et ürünlerinin formülasyonuna eklenmesi, soya ürünlerinin eklenmesi, doğal antioksidanların ve antimikrobiyellerin kullanımı, sodyum tuzlarının seviyesinin düşürülmesi, balık yağlarının kullanımı ve bitkisel yan ürünlerin kullanımı gibi konular üzerinde sıklıkla durulmaktadır (Arihara 2006).

Kasaplık hayvanlardan elde edilen etleri en iyi şekilde değerlendirmek ve tüketicilere farklı özellikte ürünler sunabilmek amacıyla ürün çeşitliliğinde son 30 yılda artış gözlenmektedir. Yeniden şekillendirilmiş ürünlerin bileşiminde temel olarak belli ölçüde boyutları küçültülmüş kasaplık ve kanatlı hayvan et ve yağları, tuz, çeşitli baharat, dolgu ve bağlayıcı özelliğe sahip katkıları bulunmaktadır. Belirtilen bu öğeler kullanılarak boyutları küçültülmüş et parçaları birarada tutularak farklı özelliklere sahip yeni ürünler elde edilmektedir. Elde edilen bu yeni ürünlere de yeniden şekillendirilmiş et ürünleri adı verilmektedir. Hamburgerler, değişik tipte köfteler, bazı kaplanmış ürünler bu grupta yer almaktadırlar. Ülkemizde köfte her yaştaki tüketici grubu tarafından sevilerek tüketilen ve hemen her bölgede spesifik bir isimle adlandırılan bir et ürünüdür. “Tekirdağ köfte”, “Akçaabat köfte”, “İnegöl köfte” gibi et ürünleri etin ya kıyma makinasından çekilerek veya bıçakla inceltilerek kıyılması (satır kıyması) ile elde edilen hammaddeden üretilmektedirler. Etin bileşimi nedeniyle mikrobiyel kontaminasyona açık bir ürün olması, kesimden işlemeye kadar geçen sürede uygun olmayan hijyen uygulamaları nedenleriyle hazırlanan köfteler, buzdolabı sıcaklıklarında kısa süreli bir raf ömrüne sahip olmaktadır. Dondurularak daha uzun sürelerde muhafaza edilebilen hazır köfteler ise, daha çok oksidatif değişimler nedeniyle kalite kaybına uğramaktadırlar. Soğukta depolanan ürünlerde vakum veya modifiye

atmosferde ambalajlama (MAP) raf ömrünü uzatan uygulamalardır. Fakat genellikle bu tip bir ambalajlama için maliyetli olan uygun ambalaj materyalleri ile vakum ambalajlama cihazı veya daha pahalı olan MAP cihazına yatırım yapılması gereklidir.

Köfte ürünler; restoranlarda veya fast-food ortamlarda günlük olarak veya iki, üç günde tüketilmek üzere hazırlanmaktadır. Restoranlarda genellikle hazırlanan köfteler tüketiciye servis edilene kadar, buzdolabı sıcaklığında bekletilmektedir. Hijyenik kalitesi iyi olmayan ürünler bekleme sırasında mikrobiyel faaliyet nedeniyle kısa sürede bozulabilmekte ve tüketildiğinde çok ciddi gıda zehirlenmeleri ile karşılaşabilmektedir.

Fenolik madde içeriği yüksek doğal kaynaklardan elde edilen bitkisel ekstraktların doğal katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin bu tip köfte ürünlerde ortaya konulması, belirtilen nedenlerle son derece önemlidir. Doğal antimikrobiyel ve antioksidan etkiye sahip katkıların (nar kabuk ve danesi, mavi yemiş, üzüm çekirdeği, yeşil çay yaprağı, biberiye vd.) konsantre olarak üretilmesi ve köfte formülasyonuna dahil edilmesi ile kısa sürede tüketilmek üzere restoranlarda, fast-food yemek alanlarında ve mutfaklarda hazırlanan köftelerde raf ömrünü artırması durumunda önemli bir ekonomik kazanç elde edilecektir. Çeşitli bitkisel ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyel etkileri olduğu ve sentetik kimyasal katkıları yerine kullanılabilecek iyi bir alternatif oldukları bir çok çalışma ile ortaya konulmuştur (Negi vd. 2003, Braga vd. 2005, Kanatt vd. 2010). Bu ekstraktlar içerisinde nar kabuğundan elde edilen ekstrakt, antioksidan ve antimikrobiyel etkisi ile dikkat çekmektedir.

2008 verilerine göre, Türkiye 127760 ton nar üretimi ile Hindistan ve İran'dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Özellikle 2008 yılında verime geçen nar ağaçlarındaki üretim artışına paralel olarak, nar üretiminin 500000 tona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonim 2011). Dünyada olduğu gibi ülkemizde de son yıllarda nar suyuna ve konsantreye işlenen meyve miktarı artmıştır. Bunun en önemli nedeni, narın sağlık üzerine kanıtlanmış etkileridir (Ahmad ve Beg 2001, Braga vd. 2005, Reddy vd.2005). Önemli bir nar üreticisi olan ülkemizde nar suyuna veya konsantreye işlendikten sonra

atık olarak ortaya çıkan nar kabuğunun antioksidan ve antimikrobiyel etkilerinden yararlanılarak, köftelerin raf ömrünün artırılması ekonomik açıdan önem taşımaktadır.

Meyve suyu endüstrisinde nar suyu veya konsantresi üretiminde önemli miktarlarda nar kabuğu atık olarak ortaya çıkmakta ve çevre kirliliği yaratmaktadır. Oysaki nar kabuğunun içerdiği biyoaktif bileşikler nedeniyle, antioksidan ve antimikrobiyel etkilerinden yararlanılarak, oksidasyona hassas gıdalarda kullanılabilirliği giderek önem kazanmaktadır. Nar kabuklarının patojen bakterilere karşı antimikrobiyel etkili olduğu da yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Ahmad ve Beg 2001, Machado vd. 2003, Braga vd. 2005, Shan vd. 2007, McCarrell vd. 2008). Nar kabuğu tanen bakımından zengindir ve tanenlerin önemli düzeyde antimikrobiyel etkisi olduğu bilinmektedir (Machado vd. 2003, Voravuthikuncha vd. 2005). Fenolik bileşiklerce zengin bir meyve olan nar ve ürünlerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

Bu çalışmada amaç, nar kabuğundan elde edilen liyofilize ekstraktın antioksidan ve antimikrobiyel etkisini ortaya koymak ve farklı düzeylerde (%0,1, %0,2 ve %0,3) nar kabuğu ekstraktı (NKE) ilave edilen köftelerin soğukta depolanması sırasında oksidatif ve mikrobiyel değişmelere etkisini ortaya koymaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Et, kasaplık hayvanların iskelet kaslarından elde edilen bir gıda maddesi olup, gerek besin değeri gerekse ürün çeşitliliği ile beslenmemizde önemli bir yer tutar. Dayanıklılığını arttırmak amacıyla ete soğutma ve dondurma işlemi dışında uygulanacak fiziksel ve kimyasal işlemler sonucu oluşan yeni ürün, et ürünü olarak adlandırılmaktadır (Öztan 2003). Taze et, fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeni ile mikrobiyolojik bozulmalara karşı hassas gıdalardan biri olarak bilinmektedir (Yapar 2006).

Gıdaların neden olduğu hastalıklar arasında, et ve et ürünleri önemli bir paya sahiptir (Mbandi ve Shelef 2002). Sağlıklı hayvanların etlerinin iç kısımları steril kabul edilmektedir. Fakat etler; kesim, yüzme, parçalama ve depolama sırasında kontaminasyona maruz kalmaktadırlar. Bu kontaminasyon oranları %5 mezbaha havasından, %35 deri ve iç organlardan, %2 karkas bölünmesinden, %8 alet ve personelden, %50 nakliye ve muhafazadan ileri gelmektedir. Özellikle ülkemizdeki hijyenik sorunlar dikkate alındığında et, et ürünlerine işlenirken sağlık açısından riski azalmak yerine daha da artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hastalık kontrol merkezi raporlarına göre, gıda maddelerinden kaynaklanan hastalıklar arasında et ve et ürünleri grubu %70 ile en büyük payı almaktadır (Tunçel ve Tiryaki 2001).

Etin, heterojen yapısı (bağ, epitel, sinir doku) nedeniyle bulaşan mikroorganizmaların gelişimi bulaştığı yere göre değişmektedir. Etin iç kısımlarına giren mikroorganizmalar daha çabuk bozulmaya neden olmaktadır. Taze ette bulunan en önemli bozulma etmeni bakteriler olarak, Gram (-) aerobik ve psikrotrofik *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve fakültatif anaerobik *Alteromonas putrefaciens* gösterilirken, Gram (+) *Lactobacillus* spp. ve *Brochotrix thermospshacta'nın* da taze ette yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir (Ghaly ve Dave 2011).

Et ve et ürünleri yağ ve protein içeriği yüksek gıdalardır ve işleme (kesme, kıyma çekme gibi) ve depolama (soğukta veya dondurularak) sırasında oksidatif reaksiyonlar

meydana gelmektedir. Ürünün kalite özelliklerinin değişmesine neden olan oksidatif reaksiyonlarda yağlar ve proteinler substrat olarak rol oynamaktadırlar. Doymamış yağ asitleri, lipid oksidasyonunun başlıca substratlarıdır ve oksidatif reaksiyon sonucu başlıca oksidasyon ürünleri olarak serbest radikaller ve lipid hidroperoksitleri meydana gelmektedir. Bu ürünler ikincil lipid oksidasyon ürünleri olan aldehitlere, ketonlara ve alkollere parçalanarak ürünün duyu özelliklerini (tat, koku ve renk bozukluğu), besin değerini ve güvenilirliğini azaltmaktadırlar (Frankel 2005). Bunların dışında lipid oksidasyonu sonucu meydana gelen bileşikler proteinlerde de değişmelere neden olmaktadır. Lipid oksidasyon ürünlerinin proteinlerde neden olduğu değişmeler; proteinlerde çapraz bağlanma, beslenmede önemli amino asitlerde değişmeler ve proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde (çözünürlük gibi) azalmalardır (Levine vd. 1990, Decker vd. 1993, Xiong 2000).

Katkı maddeleri ürün kalitesini arttırmak, gıdayı korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla ürün içeriğine eklenen kimyasal bileşiklerdir. Mikrobiyel ve kimyasal bozulmayı kontrol altına almak amacıyla kullanılan katkı maddeleri ise antimikrobiyel ve antioksidan olarak adlandırılmaktadır. Laboratuvar ortamında elde edilen sentetik ve biyolojik sistemlerde bulunan doğal antimikrobiyeller olmak üzere antimikrobiyelleri iki grupta incelemek mümkündür. Birincisi, yasal düzenlemelerle gıdalarda kullanımlarına izin verilen asetik asit ve asetat, benzoik asit ve benzoat, laktik asit ve laktat, nitrit ve nitrat, sorbik asit ve sorbat, sülfid gibi sentetik antimikrobiyellerdir. İkinci grupta ise hayvansal, bitkisel ve mikrobiyel kaynaklı doğal antimikrobiyeller bulunmaktadır (Şahin 2006).

Et ürünlerinde oksidatif reaksiyonları ve mikrobiyel faaliyeti geciktirmek amacıyla sentetik katkı maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Shahidi 1997, Soyer ve Şahin 1999, Fernandez-Lopez vd. 2005). Sentetik antioksidanların (BHT, BHA, TBHQ gibi) karsinojenik etki gösterdiklerinin ortaya konulması (Wu vd. 1982, Lindberg Madsen ve Bertelsen 1995) ve tüketicilerin bu katkı maddelerinin kullanımına yönelik olumsuz eğilim göstermesi, doğal antioksidan ve antimikrobiyel özelliğe sahip bitkisel katkıların kullanımını gündeme getirmiştir. Bu amaçla çeşitli bitkisel kaynakların doğrudan veya ekstraktları hazırlanarak antioksidan ve antimikrobiyel etkilerinden yararlanılmaktadır.

Et ve et ürünlerinde kullanılan bitkisel kaynaklı ekstraktlar özellikle 2 temel amaç için kullanılmaktadır. Bunların birincisi hem gıda kaynaklı patojenler üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olmaları hem de bu etkilerinin kimyasal koruyucularla kıyaslanacak düzeyde olmasıdır. Diğer kullanım amacı ise bu ekstraktların gıdalarda meydana gelen lipid ve protein oksidasyonunu engelleyen antioksidan sistemler içermesidir. Yapılan bir çalışmada et ürünlerindeki nitrit miktarı üzerine sitrus liflerinin etkisini incelemek amacı ile sosis formülasyonuna 4 farklı oranda limon lifi ilave edilmiştir. Çalışma sonunda yapılan analizler lif ilaveli gruplarda daha düşük kalıntı nitrit miktarlarının olduğunu göstermiştir (Aleson-Carbonell vd. 2004). Başka bir çalışmada, kuru kürlenmiş et ürünlerine portakal lifi ilave edilerek son ürünün kalıntı nitrit miktarı üzerine etkileri incelenmiştir. Gruplar kontrol, %1 lif ve %2 lif içerecek şekilde hazırlanmıştır. % 1 oranında lif içeren grupta nitrit miktarının kontrol grubuna göre %64,70 oranında daha düşük olduğu, %2 lif içeren grupta ise bu düşüşün % 75 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Fernandez-Lopez vd. 2007).

Et ürünlerinde kullanılan nitrit ve benzeri kimyasal koruyucuların miktarını azaltmak amacı ile bitkisel ekstraktlar ve lifler gıda üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyet liflerinin et ürünlerinde oluşan olumsuzlukları (su tutma, yağ absorblama, tekstürü stabilize etme) gidermek amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir (Özdemir vd. 2009).

Doğal antioksidanların gıdalarda kullanımı ile ilgili literatürde çeşitli çalışmalar ve bu çalışmalar sonucunda ortaya atılmış iddialar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar; baharat, şifalı otlar, kakao kabukları, kahve çekirdeği, yulaf, çay, fasulye, bakla, bezelye, domates, kızılcık, sebzeler (özellikle soğan ve biber), zeytin yaprağı ve soya fasulyesi gibi bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri olduğunu ve ticari açıdan en fazla ümit verici olanların biberiye ve yulaf ekstraktı olduğunu göstermiştir (Turhan ve Üstün 2006, Vareltsis vd. 1997). Biberiye ekstraktının, dondurularak muhafaza edilen istavrit ve berlam balığı fileto ve kıymalarının oksidasyonunu önemli düzeyde geciktirdiğini saptamışlardır. Farag vd. (2003), 400 ppm düzeyindeki zeytin serbest fenoliklerinin

ayçiçeği yağının ransiditesini geciktirmede BHT'den daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Bera vd. (2006), keten tohumu yağına çözünür ajovan (*Carum capticum*) ekstraktı ilave ederek yağın oksidasyon özelliklerini farklı sıcaklıklarda diğer sentetik antioksidanlarla karşılaştırmışlardır. Araştırma sonucunda en yüksek stabiliteyi TBHQ'un (Tertiary butyl hydroquinone) gösterdiğini, ancak fiyat karşılaştırması ve baharat olarak kullanılması nedeniyle ajovanın tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Turhan ve Üstün (2006), kurutulmuş zencefil ununun ve etanoldeki ekstraktının pişirilmiş domuz kıymasının lipid oksidasyonunun kontrolünde etkili olduğunu ve bu etkinin zencefil ununda etanolik ekstrakta göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Amla (*Emblica officianalis*), fiskın yaprağı (*Moringa oleifera*) ve kuru üzümünden (*Vitis vinifera*) elde edilen ekstraktın bisküvilerde doğal antioksidan olarak kullanıldığı bir çalışmada, her üç ekstrakt ilavesinin bisküviye mükemmel antioksidan etki kazandırdığı belirlenmiştir (Reddy vd. 2005).

Bilindiği gibi fenolik bileşikler bazı bitkilerde fazla miktarda bulunan ve insan beslenmesinde önemli bileşenler olan biyoaktif maddelerdir. Bitki fenolikleri flavonoidler (antosiyeninler, flavonoller, flavonlar gibi) ve flavonoid olmayan (fenolik asitler, ligninler gibi) geniş bir dağılım göstermektedirler. Fenolik bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteleri olduğu bilinmektedir. Bu özelliğe sahip gıdalar arasında bulunan üzüm, üzüm yan ürünleri, nar çekirdeği, üzüm meyveleri (yaban mersini, ahududu, böğürtlen vd.) birçok model sistemde antioksidan etkileri nedeniyle lipid oksidasyonunu engellemek veya geciktirmek amacıyla kullanılmışlardır. Üzüm ve yan ürünleri çoğu flavanoid olmak üzere, antioksidan aktiviteye sahip birçok fenolik bileşik içermektedirler. Yağlı gıdalarda oksidatif reaksiyonları geciktirmek amacıyla yeşil çay, üzüm çekirdeği, biberiye, nar, kekik gibi bitkisel ekstraktlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Ikawa 1998, Medina vd. 1999, Medina vd. 2003). Üzümün işlenmesi sırasında ortaya çıkan yan ürünleri, çoğunluğu flavonoidler olmak üzere önemli miktarda fenolik bileşikleri içermektedirler. Nar suyu, çekirdeği ve kabuğu antioksidan ve antimikrobiyel etkileri nedeniyle tüketimi giderek artan bir meyvedir. Nar kabuğunun, çekirdeğinden ve suyundan daha yüksek düzeyde fenolik madde içerdiği ve antioksidan ve antimikrobiyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Tomas-

Barberan ve Espin 2001, Guo vd. 2003, Balasundram vd. 2006). Yine nar kabuğu ekstraktının konsantrasyonu arttıkça toplam fenolik içeriğinin antioksidan kapasitesinin ve antimikrobiyel etkinliğinin arttığı belirtilmiştir (Ghasemian vd. 2006).

Nar kabuğunun içerdiği flavonoid ve flavonoid olmayan bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyel etkileri olduğuna yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda bitkisel ekstraktlar çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilerek veya doğrudan kurutulularak ve öğütülerek ürünlere katılmaktadırlar. Bu etkilerin farklı gıdalarda ne düzeyde olduğunun belirlenmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bitkisel ekstraktların genel olarak kullanım amaçları aşağıda sıralanmaktadır (Üner vd. 2000):

- I. Gıdaların tat ve koku özelliklerini geliştirerek lezzeti arttırmak, yeni ürünler elde ederek çeşitlilik sağlamak,
- II. Antioksidan özellikleriyle gıdalarda acılaşmayı önlemek,
- III. Antimikrobiyel özellikleriyle gıdaları korumak, patojen gelişimini engellemek.

Bitkiler, baharatlar, şifalı otlar, esansiyel yağları ve bunlardan izole edilen bileşikleri bakterilerin, küf ve mayaların metabolik aktivitelerini inhibe eden maddeler içerdiği bilinmektedir. İçerdikleri bu bileşenler sayesinde baharatlar, bitkisel materyallerden ekstrakte edilen esansiyel yağlar, oleoresin ve ekstraktların büyük çoğunluğu Gram (-) bakteri, Gram (+) bakteri, küf ve mayaların gelişimini ve toksin oluşumunu olumsuz etkilemektedir. Antimikrobiyel etki konsantrasyona bağlı olup, yüksek konsantrasyonlarda ölümcül etki göstermektedir. Yenibahar, badem, defne, karabiber, karaman kimyonu, tarçın, karanfil, kişniş, kimyon, sarımsak, greylift, limon, mandarin, soğan, portakal, kekik, kuşburnu, adaçayı ve mercanköşk antimikrobiyel etkisi bilinen esansiyel yağlardır. Literatürde 1300'den fazla bitkinin antimikrobiyel etkisi olduğu rapor edilmektedir, ancak hepsinin gıdalarda kullanımı henüz mümkün olmamıştır. İstenilen antimikrobiyel etkiyi sağlayan dozlar duyuşal olarak kabul edilebilir sınırları aştığından gıdalarda koruyucu olarak kullanımları sınırlanmıştır (Şahin 2006).



Bitkisel ekstraktların antimikrobiyel ve antioksidan etkileri olduğu ve sentetik kimyasal katkıları yerine kullanılabilecek iyi bir alternatif oldukları bir çok çalışma ile ortaya konulmuştur. Bitkisel ekstraktların antimikrobiyel ve antioksidan etkileri içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşiklerin mikroorganizma hücrelerini tahrip ederek antimikrobiyel etkide bulunduğu ileri sürülmekle birlikte, bu kompleks proses tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Bununla birlikte ekstraktların antimikrobiyel aktiviteleri ile ilgili önerilen mekanizma, fenoliklerin hücre membranını tahrip ederek mikroorganizmanın ölmesine neden olduğu şeklindedir (Kanatt vd. 2010).

Bir gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından çeşitli fonksiyonları, tat ve koku oluşumundaki katkıları, renk üzerine etkileri, antimikrobiyel ve antioksidan aktiviteye sahip olmaları, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi farklı özellikleri açısından önem taşımaktadırlar. Bitkilerdeki fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler ile küçük moleküllü ve çoğunlukla uçucu olan bileşikler kapsamaktadır. Bunlardan özellikle fenolik asitler ve flavonoidler oldukça önemlidir. Fenolik bileşikler antioksidan özellik göstermektedirler. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri fenol halkasındaki –OH grubu sayısına bağlı olarak artmaktadır. Fenolik bileşiklerden fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik diterpenler antioksidan aktivite göstermektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bazı flavonoid bileşiklerin önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Gorinstein vd. 2004). Bu grupta; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler ve antosiyaninler yer almaktadır. Bu bileşiklerin, yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Kateşinler bitkilerde yaygın olarak bulunan flavanollerdir ve önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahiptirler (Miller ve Rice-Evans 1997).

Günümüzde bilinen en önemli patojenlerin başında, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera* gibi Gr (-), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Listeria monocytogenes*, sporlu bakterilerden; *Clostridium perfringens*, *Clostridium*

*botulinum*, *Bacillus cereus* gibi Gr (+) bakteriler gelmektedir. *Escherichia coli* O157:H7 son yıllarda en tehlikeli gıda patojenleri arasında yer almaktadır (Taş 2008).

WHO tarafından yapılan değerlendirmede patojenler arasında son 20-30 yılda *S. enteritidis*'de çarpıcı bir artış olduğu belirtilmektedir. Salmonellozis, dünyada en sık rapor edilen gıda kaynaklı hastalıklardan birisidir (Schlundt 2002). Hastalık etmeni olduğu yıllardır bilinen *E. coli* ise son yıllarda verositotoksin üreten *E. coli* (VTEC) suşlarının belirlenmesi ile yeniden ilgi odağı olmuştur (Bell ve Kyriakides 2002). Vakaların çoğunun yeterince ısıtılma işlemi uygulanmamış gıdaların tüketimi ile ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Bacon ve Sofos 2003). Et ve et ürünlerinden sıklıkla izole edilen patojenik diğer bir bakteri *L. monocytogenes* ise özellikle hamile kadınlar ve bağışıklık sistemi zayıf bireyler açısından potansiyel risk kaynağıdır (Lopez-Mendoza vd. 2007).

Gıda zehirlenmelerine neden olan *Staphylococcus aureus*'un gıdaya bulaşmasındaki en önemli etkenin insan olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde bakterinin, hava, toz, lağım ve sudan kolaylıkla izole edilebilmesi, gıdaların kontaminasyonu için çok sayıda kaynağın bulunduğunu göstermektedir. *S. aureus*' un neden olduğu hastalıkların oluşma süresi ortalama 1-6 saattir. Belirtileri; kusma, ishal, karın bölgesi kramplarıdır. *S. aureus* kaynağı olabilecek gıdalar arasında kremalı fırın ürünleri, salam, tavuk eti, yumurta, patates salatası, kremalı soslar yer almaktadır (Anonymous 2004).

*Salmonella* insan ve hayvanların bağırsak sistemlerinde yer almasına rağmen, gıdalara da dışkı ile bulaşmış diğer kaynaklardan bulaşabilir. Gıda maddelerinde bulunmasına kesinlikle izin verilmemektedir (Anonymous 2008a). *Salmonella* zehirlenmelerinin %72'si et, tavuk ve yumurta aracılığı ile olmaktadır (Anonymous 2006).

*Bacillus cereus*, ilk defa Hauge (1950-1955) tarafından Norveç'te 600 kişiyi etkileyen 4 ayrı gıda zehirlenmesi vakasında etiyolojik etmen olarak bildirilmiştir. Bu olaydan sonra diğer birçok Avrupa ülkesinde de *Bacillus cereus* vakası tespit edilmiştir. *B. cereus* ile kontamine olmuş gıdaların hazırlanması ile tüketimi arasındaki süre uzadığında ve yeterince hızlı soğutulmadıklarında veya gıdaların hazırlanması ile

tüketimi arasındaki süre uzadığında, canlı ve ısıya dirençli olan sporların çimlenmesi sonucu mikroorganizma çoğalıp, gıda zehirlenmesine neden olabilecek düzeyde toksin oluşturabilmektedirler. Gıda zehirlenmeleri, gıdadaki bakteri sayısı  $10^6$  adet/g olduğunda ortaya çıkmaktadır (Pichhardt 2004). *B. cereus* zehirlenmesinde aracı gıdalar olarak, pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemekleri çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir. Ayrıca, toprak kökenli olması nedeniyle tarla ve bahçe ürünlerine rahatlıkla bulaşabilen *B. cereus*, sporlu bir bakteri olduğu için et ve süt ürünlerinde de bulunabilir (Taş 2008).

Son yıllarda narın antimikrobiyel etkisini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Bunun sebebi ise muhtemelen narın batı toplumlarında 'süperfood' olarak bilinmesi ve bunun yanında narın orta doğu ve Hindistan kültürlerinde: antimikrobiyel, antiinflamatuvar ve özellikle de ağız ve dudak ülseri gibi hastalıklar üzerindeki hem olumlu hemde engelleyici özelliklerinden dolayı ilaç yapımında sıklıkla kullanılıyor olmasıdır. *In vitro* koşullarda yapılan birçok çalışma, nar bitkisinin birçok bakteri türü üzerinde (*S. aureus*, *Bacillus* türleri (*B. cereus*, *B. Megaterium*, and *B. Subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhi* vd.) inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Bu amaçla kullanılan ekstraktların çoğu alkol ekstraksiyonu ile elde edilmekte ve su ekstraktı ya da ham materyal olarak saklanmaktadır. Bu çalışmaların birçoğunda narın yapısındaki fenoller, flavanoidler ve sterollerin aktif olarak öne çıktığı ve özellikle kabuk kısmında yoğun olarak buldukları anlaşılmıştır. Nardan alkol ekstraksiyonu ile elde edilen bazı ekstraktların metisilin dirençli *S.Aureus*, enterohemorrhagic *E. Coli* ve *H. Pylori* gibi bakteriler üzerinde de öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca yapılan bir çalışmada, nar kabuğundan metanol ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrakt, suda çözülmüş jel şeklinde farelerdeki yaralanmalarda kullanılmış ve yaraların iyileşmesinde ticari ilaçlara göre daha olumlu etkileri gözlemlenmiştir. Ekstraktın bu etkisinin yüksek fenolik bileşik içeriğinden ve özellikle gallik asit ve kateşinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu etkisinin yanında hidroalkolik ekstraksiyonla elde

edilen ekstraktın ağız gargarası olarak kullanıldığında dişlerde meydana gelen dental plaktan sorumlu bakterinin gelişimini engellediği belirlenmiştir (O'Mahony 2010).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, nar suyunun önemli ölçüde antimikrobiyel aktivite gösterdiği de ortaya koyulmuştur. Braga vd. (2005) nardan elde ettikleri metanol ekstraktının %1 konsantrasyonunun *Staphylococcus aureus*'un gelişimini ve %0.05 konsantrasyonunun ise entorotoksin üretimini engellediğini saptamıştır.

Alanis vd. (2005), nar kabuğundan elde ettikleri metanol ekstraktlarının *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Shigella sonnei*, *S. flexnerii*, *Salmonella* sp. inhibe ettiğini saptamışlardır. Negi vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada ise, toz haline getirilen nar kabuğu etil asetat, aseton, metanol ve su ile ekstrakte edilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyel aktiviteleri *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*' ya karşı belirlenmiştir. En yüksek antimikrobiyel aktiviteyi aseton, en düşük antimikrobiyel aktiviteyi de etil asetat ekstraktının gösterdiği bildirilmektedir.

Al-Zoreky (2009) tarafından yapılan bir araştırmada, nar meyvesinin kabuklarından elde edilen çeşitli ekstraktların gıda kaynaklı bazı patojenlere karşı antimikrobiyel aktivitesi hem *in vitro* koşullarda (agara yayılarak) ve hem de gıdada kullanılarak değerlendirilmiştir. Kabukların %80'lik metanol kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* ve *Yersinia enterocolitica* için potansiyel bir inhibitör olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan ekstraktın *Salmonella enteritidis*'e karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu, diğer mikroorganizmalardan daha yüksek bulunmuştur (4mg/ml). Nar kabuğu metanolik ekstraktın 4°C'de depolanan balıkta, *Listeria monocytogenes* sayısını 1 log' dan daha fazla azalttığı saptanmıştır. Fiziko-kimyasal analizler, nar kabuğunda fenolik ve flavonoid bileşikler gibi çeşitli biyoaktif inhibitörlerin bulunduğunu ortaya koymuştur. Metanolik ekstraktın aktivitesinin yüksek olması, toplam fenolik madde miktarı (262,5 mg/g) ile ilişkilendirilmiştir (Al-Zoreky 2009).

Farklı presleme basınçlarında elde edilen nar sularının antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, basınçtaki her 2.8 bar'lık artışın antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarında yaklaşık %12 düzeyinde artışa neden olduğu ve basınç ile antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarı arasında önemli bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Nar meyve suyunun, test edilen 12 mikroorganizma arasında, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* ve *Pseudomonas* sp.'a karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır (Türkyılmaz vd. 2013).

Gonzalez vd. (2003), nar danesinin ve kabuğunun antimikrobiyel aktivitesini belirlemek üzerine yaptıkları çalışmada; fenolik bileşiklerin yanı sıra narın kabuk ve danesinde bulunan tanen, elaiik asit, ferulik asit, kafeik asit, klorogenik asit ve protokataşurik asit gibi polifenollerden dolayı antimikrobiyel etkileri olduğu ortaya konmuştur. Araştırmacılar, narın kabuk ve danesinin *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi laboratuvar test organizmalarına karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Machado vd. (2003) nar kabuğunda bulunan tanenin antimikrobiyel etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, tanenin methisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'un gelişimini önlediğini saptamışlardır.

Holetz vd. (2002)'nin yaptıkları çalışmada; *P. granatum* cinsi nar çeşidinin, test edilen tüm *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ozkal ve Dinç (1994), nar zarlarının tanenler, antosiyaninler ve flavonoidlerce zengin olduğunu belirlemişlerdir. İlave edilen nar kabuğu ekstraktının konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve antimutajenitesi de artış göstermektedir (Ghasemian vd. 2006). Nar kabuğu ekstraktı hem antioksidan ve hem de antimutajenik özelliklere sahiptir. Ayrıca, gıdalarda ve nütrosotiklerde biyopreservatif olarak kullanılmaktadır.

Kanatt vd. (2010) tarafından yapılan bir araştırmada, nar kabuğu ve nar çekirdeği ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyel potansiyeli incelenmiş; nar kabuğu ekstraktının (NKE), nar danesi ekstraktından (NDE) daha yüksek antioksidan

kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. NKE'nın hidroksil grubu ve süperoksit anyonunu bağlama etkisinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. NKE, *Staphylococcus aureus*'a ve *Bacillus cereus*'a karşı güçlü antimikrobiyel etki göstermiştir ve bu etkinin gözlenebilmesi için en düşük konsantrasyonun % 0,01 olduğu belirlenmiştir. NKE'nın çeşitli pişmiş tavuk ürünlerine ilave edilmesinin, ürünün soğukta muhafazası sırasında raf ömrünü 2-3 haftaya kadar uzattığı tespit edilmiştir. Ayrıca NKE'nın söz konusu tavuk ürünlerinde oksidatif ransiditenin kontrolünde önemli olduğu da belirlenmiştir (Kanatt vd. 2010).

Dağcı ve Dığrak (2005) yaptıkları çalışmada; *P. granatum* nar cinsinin ekstraktlarının *S. aureus*'un gelişmesini iyi bir şekilde engellediğini, *E.coli*'ye karşı da etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Nar kabuğu ekstraktının *L. monocytogenes* üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ekstrakt, et patesinde kullanılmıştır. Çalışmanın başlangıcında disk difüzyon metodu ile yapılan testlerde ekstraktın *L. monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* üzerine inhibe edici etkisi olduğu belirlenmiştir. BHI broth besi yerinde yapılan deneyde bakteriler için minimum inhibisyon dozunun %7,5 (24,7 mg kuru NKE/ml) olduğu belirlenmiş ve bu doz et pate üretiminde kullanılmıştır. NKE'nın 4°C de 46 gün depolanan et patede *L.monocytogenes* sayısını 4,1 log KOB/g düzeyinde tuttuğu, kontrol örneklerinde ise bu sayının 9,2 log KOB/g düzeyine ulaştığını belirlemişlerdir (Hayrapetyan vd. 2012).

McCarrell vd. (2008), nar kabuğu ekstraktı çeşitli metal tuzları ve C vitamini ile kombine edilmiş ve antimikrobiyel etkilerinin olup olmadığı incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* gibi bakterilerin duyarlılıkları belirlenmiştir. Çalışma sonunda nar kabuğu ekstraktının özellikle Gram (+) bakteriler karşısında önemli bir inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktının bakır tuzları ile yapılan kombinasyonunda *E. coli*, *P. aeruginosa* and *P. mirabilis* karşısında önemli bir antimikrobiyel etki elde edilirken, karışımdaki tüm

mikroorganizmalara karşı optimum antimikrobiyel aktivite sırasıyla demir, manganez, çinkonun tek başına kullanıldığı veya nar kabuğu ile kombine edildiği karışımlarda elde edilmiştir.

Voravuthikunchai vd. (2005), nar kabuğundan kloroform ekstraksiyonu, %95 lik etanol ekstraksiyonu ve saf su ekstraksiyonu ile elde ettikleri ekstraktları *E.coli* O157 H7 ve diğer enterohemorojenik *E. Coli* suşlarına karşı antimikrobiyel amaçla kullanmışlardır. Etanolik ekstraktın denenen tüm suşlar üzerinde en etkin antimikrobiyel etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Ekstraktın hem etil asetat hemde n-bütanol fraksiyonlarının en düşük inhibisyon konsantrasyonunda bile yüksek antimikrobiyel etki gösterdiği belirlenmiştir.

Lipid oksidasyonu ve otooksidasyon et ve et ürünlerinin kalitesinde azalmaya neden olan en önemli etmenlerdir. Etin renk, flavor, koku, tekstür ve hatta besleyici değeri gibi özellikleri oksidatif değişmelerle etkilenmektedir ve bu nedenle et ürünlerinde kalitenin bozulmasında en önemli etkidir. Kıyım etler oksidatif reaksiyonlara parça etlere kıyasla daha çabuk maruz kalırlar ve ransit tat oluşumu kıyım etlerde daha erken ortaya çıkar. Kıyım çekme gibi boyut küçültme işlemi, yüzey alanının artmasına ve doku tahribatına neden olarak et yüzeyinin daha fazla oksijene maruz kalmasına ve daha fazla mikrobiyal kontaminasyona neden olmaktadır. Lipid oksidasyonunda başlatıcı substrat etin lipid formunda yer alan doymamış yağ asitleridir. Etin yapısında bulunan diğer hücresel faktörler (reaktif oksijen formları, miyoglobindeki heme demir, lipoksigenazlar vd.) lipid oksidasyonunu katalize ederler. Lipid oksidasyonu, kaslı gıdalarda bulunan lipidlerin, işleme ve depolama sırasında ortamda bulunan prooksidan maddelerin varlığında parçalanarak oksidatif ürünlerin oluştuğu ve ileri düzeyde acı (ransit) tat oluşumuna yol açan bir kalite bozukluğudur. Lipidlerin yağlarda ve yağ içeren gıdalarda oksidasyonu, oksidasyon sırasında oluşan değişik tepkime ürünlerinin insan sağlığı açısından tehlike oluşturması, hatta kanserojenik maddelerin oluştuğunun ileri sürülmesi bu tepkimelerin mekanizması ve oluşan ürünlerin nitelikleri üzerinde araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur (Soyer 1999).

Lipid oksidasyonu, başlangıç, gelişme ve sonuç aşamalarından oluşan ve serbest radikal oluşturan bir mekanizmaya sahiptir. Bu reaksiyonda başlıca substratlar doymamış yağ asitleri ve O<sub>2</sub>'dir. Oksidatif reaksiyonlar O<sub>2</sub>, ısı, ışık ve metal iyonlarının etkisiyle başlamakta ve serbest radikaller oluşmaktadır. Başlangıç aşamasında çift bağa komşu karbon atomuna bağlı kararsız yapıda hidrojen içeren doymamış yağ asidi ortamda bulunan oksijen, ısı, ışık veya ağır metal iyonlarının etkisiyle kararsız hidrojen oluşması sonucunda alkil ve hidroksil radikallerine parçalanır. Gelişme aşamasında alkil radikali hızla O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluştururlar. Peroksit radikali, alkil radikali veya yağ asidine göre daha yüksek oksitleme özelliğine sahip olup diğer yağ asitlerini okside eder ve serbest radikal zincir reaksiyonunu geliştirirler. Bu aşamada hidroperoksitler oluşmaktadır. Lipit hidroperoksitlerinin Fe<sup>+2</sup> ve Cu<sup>+2</sup> iyonlarıyla reaksiyona girmesiyle peroksit ve alkoksi radikalleri oluşmaktadır ve bu radikaller birçok reaksiyonun başlamasına neden olurlar. Sonuç aşamasında peroksit ve alkil radikalleri reaksiyona girerek radikal olmayan ürünleri oluşturmaktadırlar.

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

Son yıllarda çoğunluğu bitkisel kaynaklı olan yüzlerce madde gıdalarda antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test edilmektedir. Literatürde böyle doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdikleri ve bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bitkiler (yağlı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlar ve çay), hayvansal ürünler (peptitler, amino asitler ve karotenoidler), enzimler (glutatiyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz) ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır .



Bunların antioksidan aktiviteleri C vitamini, fenolik bileşikler, karotenoidler ve E vitamini gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Hall 2001).

Fenolik içeriğinin yanı sıra ikincil bitki metabolitleri bakımından zengin olan ve böylelikle antimikrobiyel özellik gösteren diğer bir bitki ise nardır. Nar genelde meyve olarak, içecek ve likör endüstrisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar narın kabuk ve çekirdeğinde bulunan tanen (tannin), elagik (elagic) asit, ferulik (ferrulic) asit, kafeik (cafeic) asit, klorogenik asit ve protokataşurik (protocatechuric) asit gibi polifenollerden dolayı antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Negi vd. 2002). Nar ekşisi, asidik özellik göstermesi çözünebilir kuru madde değerinin yüksek olmasından dolayı oldukça dayanıklı bir gıdadır ve pastörizasyona gerek kalmaksızın muhafaza edilebilmektedir.

Nar suyunda bulunan antosiyaninler, daha çok gıda renklendiricisi özellikleriyle tanınmakla birlikte, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei* gibi bazı bakteriler için inhibitör olma özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir. Ancak antimikrobiyel aktivitenin etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Antosiyaninlerin şelatlama yeteneklerinden dolayı belirli bazı enzimler üzerinde inhibitör etkilerinin olması mekanizmaya kısmen açıklık getirirken, klorofil a'nın parçalanma ürünü olan klorofilid a'nın *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*' in gelişimlerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Nar çekirdeklerinin de, içerdikleri fenolik bileşikler gibi ikincil metabolitleri ile antimikrobiyel özellik gösterdiği bildirilmektedir. Narın yenilen kısımları ve kabuklarında bulunan uçucu yağlar ise, *Bacillus cereus*'a karşı zayıf antibakteriyel özellik göstermekle birlikte diğer mikroorganizmalara antibakteriyel etkisi olduğu tespit edilmiştir (Yapar 2006).

Bütün bu özelliklerinden dolayı nar ağacının kabukları, çiçekleri, tohumları, meyveleri ve meyve kabukları ilaç olarak da kullanılabilir. Nar ağacının kök kabukları ıbağırsak şeritlerine karşı kullanılırken, kabuğu, çiçekleri ve nar suyu ishale karşı kullanılmakta, nar yapraklarında mikroorganizma öldürücü özellikleriyle yaralarda kullanılmaktadır (Benli 2001).

Son yıllarda nar meyvesi ve nar suyuna olan yönelim, sağlık üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesi ile birlikte artmıştır. Tezcan vd. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada, ülkemizde üretilen çeşitli firmalara ait nar sularının antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Bu çalışmada, ticari olarak üretilen nar sularının fenolik madde miktarlarının ve antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Gölükcü vd. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, nar meyvesinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin narın çeşidine, yetiştirildiği bölgeye, iklim koşullarına, toprak yapısına, hasat zamana bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca nar çekirdeği örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinin 1535 mg/kg ile 3701 mg/kg arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Nar suyunun antioksidan aktivitesinin dört farklı yöntemle (ABTS, DPPH, DMPD ve FRAP) değerlendirildiği ve elde edilen sonuçların kırmızı şarap ve yeşil çay ile karşılaştırıldığı bir araştırmada, nar suyunun kırmızı şarap ve yeşil çaydan 3 kat daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu aktivitenin, nar meyvesinin tamamının işlenmesi ile elde edilen ticari meyve sularında sadece nar daneleri kullanılarak elde edilen meyve suyundan daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir (Gil vd. 2000).

Naveena vd. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada nar kabuğu tozu ekstraktlarının (RP) radikal yakalama aktivitesi, indirgeme gücü ve fenolik madde kompozisyonu belirlenmiş; pişirilmiş tavuk köftelerine ilave edilen RP'nin antioksidan etkinliği soğukta muhafaza soğutulmuş olarak muhafazası süresince C vitamini ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, kıyma haline getirilen 100g taze tavuk etlerine 5, 10, 15, 20 mg'a eşdeğer düzeylerde RP fenolikleri ile 50 mg C vitamini ilave edilmiştir. Karşılaştırmanın yapılabilmesi amacıyla da antioksidan madde ilave edilmeyen kontrol grubu oluşturulmuştur. RP' nin yüksek antioksidan kapasitesine ve yüksek indirgeme gücüne sahip olduğu belirlenmiştir. Tavuk köftelerine RP ilavesi, Hunter L\* değerinin kontrol ve C vitamini içeren örneklere göre daha düşük bulunmasına neden olmuştur. Toplam fenolik madde içeriği tannik asit eşdeğeri olarak kontrolde 308 µg/g iken, RP-20 örneğinde 441 µg/g'a yükselmiştir. Yapılan duyusal analiz sonucunda RP ilavesinin tavuk köftelerinin duyusal özelliklerini etkilemediği belirlenmiştir. TBARS değeri

kontrol örneğinde 1.530 mg MA/kg köfte, RP içeren köftelerde ise 0.135 mg MA/kg köfte olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak nar kabuğu tozu ekstraktı uygulamasının pişirilmiş tavuk köftelerinde lipid oksidasyonunu C vitamini uygulamasından daha fazla engellediği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile nar kabuğu tozu ekstraktından doğal antioksidan kaynağı olarak yararlanılabileceği tespit edilmiştir (Naveena vd. 2008).

Yapılan bir araştırmada, nar kabuğu ekstratının ayçiçeği yağında antioksidan olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır (Shahidi vd. 2008). Bu amaçla ayçiçeği yağına farklı düzeylerde (250, 500 ve 1000 ppm) nar kabuğu ekstraktı ilave edilmiş, kontrol olarak ise 200 ppm BHT içeren örnek kullanılmıştır. Sonuçlar, 1000 ppm ekstrakt içeren örneğin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Shahid vd. 2008).

Et ürünlerinde kullanılan sentetik antioksidanların etkilerini azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada kinnow adı verilen bir tür mandalina kabuğu tozu, nar kabuğu tozu ve nar çekirdeği tozu ekstraktlarının keçi eti kullanılarak hazırlanan köftelerdeki antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır (Devatkal vd. 2010). Kinnow, Hindistan ve çevresinde yetiştirilen bir sitrus meyvesidir. Kinnowun meyve suyuna işlenmesi sırasında %30-34 oranında kabuk elde edilir. Kinnow kabuklarını C vitamini, karotenoidler ve polifenolik antioksidanlarca zengindir (Anwar vd. 2008). Yapılan araştırmada örneklerin toplam fenolik madde miktarları, DPPH radikal yakalama aktiviteleri belirlenmiş; renk tayini, duyu analizi ve TBA analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar kullanılan bu ekstraktların fenolik madde kompozisyonu açısından zengin birer kaynak olduğu ve yüksek serbest radikal yakalama aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Nar kabuğu tozu ilave edilen köfte örneklerinde Hunter L değerinde azalma saptanmıştır, bu azalmayı nar çekirdeği ekstraktı ve kinnow ekstraktı izlemiştir. Duyusal analiz sonucunda köfteler arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kontrol örneği ile karşılaştırıldığında bitkisel ekstrakt ilave edilen örneklerde depolama süresince TBARS değerinde önemli bir azalma gözlenmemiştir. Soğukta depolama süresince belirlenen ortalama TBARS değeri (mg/kg et) nar kabuğu tozunda düşüktür, bunu sırasıyla nar çekirdeği ekstraktı ve kinnow ekstraktı izlemiştir. Genel olarak antioksidan etkinliği nar kabuğu tozu > nar çekirdeği tozu > kinnow türü mandalina

kabuğu tozu olarak sıralanmaktadır. Sonuç olarak yapılan bu çalışma ile çeşitli meyvelerden yan ürün olarak elde edilen çeşitli ekstraktların et ürünlerinde birer antioksidan kaynağı olarak kullanılabilereği tespit edilmiştir (Devatkal vd. 2010).

Yapılan alışmalar değerlendirildiğinde, nar kabuğunun et ürünlerindeki lipid oksidasyonunu geciktirmede ve mikrobiyel yükü azaltmada iyi bir doğal kaynak olabileereği düşünülmektedir. Bu amaçla, nar kabuğundan elde edilen sulu ekstraktların konsantre ve liyofilize edilerek antioksidan ve antimikrobiyel maddelerinin daha yoğun hale gelmesi ve köfte üretiminde üç farklı düzeyde kullanılması ile soğuk depolama sırasında kalite özelliklerindeki değerimlerin belirlenmesi, bu çalışmanın esasını oluşturmaktadır.

### **3. MATERİYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Et materyali**

Çalışmada, Et ve Balık Kurumu Sincan Kombinasında kesimi yapılan iki yaşında Simental ırkı danadan elde edilen boyun ve döş eti kullanılmıştır. Et materyali, kesimden 24 saat sonra -1 °C de bekletilen hayvanın karkasından alınmış ve 3mm aynadan çekilerek laboratuvara getirilmiştir.

##### **3.1.2 Nar kabuğu ekstraktı**

Bitkisel ekstrakt materyali olarak, endüstride nar suyu üretiminde tercih edilen ve Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen, daneleri kırmızı-viole renkli Hicaz nar çeşidi (Fethiye, Antalya) kullanılmıştır.

##### **3.1.3 Baharat ve diğer katkı maddeleri**

Baharat olarak kullanılan karabiber ve kimyon Bağdat Baharat A.Ş. den, sofralık tuz, soğan ve sarımsak Ankara piyasasından, galeta unu ise Yepaş A.Ş.'den temin edilmiştir.

#### **3.2 Yöntem**

##### **3.2.1 Nar Kabuğu Ekstraktı Elde Edilmesi**

Nar kabuğu ekstraktı (NKE), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi "Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde paketli pres'de (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) meyve suyuna işlenmek üzere sıkılmış narlardan arta kalan nar kabuklarından elde edilmiştir. Nar

kabukları kullanılacakları zamana kadar -25 °C de depolanmışlardır. İyice temizlenmiş 100 gram nar kabuğu küçük parçalara bölünerek 1000 mL destile su ile 1 saat geri destile edilmiştir. Elde edilen karışım soğutulmuş ve 12 kat tülbentten filtre edilmiştir. Kaba kısımlar tekrar destile su ile 1 saat daha geri destile edilmiş ve tülbentten filtre edilmiştir. Elde edilen sıvı ekstraktlar birleştirilmiş ve 12100g'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen supernatant toplanarak, döner evaporatörde (Laborata 400, Heidolph, Almanya) %10 brikse konsantre edilmiştir. Elde edilen konsantre, liyofilizasyon cihazında (Labconco 74200, A.B.D.) -85°C'de ve 120 mBar vakum altında 72 saat kurutulmuştur. Liyofilize ekstrakt, kullanılacağı zamana kadar 4°C'de depolanmıştır (Kanatt 2010).

### **3.2.2 Nar kabuğu ekstraktında yapılan analiz yöntemleri**

#### **3.2.2.1 Toplam fenolik madde miktarı**

Liyofilize NKE' da toplam fenolik madde miktarı, Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir. Hazırlanan bitkisel ekstraktlar uygun şekilde seyreltildikten sonra 100 mL'lik bir balon jöje içerisine 1 mL örnek aktarılmış, üzerine 5 mL Folin ayırıcı, 75 mL destile su ilave edilmiştir. 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen karışımın üzerine 10 mL doymuş sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi ilave edilmiştir. Balon jöje destile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilen örneğin absorbanı spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahit çözeltiliye karşı okunmuştur. Örnekte ölçülen absorban değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik madde miktarı, gallik asit ile hazırlanmış olan standart kurvenin denklemi kullanılarak hesaplanmıştır. Örnekteki toplam fenolik madde miktarı "mg gallik asit/100 g ekstrakt" cinsinden ifade edilmiştir.

#### **3.2.2.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi)**

Bu amaçla, Miller ve Rice-Evans (1997) ile Arts vd. (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemin ayrıntıları Kırca ve Özkan (2007) tarafından verilmiştir. Bu

yöntem, ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)) radikal katyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının, sentetik bir antioksidan olan Troloks'un (suda çözünen E vitamini analogu) standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağlı ölçümünü sağlamaktadır. Ölçümler, mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS<sup>•+</sup> radikalinin kayboluşunun spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle yapılmıştır. Mavi/yeşil ABTS<sup>•+</sup> kromoforu oluşturmak için ABTS<sup>•+</sup> ve potasyum persülfat arasında gerçekleşen reaksiyondan yararlanılmıştır.

Antioksidan aktivite tayini analizlerinde öncelikle 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, oda sıcaklığında 12–16 h arasında bekletilerek, ABTS<sup>•+</sup> radikalinin oluşması sağlanmıştır. Bunun dışında; radikal çözeltisinin, örneklerin ve troloks standardının seyreltilmesinde kullanılacak olan PBS (fosfat tamponu; Phosphate Buffer Saline) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, hazırlanan 0,1 M fosfat tamponu üzerine 8,77 g NaCl eklenerek 1 l'ye damıtık suyla tamamlanmış ve böylece pH'sı 7,4 olan PBS çözeltisi elde edilmiştir. NKE yüksek antioksidan aktivite gösterdiğinden, örnekler analizden önce seyreltilmişlerdir. Bu amaçla yaklaşık 1 g örnek alınarak, 50 mL hacme PBS ile seyreltilmiştir (1. inhibisyon oranı %30 olacak şekilde). Absorbans ölçümleri 734 nm'de 1,5 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda tek kullanımlık mikro küvetlerde yapılmıştır. Analize başlamadan önce ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinden 1 mL alınarak 734 nm'de absorbans değeri  $0.700 \pm 0.02$  olacak şekilde yaklaşık 90–100 mL PBS ile seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinden 1 mL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltisi üzerine örnekten 5 µL eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmış ve 6 dakika boyunca, her bir dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. NKE örneklerinde bulunan antioksidan bileşikler, radikal çözeltisinin rengini gittikçe açarak 6 dakikalık süreçte absorbans değerleri zamana bağlı olarak düşmüştür. 6 dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorbens değeri} - \text{Son absorbens değeri}}{\text{Başlangıç absorbens değeri}} \times 100$$

5,0µL örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 7,5 µL ve 10,0µL hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (5,0, 7,5 ve 10,0µL) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere linear regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Sonuçlar, TEAC (Troloksequivalent antioxidant capacity; troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi) değeri olarak ifade edilmiştir. Bu değer, örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanmasıyla elde edilmiştir. Elde edilen eğim değeri, seyreltme faktörü ile de çarpılarak örneklerin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir.

### **3.2.2.3 Antimikrobiyel aktivite**

#### **3.2.2.3.1 Kullanılan mikroorganizmalar ve besiyerleri**

Nar kabuğu ekstraktında antimikrobiyel aktivitenin saptanması amacıyla Gram pozitif patojen bakterilerden *Salmonella entericaserotype* Enteritidis (ATTC 13076) (*S. Enteritidis*) ve *Listeria monocytogenes* (ATTC 7644), Gram negatif patojen bakterilerden ise *Esheria coli* O157H:7 (Ank. Üniv. Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji kültür koleksiyonu, GMKK), *Staphylococcus auerus* (Cowan suşu) kullanılmıştır. Bu patojen bakteriler dışında ilave olarak patojen olmayan Gram pozitif bakterilerden, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* ve *L. Brevis* (GMKK), Gram negatif bakterilerden ise *E. coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas fluorescens* (NRRL B-253), *Citrobacter freundii* (GMKK) türleri kullanılmıştır. Tüm bakterilerin saflık kontrolleri yapılmış, saf olmayan kültürler saflaştırılmış ve bazı doğrulama testleri ile doğrulanmış saflaştırılmayanlar ise çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmada kullanılan



bakteri kültürleri %20 (v/v) gliserol stok kültürü olarak -25°C’de uzun süreli olarak saklanmıştır. Her denemede kullanılmak üzere bu bakterilerden *L. plantarum* ve *L. brevis* “de Man Rogosa Sharpe”(MRS) agar, diğer kültürler ise tryptic soy agar (TSA) (Merck, Darmstad, Almanya) ile hazırlanan yatık agarlı besiyerinde 4-8°C’de stok kültür olarak saklanmış ve her denemede standart inokulum hazırlanması amacıyla aktifleştirilerek kullanılmıştır. Bakterilerin aktive edilmesi, geliştirilmesi ve nar kabuğu ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin ölçümü amacıyla *L. plantarum* ve *L. brevis* için MRS broth ve MRS agar, diğer tüm bakteriler için ise tryptic soy broth (TSB) ve TSA besiyerleri kullanılmıştır.

### **3.2.2.3.2 Bakterilerden standart inokulum hazırlanması**

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

Bu bakteri kültüründen %0,85 NaCl (w/v) içeren fizyolojik tuzlu su (FTS) ile ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden *Lactobacillus* türleri için MRS agar, diğer bakteriler için TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriyeler kullanılan bakteri türleri için yukarıda bahsedilen optimum sıcaklıklarda 24–48 saat süreyle inkübasyona bırakılmış, koloni sayımı yapılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır (Çizelge 3.1). Her bir kültürden gerektiğinde FTS ile seyreltme yapılarak yaklaşık olarak  $1,00 \times 10^8$  KOB/mL bakteri içeren standart inokulum hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1 Standart inokulumda bakteri sayıları (n=2)

Bakteri	Bakteri sayısı (KOB/mL)*
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	$1.53 \times 10^9 \pm 5.20 \times 10^8$
<i>Salmonella</i> Enteritidis	$2,85 \times 10^9 \pm 2.10 \times 10^8$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,84 \times 10^8 \pm 7.40 \times 10^7$
<i>Listeria monocytogenes</i>	$3.00 \times 10^9 \pm 4.20 \times 10^8$
<i>Bacillus subtilis</i>	$1.80 \times 10^8 \pm 1.13 \times 10^8$
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$1.82 \times 10^9 \pm 1.41 \times 10^8$
<i>Lactobacillus brevis</i>	$1.30 \times 10^9 \pm 1.01 \times 10^8$
<i>Escherichia coli</i>	$2.00 \times 10^9 \pm 2.30 \times 10^8$
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	$1.10 \times 10^8 \pm 1.41 \times 10^7$
<i>Citrobacter freundii</i>	$1.14 \times 10^9 \pm 1.74 \times 10^8$

\*Ortalama ve standart sapma

### 3.2.2.3.3 Kuyu Difüzyon Testi ile antimikrobiyel aktivite tayini

Liyofilize haldeki NKE'dan aseptik koşullarda tartım yapılmış, ve bundan otoklavlanarak sterilize edilmiş destile su ile %5 (w/w) stok çözelti hazırlanmış, çözelti 0,45 µm gözenek çapındaki steril membran filtreden (Sartorius) geçirilerek sterilize edilmiştir. Steril NKE stok çözeltisinden steril destile su kullanılarak %0,1, %0,2 ve %0,3 (w/v) konsantrasyonlarda NKE çözeltileri hazırlanmış ve antimikrobiyel aktivitenin saptanmasında kullanılmıştır. Ayrıca, sentetik antioksidan BHT'nin olası antimikrobiyel aktivitesini test etmek amacıyla, %0,01 (w/v) oranında BHT çözeltisi hazırlanmış ve kontrol örneği olarak testte kullanılmıştır. Buna ilave olarak, % 0,3'lük hazırlanan NKE çözeltisinin pH'sı 3,71 olarak ölçülmüş ve asitliğin olası antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi amacıyla membran filtrasyonla sterilize edilen sitrik asit çözeltisi (%1, w/v, pH 3,70 ) asit kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi için Lenette (1985) tarafından önerilen "kuyu difüzyon yöntemi" uygulanmıştır (Alanis vd. 2005'den alınmıştır). Kuyu difüzyon

yönteminde “bakterilerden standart inokulum hazırlanması” başlığı altında verilmiş yöntemle hazırlanan inokulumdan, otoklavlandıktan sonra yaklaşık 45°C sıcaklığa soğutulmuş 28 mL TSA ve MRS agar besiyerlerine %1 oranında ilave edilerek besiyerinin yaklaşık olarak  $1,00 \times 10^6$  KOB/mL bakteri içermesi sağlanmıştır. Elde edilen bakteri-besiyeri karışımı karıştırıldıktan sonra steril cam petrilere (11 cm çap, 1,5 cm derinlik) aktarılmıştır. Besiyerleri düz bir yüzeyde, ortam sıcaklığında ( $18 \pm 2^\circ\text{C}$ ) 15 dakika süre içinde katılaştıktan sonra, alevden geçirilerek ve etil alkolde bekletilerek sterilize edilen metal bir mantar delici (çap= 9 mm) kullanılarak aseptik koşullarda her petriye 6 adet kuyucuk açılmıştır. Bu kuyucuklara en az 2 paralel olacak şekilde farklı konsantrasyonlardaki her bir örnekten 0,1 mL aktarılmış ve besiyerleri 35°C’de 20-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda besiyerinde kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonları bir steromikroskop altında detaylı incelenerek oluşan berrak zonlar bir kumpasla “mm” olarak ölçülmüş (kuyucuk çapı dahil) ve böylece antibakteriyel aktivite saptanmıştır. Antimikrobiyel aktivitenin saptanmasında sadece bakteri inhibisyonun olduğu tam berraklık görülen inhibisyon zonları dikkate alınmıştır.

### **3.2.3 Köfte üretimi**

Köfte formülasyonu; %86,75 dana kıyma (%12,4 yağlı), %6 galeta unu, %0,25 karabiber, %0,5 kimyon, %3,5 soğan, %1,5 tuz, %0,5 sarımsak ve NKE’nin çözünme ortamı olarak %1 su içermiştir (Çizelge 3.2). Köfte üretimi için hazırlanan et ve yağ karışımına formülasyonda yer alan galeta unu, karabiber, kimyon, soğan, sarımsak ilave edilerek yoğrulmuştur. Hazırlanan köfte hamuru beş gruba ayrılmıştır; gruplardan biri kontrol olarak ayrılmış ve gerekli miktarda su ilave edilerek şekillendirilmiştir. Diğer dört gruba sırasıyla %0,01 BHT (w/w), %0,1 NKE (w/w), %0,2 NKE (w/w) ve %0,3 (w/w) NKE ilave edilerek ayrı ayrı yoğrulmuş, her grup  $20 \pm 2$  g ağırlığında, yuvarlak (4,5 cm çap, 0,5 cm kalınlık) şekillendirilerek plastik kaplara yerleştirilmiş ve  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ’de depolanmıştır (Şekil 3.1). Kimyasal antioksidan olarak kullanılan BHT, etil alkolde çözüldürülerek, NKE ekstraktları ise suda çözüldürülerek hamura ilave edilmiştir.

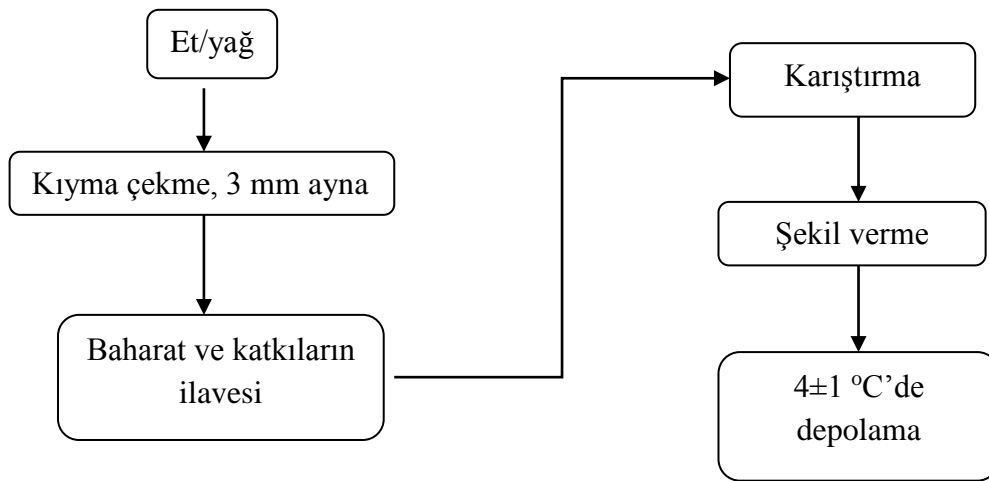
Çizelge 3.2 Köfte formülasyonu (% ve g miktarları)

İçerik	%	Gruplar (g)				
		K	BHT	NKE1	NKE2	NKE3
% 12,4 yağlı dana kıyma	86,75	1041	1041	1041	1041	1041
Galeta unu	6,0	72	72	72	72	72
Karabiber	0,25	3	3	3	3	3
Kimyon	0,5	6	6	6	6	6
Soğan	3,5	42	42	42	42	42
Tuz	1,5	18	18	18	18	18
Sarımsak	0,5	6	6	6	6	6
Su*	1	12	12	12	12	12
BHT	0,01		**			
NKE1	0,1			**		
NKE2	0,2				**	
NKE3	0,3					**
<b>Toplam</b>		<b>1200</b>	<b>1200</b>	<b>1200</b>	<b>1200</b>	<b>1200</b>

\*NKE ekstraktları suda, BHT etil alkolde çözündürülmüştür.

\*\*BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 sırasıyla 0,12 g, 1,2 g, 2,4 g ve 3,6 g çözücüsünde karıştırılarak hamura dahil edilmiştir.

Soğukta depolanan köftelerden 0., 3., 6. ve 9. günlerde örnekler alınmış ve fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler yürütülmüştür.



Şekil 3.1 Köfte üretimi işlem basamakları

### **3.2.4 Nem miktarı tayini**

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

### **3.2.5 Kül miktarı tayini**

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

### **3.2.6 Yağ miktarı tayini**

Yağ miktarı, Lee vd. (1996)’nın önerdiği soğuk ekstraksiyon yöntemi ile belirlenmiştir. Köfte örneğinden 5 gram, 250 mL’lik paslanmaz çelik Eberbach homojenizatörüne (EF22337B8581, USA) tartılmıştır. Üzerine 50 mL 2:1 oranında kloroform/metanol çözeltisi eklenmiştir. Kapak kapatıldıktan sonra 1,5 dakika süre ile Waring blender’de karıştırılmıştır. Homojenat yüksek hızlı filtre kağıdından (Whatman no.4, 12,5 mm çapında) ayırma hunisine süzülmüştür. Üstteki kısım, tekrar 50 mL’lik kloroform/metanol çözeltisi ile aynı şekilde karıştırılmış ve filtre edilmiştir. İki fazı ayırmak için 20 mL %0,5’lik NaCl çözeltisi ilave edilmiş ve karışım alt üst edildikten sonra 12 saat bekletilmiştir. Kloroform fazı ölçülü balona dikkatli bir şekilde aktarılmış ve hacmi kaydedilmiştir. Yağ miktarını belirlemek için 5 ml kloroform fazı, önceden darası alınmış 25 ml’lik behere pipetlenmiştir. Düşük ayardaki ısıtıcı üzerinde beher ara sıra karıştırılarak yaklaşık 10 dakikada kloroform uçurulmuştur. Beher daha sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve tartılmıştır. Toplam yağ miktarı aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.

$$\text{Yağ Miktarı (\%)} = \frac{\text{Ekstrakte Edilen Yağ (g)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \cdot \frac{\text{Kloroform Hacmi (mL)}}{5 \text{ mL}} \cdot 100$$

### **3.2.7 Protein miktarı tayini**

Ham protein miktarı (%), Kjeldahl yöntemine göre örneklerin önce % azot (N) miktarı belirlenerek ve elde edilen % N miktarı 6,25 faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır (Anonymous 2000a).

### **3.2.8 Mikrobiyolojik Analizler**

Mikrobiyolojik analizlerde 10 g köfte, steril torba içerisinde 90 ml steril peptonlu tuzlu su (%0,1 pepton ve %0,85 NaCl, w/v) çözeltisi ile karıştırılmış ve stomacher'de (Seward 400, London, UK), 230 rpm'de 2,5 dakika homojenize edilmiştir. Homejenattan steril peptonlu tuzlu su çözeltisi kullanılarak ardışık seyreltiler hazırlanmış ve her bir tekerrürde 2 paralel yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler AOAC'da (Anonymous 1998) belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Bu amaçla, uygun seyreltilerden aktarılan petrilere aşağıda belirtilen besiyerleri dökme yöntemiyle ilave edilerek belirtilen uygun koşullarda inkübe edilmiştir.

#### **3.2.8.1 Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) ve toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayımı**

TAMB ve TAPB yükü, yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan petrilere Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyeri dökülerek katılaşması beklenmiş ve TAMB için 28°C'de 48 h, TAPB için 7°C'de 6-7 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

### **3.2.8.2 Maya ve Küf sayımı**

Maya ve küf sayımı için, hazırlanan petrilere Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC, Merck) agar besiyeri dökülmüş ve katılaştıktan sonra 28°C’de 5-6 gün inkübe edilmiş ve tipik koloniler sayılmıştır.

### **3.2.8.3 Laktik asit bakteri (LAB) sayımı**

LAB yükü, hazırlanan petrilere De Man, Rogosa and Sharpe (MRS, Merck) agar besiyeri dökülmüş 28°C’de 48 h gün inkübe edilmiş ve oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir.

### **3.2.8.4 Toplam *Enterobacteriaceae* sayımı**

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

### **3.2.8.5 Mikrokok-Stafilokok sayımı**

Mikrokok-stafilokok yükü için, hazırlanan petrilere potasyum-tellurit içeren yumurta sarısı ile hazırlanmış Baird Parker Agar (BPA, Merck) besiyeri dökülerek katılaşması beklenmiş ve 35°C’de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, siyah renkli tipik koloniler sayılmıştır. Her petriden 3-5 tipik koloni alınmış, yaş preparat hazırlanarak mikroskop altında morfolojisi incelenmiş ve katalaz testine tabi tutularak doğrulanması yapılmıştır.

### 3.2.9 Renk ölçümü (L\*, a\* ve b\* değerleri)

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

### 3.2.10 Tiyobarbitürik asit ( TBA) değeri tayini

Tiyobarbitürik asit (TBA) değeri, Ahn vd. (1998) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Köfte örneğinden 5 g, 15 mL destile su eklenerek Ultra Turrax ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 2000 g'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Üstteki berrak fazdan 1 mL, içerisinde 2 mL TBA-TCA-HCl çözeltisi (%0,375 TBA ayıracağı, %15 TCA, 0,25 M HCl içeren) bulunan vidalı kapaklı cam test tüplerine alınmış, vortex'de (IKA MS3 Basic, Almanya) karıştırılmıştır. Tüp kapakları kapatıldıktan sonra kaynar su banyosunda 15 dakika renk gelişimi için inkübe edilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan tüpler, 2000 g'de 15 dakika santrifüjlendikten sonra üstteki berrak kısmın absorbansı, UV spektrofotometrede (Labomed UVD-3200, Labomed Inc., Culver City, CA, USA), 531 nm dalga boyunda okunmuştur. Molar ekstinksiyon sabiti  $1,56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$  kullanılarak, örneğin malonaldehit miktarı mg MA/kg örnek olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.11 Peroksit değeri (PD) tayini

Peroksit değeri (PD), Shantha ve Decker (1994) tarafından belirlenen yöntemle yapılmıştır. Oksidasyon derecesine göre cam test tüpüne 0,02-0,05 g yağ örneği tartılmış, üzerine 9,8 mL diklorometan/metanol (2:1) çözeltisi eklenmiş ve vortekste 2-4 saniye karıştırılmıştır. Ardından sırasıyla 50 µl amonyum tiyosiyonat çözeltisi eklenip 2-4 saniye vortekste karıştırılmış ve son olarak 50 µl Fe(II) klorür çözeltisi eklenmiş ve tekrar 2-4 saniye vortekste karıştırılmıştır. Renk gelişimi için karanlıkta 5 dakika bekletildikten sonra 500 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede (Labomed UVD-



3200, Labomed Inc., Culver City, CA, USA) şahide karşı okunmuştur. Hazırlanan standart kurveden peroksit miktarı miliekivalan O<sub>2</sub>/kg yağ olarak hesaplanmıştır.

### **3.2.12 Para-Anisidin değeri (P-Anisidin) tayini**

*p*-Anisidin değeri, 100 ml'de 1 gram yağ içeren çözgen ve reaktiften oluşan çözeltinin reaksiyonu sonucu, 350 nm dalga boyunda oluşan absorbansının 100 katı olarak tanımlanır. Bu test yağda bulunan ikincil parçalanma ürünlerinden aldehitlerin özellikle de 2-alkenallerin ve 2,4-dienallerin miktarını belirler. Yağlardaki aldehit bileşikleri, asetik asit çözeltisinde hazırlanan *p*-anisidin reaktifi ile reaksiyona girer ve oluşan rengin yoğunluğu 350 nm dalga boyunda ölçülür (IUPAC 1989).

### **3.2.13 Duyusal analiz**

Soğukta depolanan köfteler 3 günlük dönemlerde renk, koku ve genel beğeni yönlerinden değerlendirilmişlerdir. Panelist grup 5 kişiden oluşmuş ve panelistler değerlendirecekleri kriterler yönünden önceden bilgilendirilmişlerdir. Duyusal değerlendirme için kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Bütün bir parça köfte, plastik kaba alınmış ve ağzı kapatılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Örnekler iyice havalandırılmış duyuusal analiz laboratuvarında, sarı ışık altında panelistlere sunulmuş, renk ve koku yönlerinden, Ek1'de verilen "köfte duyuusal değerlendirme formu" kullanılarak 7 puan üzerinden değerlendirme yapmaları istenmiştir. Koku olarak panelistler ransit (acılaşma kokusu), kokuşma ve kötü koku yönlerinden örnekleri değerlendirmişlerdir (Eymard vd. 2009). Değerlendirmede 7 puanlık skala kullanılmış, 7 özelliğin en beğenildiği, 1 hiç beğenilmediği puan olarak kabul edilmiştir.

### **3.2.14 İstatistik analiz**

Çalışmada, soğukta depolanan köfte etler muamelenin beş seviyesine (kontrol, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3) ve depolama süresinin dört seviyesine (0., 3., 6. ve 9. günler)

bağlı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, deneme desenine uygun olarak hazırlanan çizelgeler halinde Minitab® paket programında(ver. 15.1) varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucuna göre, gruplar arası farklılıklar, %1 önem düzeyine göre Duncan oklu karşılaştırma testi (MSTAT) kullanılarak belirlenmiştir (Anonymous 2000a).

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Nar kabuğu Ekstraktında Yapılan Analiz Sonuçları

#### 4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı

Liyoflize nar kabuğu ekstraktında belirlenen toplam fenolik madde miktarları mg gallik asit eşdeğeri/kg ekstrakt olarak çizelge 4.1’de verilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda NKE içeren çözeltilerin toplam fenolik madde miktarları kg ekstraktta sırasıyla 136667, 180300 ve 158420 mg gallik asit olarak bulunmuştur. Görüldüğü üzere, nar kabuğundan elde edilen liyofilize ekstraktlar önemli düzeyde toplam fenolik madde içermektedirler. Buna göre köfte ete ilave edilen düzey arttıkça NKE’nin antioksidan etkisi de artacaktır. Nitekim köfteye ilave edilen düzeylerde (%0,1, %0,2 ve %0,3) toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 158, 273 ve 476 mg gallik asit eşdeğeri/kg köfte düzeylerinde olmuştur.

Çizelge 4.1 Nar kabuğu ekstraktlarında belirlenen toplam fenolik madde miktarları (mg gallik asit/kg ekstrakt)

Konsantrasyon	mg gallik asit/kg ekstrakt*
%0,1 NKE	136667
%0,2 NKE	180300
%0,3 NKE	158420
Ortalama	158462±21816

#### 4.1.2 Antioksidan aktivite (TEAC yöntemi)

Antioksidan aktivite, sentetik antioksidan olarak kullanılan etil alkolde çözündürülen %0,01’lik BHT çözeltilisinde ve iki farklı konsantrasyonda (%0,01 ve %0,02) NKE’da belirlenmiştir. BHT ve NKE ekstraktlarında % inhibisyon oranları çizelge 4.2’de ve antioksidan aktivite sonuçları çizelge 4.3’te verilmiştir. İnhibisyon oranları incelendiğinde, NKE ekstraktlarının inhibisyon yüzdelerinin BHT’den daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Antioksidan aktivite hesaplandığında, %0,01

BHT’de 4193,8 mM troloks/g madde, %0,01 NKE’da 4476,7 mM troloks/ g ekstrakt, %0,02 NKE’da 4048,5 mM troloks/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar NKE’nin iyi bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2 BHT ve NKE ekstraktlarının ortalama inhibisyon yüzdeleri

Örnek hacmi ( $\mu$ L)	% inhibisyon*		
	%0,01 BHT	%0,01 NKE	%0,02 NKE
10	7,4	16,9	30,4
20	19,8	34,0	61,3
30	36,3	47,7	86,1

\*Sonuçlar üç tekrarın ortalamasıdır.

Çizelge 4.3 Bitkisel ve kimyasal antioksidan kaynaklarının antioksidan aktivite sonuçları (mM troloks/g ekstrakt)

Kaynak	mM troloks /g ekstrakt*
%0,01 BHT	4193.8
%0,01 NKE	4476.7
%0,02 NKE	4048.4

\*Sonuçlar 3 tekrarın ortalamasıdır.

#### 4.1.3 Antimikrobiyel aktivite

Nar ekstraktlarının farklı üç konsantrasyonu kullanılarak randımanla elde edilen nar ham suyunun farklı mikroorganizma türlerine karşı belirlenen antimikrobiyel aktivite değerleri Çizelge 4.4’de verilmiştir. Nar ekstraktından hazırlanan 3 ardışık konsantrasyondan sadece % 0,2 ve % 0,3’lük konsantrasyonlarının *S. aureus*’a karşı antimikrobiyel etkisi olduğu, test edilen diğer bakterilere karşı ise herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

## 4.2 Köfte Ette Yapılan Analiz Sonuçları

### 4.2.1 Köfte bileşimi

Köfte örneklerde depolama başlangıcında ve sonunda belirlenen % nem, protein, yağ ve kül miktarları çizelge 4.5’de verilmiştir. Depolama başlangıcında belirlenen nem, protein, yağ ve kül miktarları sırasıyla %60,23-61,25, %18,21-19,99, %11,89-12,95 ve %2,21-2,40 arasında değişmiştir. Depolama sonunda (9. gün) nem miktarlarında, K grubu hariç az da olsa bir azalma, protein miktarlarında ise artış gözlenmiştir. Buna göre

Çizelge 4.4 Nar ekstraktlarının antimikrobiyel aktivite değerleri

Bakteriler	İnhibisyon çapları (mm)*				
	Nar ekstraktı konsantrasyonu (w/v)			Kontrol	
	% 0,1	% 0,2	% 0,3	% 0,01 BHT	Asit** kontrol
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. auerus</i>	-	14,31 ± 0,26	16,26 ± 0,60	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-
<i>L. brevis</i>	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-
<i>P. fluorescens</i>	-	-	-	-	-
<i>C. freundii</i>	-	-	-	-	-

\*Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Deneme 2 tekerrür, 2 paralel yapılmış, 4 zon çapının ölçüm ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir .

\*\* Sitrik asit çözeltisi (%1, w/v, pH=3.70)

depolamanın 9. gününde nem miktarları %59,47-60,61, protein miktarları %19,06-20,49, yağ miktarları %11,40-13,19, kül miktarları %2,39-2,44 arasında değişmiştir.

Yapılan varyans analizi sonuçları, köfte örneklerin nem, protein, yağ ve kül miktarlarına, uygulamanın ve depolama süresinin etkisinin önemli olmadığını ( $P>0,01$ ) göstermiştir.

Çizelge 4.5 Soğukta depolanan köftenin nem, kuru madde, protein, yağ ve kül miktarlarında meydana gelen değişmeler (%)

Grup	Süre (gün)	Bileşim (%) <sup>1</sup>			
		Nem	Protein	Yağ	Kül
K	0	60,23±1,46	19,99±0,41	12,21±1,95	2,40±0,08
	9	60,61±0,09	19,06±0,27	12,93±0,37	2,40±0,06
BHT	0	61,25±0,75	19,99±0,05	12,35±2,15	2,21±0,15
	9	59,50±0,89	20,13±0,13	12,67±1,36	2,43±0,02
NKE1	0	60,56±0,41	19,49±0,40	12,60±1,70	2,34±0,05
	9	59,47±0,91	20,27±0,78	13,19±1,31	2,44±0,03
NKE2	0	61,19±0,12	18,98±0,36	11,89±0,28	2,36±0,13
	9	61,01±0,75	20,12±0,05	11,40±2,57	2,39±0,02
NKE3	0	60,82±2,14	18,21±0,28	12,95±0,10	2,34±0,03
	9	60,08±1,34	20,49±0,53	11,47±0,84	2,40±0,01

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

## 4.2.2 Mikrobiyoloji Sonuçları

### 4.2.2.1 Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayım sonuçları

Soğukta depolanan köftelerde belirlenen toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) yükü sonuçları  $\log_{10}$  KOB/g olarak çizelge 4.6 ve şekil 4.1'de görülmektedir. Herhangi bir

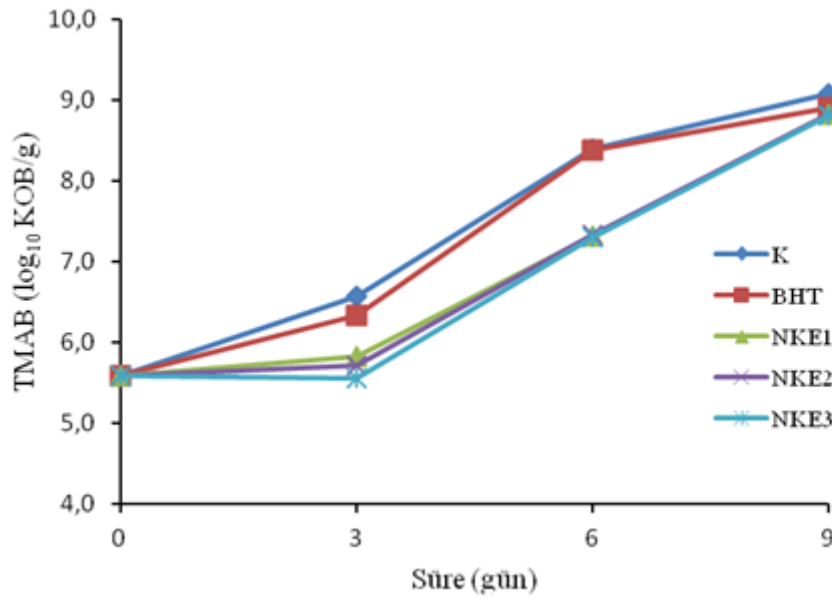
muameleye tabi tutulmamış köfte hamuru başlangıç örneği olarak kabul edilmiş ve TAMB yükü 5,58 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katıldıktan sonra yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında, bu örneklerde TAMB yükünün, BHT için 5,28 (P>0.01), NKE1, NKE2 ve NKE3 için sırasıyla 5,20, 5,03 ve 4,95 KOB/g (P<0,01) olduğu saptanmış (bu sonuçlar tabloda verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Buradan kontrol örneğiyle kıyaslandığında muamele gruplarında antimikrobiyel etkinin birkaç saat içinde bakteriyi etkilemeye başladığı anlaşılmaktadır. Depolama süresi boyunca kontrol, BHT ve farklı konsantrasyonlarda NKE içeren örneklerde TAMB sayısı depolama boyunca birbiriyle orantılı olarak artmıştır. Depolama süresinin TAMB sayısı üzerine etkisi önemli düzeyde olmuş, süre arttıkça TAMB sayısı her bir grupta önemli düzeyde artış göstermiştir (P<0,01). TAMB sayısı, sıfıncı gündeki başlangıç düzeyi olan  $3,80 \times 10^5$  KOB/g (5.58 log) değeri ile karşılaştırıldığında depolamanın 9. gününde ortalama 3,68 log düzeylik bir artış göstererek 8,89 KOB/g seviyesine ulaşmıştır.

Çizelge. 4.6 Köftelerin toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayısına ( $\log_{10}$  KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	5,58±0,02dA	6,57±0,05cA	8,39±0,05bA	9,07±0,08aA	<b>7,40±1,61</b>
BHT	5,58±0,02dA	6,33±0,04cB	8,38±0,00bA	8,89±0,01aB	<b>7,22±1,70</b>
NKE1	5,58±0,02dA	5,82±0,00cC	7,32±0,15bB	8,83±0,01aB	<b>6,79±1,62</b>
NKE2	5,58±0,02dA	5,72±0,01cC	7,34±0,01bB	8,82±0,00aB	<b>6,73±1,70</b>
NKE3	5,58±0,02dA	5,56±0,02cD	7,31±0,03bB	8,81±0,01aB	<b>6,66±1,75</b>
<b>Ort.</b>	<b>5,58±0,00</b>	<b>6,00±0,43</b>	<b>7,75±0,58</b>	<b>8,89±0,11</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>Her bir satırda (a-d) ve her bir sütunda (A-D), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.01).



Şekil 4.1 Soğukta depolama sırasında köftenin TAMB sayısında meydana gelen değişimler

Yapılan varyans analizi sonucu, TAMB yüküne, ilave edilen NKE ve BHT ve depolama süresinin birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ( $P < 0,01$ ) (Çizelge 4.7). Her bir depolama süresinde, en yüksek TAMB yükü K örneklerinde, en düşük

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

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	341,25	0,000**
Depolama süresi (S)	3	10743,51	0,000**
M x S	12	40,59	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P < 0,01$  düzeyinde önemli.

%0,3 NKE içeren örneklerde belirlenmiştir. K örneklerinin TAMB yükü ile diğer örneklerin yükü arasındaki fark 3., 6. ve 9. günlerde önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ( $P < 0,01$ ) (Çizelge 4.6). Şekil 4.1 incelendiğinde, başlangıç, 3. ve takip eden 6. günde NKE ilavesinin TAMB artışını engellemede belirli ölçüde etkili olduğu görülmektedir. Kontrol örnekleriyle kıyaslandığında, K ve BHT arasındaki fark 3, 6 ve



9. günlerde 0,2 log kob/g gibi düşük seviyede görülürken depolamanın 3. gününde NKE1, NKE2 ve NKE3 katılan örneklerde TAMB sayılarında sırasıyla 0,75, 0,85 ve 1,00 log devirlik azalmalar görülmüştür ( $P<0,01$ ). Depolamanın 6. gününde ise aynı örneklerde TAMB sayısında ortalama 1,00 log devirlik azalma olduğu belirlenmiştir. Buradan, başlangıç ile 6. gün arasında NKE'nin konsantrasyonu arttıkça TAMB gelişimini inhibe etmekte veya yavaşlatmakta olduğu anlaşılmaktadır. Depolamanın 9. gününde ise Kontrol örnekleriyle diğer tüm muamele edilen örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $P<0,01$ ), ancak TAMB sayısı üzerinde etkisinin büyüklüğü dikkate alınca, BHT ve NKE ile muamelenin etkisinin yok sayılacak kadar düşük bir değerde, yani TAMB yükünde ortalama 0,25 log düzeyinde bir azalmaya yol açtığı görülmüştür (Çizelge 4.6). Antioksidan etkisi bilinen BHT'in uygulandığı örneklerdeki TAMB sayıları depolamanın 3. ve 9. günlerinde kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı ( $P<0,01$ ) görünse de bu fark 0,24 log KOB/g gibi düşük bir seviyenin altında kalmıştır. Kısaca BHT'nin de TAMB üzerine etkisi yok sayılacak derecede düşük olmuştur. Sonuçta, NKE'nin farklı konsantrasyonları muamele gruplarında depolamanın sadece 3. ve 6. günlerinde TAMB üzerine önemli ölçüde inhibisyon etkisi göstererek bakteri yükünde 1 log düzey kadar azalma sağlamıştır. Bu ise 6. günde muamele gruplarını ön bozulma (kokuşma başlangıcı) noktasının biraz gerisinde tutmuştur. Depolamanın 9. gününde ise kontrol ve tüm muamele gruplarında TAMB sayısı mikrobiyel bozulma ve örneklerin tüketilemeyeceği red noktasında aynı seviyeye ulaşmıştır. Buradan, kullanılan bu konsantrasyonların köftenin mikrobiyel olarak bozulma süresini 6. güne kadar bir miktar geciktirdiği ancak 6. günden sonra geciktiremediği anlaşılmaktadır.

Sağdıç vd. (2011), farklı düzeylerde (%0-10) liyofilize üzüm posası etanolik ekstraktı ilave ederek,  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depoladıkları sığır köftelerinde başlangıç TAMB yükünü en fazla kontrol örneğinde 5,09 log KOB/g bulmuşlardır. TAMB yükünün etanolik üzüm posası ekstraktı içeren tüm örneklerde önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) daha düşük olduğu bildirilmiştir. Depolama süresinin TAMB artışında önemli olduğu ve 48 h sonra en yüksek sayılara ulaşıldığı belirtilmiştir. Araştırmacılar, %1'den 10'a ekstrakt konsantrasyonu arttıkça TAMB yükündeki artışın yavaşladığını ve yüksek ekstrakt

konsantrasyonunun (%10) toplam bakteri yükü üzerine güçlü antimikrobiyel etkisi olduğu sonucuna varmışlardır.

Kanatt vd. (2010), nar kabuğundan (NKE) elde ettikleri liyofilize ekstraktları %0,1 ve %0,5 düzeylerinde pişmiş tavuk ürünlerine (chicken chilly ve chicken lolipop) katmışlar ve 0-3°C'de depolama sırasındaki antimikrobiyel etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, NKE'nin soğukta depolanan tavuk ürünlerinin raf ömrünü 2-3 haftaya uzattığını belirlemişlerdir. Muamele edilmemiş örnekler 7. günde bozulurken (TAMB yükü yaklaşık 6,5 log KOB/g), NKE ile muamele edilen örnekler 20 günde bozulmuştur. Elde edilen sonuçlar NKE'nin güçlü bir antimikrobiyel olduğunu ortaya koymuştur. Bir çok diğer çalışmalarda, bitkisel kaynaklardan elde edilen ekstraktların antimikrobiyel aktiviteleri ortaya konulmuştur (Negi ve Jayaprakasha 2003, Fernández-López vd. 2005).

#### **4.2.2.2 Toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayım sonuçları**

Farklı düzeylerde NKE ekstraktı, BHT içeren ve antioksidan içermeyen K köftelerin soğukta depolama sırasında belirlenen toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) yükleri çizelge 4.8 ve şekil 4.2'de verilmiştir. Köftelerde depolama başlangıcında TAPB yükü 4,40 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katılıp yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında, bu örneklerde TAPB yükünün, BHT için 4,25, NKE1, NKE2 ve NKE3 için sırasıyla 4,22, 4,25 ve 4,09 KOB/g olduğu saptanmış (bu değerler çizelgede verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Buradan, kontrol örneğiyle kıyaslandığında muamele gruplarında antimikrobiyel etkinin birkaç saat içinde bakteriyi etkilemeye başladığı anlaşılmaktadır. Ancak buradaki etki TAMB'lere olan etkiden daha az bulunmuştur. Depolama süresi boyunca kontrol ve muamele gruplarında TAPB yükü birbirine paralel şekilde giderek artmış ve 6. günde tüm gruplarda log 7'nin üzerinde olmuştur. Örnekler arasında en fazla TAPB yükü her bir depolama süresinde K örneklerinde olurken, en düşük NKE3 örneklerinde belirlenmiştir (Şekil 4.2).

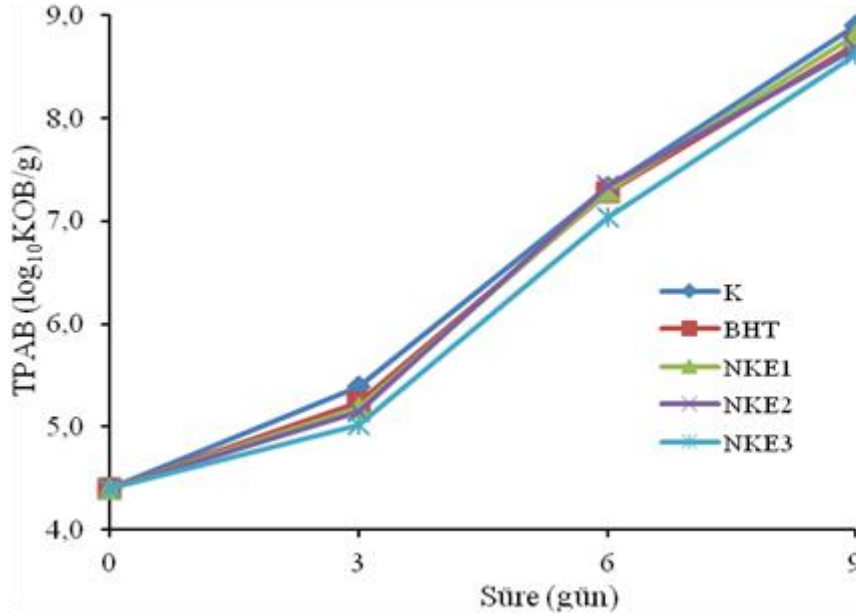
Çizelge 4.8 Köftelerin toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayısına ( $\log_{10}$  KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	4,40±0,07	5,40±0,07	7,34±0,03	8,91±0,06	<b>6,51±1,86A</b>
BHT	4,40±0,07	5,23±0,01	7,28±0,02	8,72±0,06	<b>6,37±1,86B</b>
NKE1	4,40±0,07	5,19±0,03	7,29±0,02	8,81±0,10	<b>6,37±1,91B</b>
NKE2	4,40±0,07	5,15±0,08	7,34±0,05	8,68±0,06	<b>6,36±1,87B</b>
NKE3	4,40±0,07	5,02±0,02	7,04±0,17	8,61±0,04	<b>6,20±1,89C</b>
<b>Ort.</b>	<b>4,40±0,00d</b>	<b>5,20±0,14c</b>	<b>7,26±0,10b</b>	<b>8,75±0,12a</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,01$ ).

Yapılan varyans analizi sonucu, TAPB yüküne muamele gruplarının ve depolama süresinin etkisi önemli olmuştur (Çizelge 4.9). Bu etki en yüksek TAPB yüküne sahip K örnekleri ile daha düşük TAPB yüküne sahip diğer gruplar arasında önemli ( $P<0,01$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.8). BHT, NKE1 ve NKE2 örnekleri arasındaki fark önemli olmazken ( $P>0,01$ ), en düşük TAPB yükü belirlenen NKE3 örnekleri ile diğer örnekler arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ) bulunmuştur. İstatistiksel olarak önemli olsa da, NKE3



Şekil 4.2 Soğukta depolama sırasında köftenin TAPB sayısında meydana gelen değişimler

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

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	38,60	0,000**
Depolama süresi (S)	3	17058,40	0,000**
M x S	12	2,00	0,083
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

katılan örneklerin TAPB sayılarında 3., 6. ve 9. günlerde 0,3 log düzeyin altında çok düşük düzeyde bir azalmanın olduğu görülmüştür. Depolama süresinin etkisi süre uzadıkça TAPB yükü giderek artmış ve her bir süre arasındaki fark önemli düzeyde olmuştur (P<0.01). TAPB yükünde en fazla artış 3. günden sonra gözlenmiştir (Şekil 4.2). Genel olarak TAMB sayımı ile karşılaştırıldığında TPAB sayılarının depolamanın ilk 6 günü boyunca K ve BHT örnekleri için TAMB sayısından 1 log KOB/g gerisinden seyrettiği ancak 9. günde ise hemen hemen aynı seviyeye ulaştıkları gözlenmiştir.

Sağdıç vd. (2011), üzüm posası ekstraktlarının soğukta depolanan köfte kalitesine etkilerini inceledikleri çalışmalarında başlangıç TAPB yükünü log KOB/g olarak kontrol örneğinde 4,08, ekstrakt içeren köftelerde 2,84-4,04 aralığında, 48 saat sonra ise kontrol örneğinde 5,21, ekstraktlı örneklerde 3,40-4,60 aralığında bulmuşlardır. Çalışmamızda elde edilen TAPB yükünün fazla olması, köfteye ilave edilen baharat vs. maddelerden kaynaklanmıştır.

#### 4.2.2.3 Maya-Küf sayım sonuçları

Soğukta depolanan farklı oranlarda NKE içeren köfte örneklerde belirlenen maya-küf sonuçları Çizelge 4.10'da ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Köfte örneklerin başlangıç maya-küf yükü 3,26 log<sub>10</sub>KOB/g olarak belirlenmiştir. TAPB yükü 4,40 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katıldıktan sonra yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında bu örneklerde maya-küf yükü, BHT için 3,12, NKE1, NKE2 ve

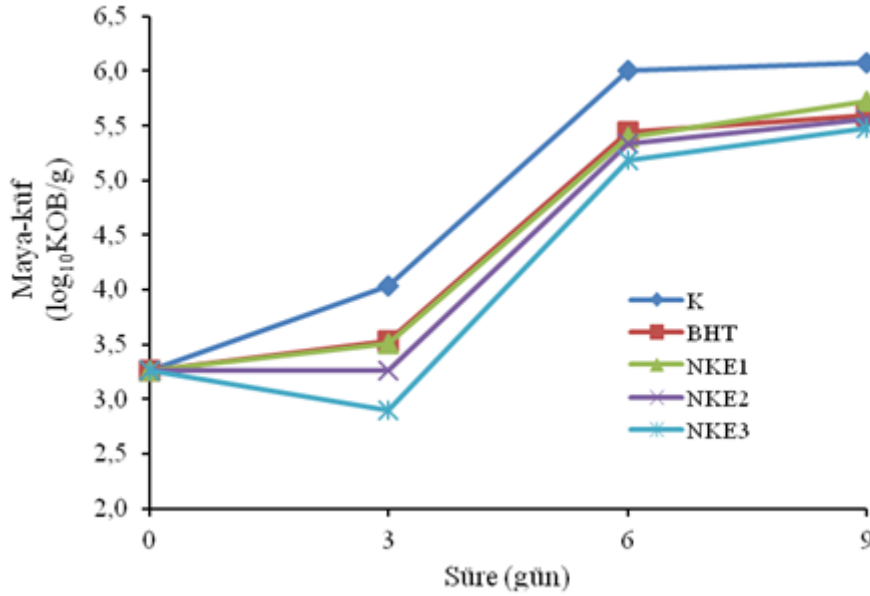
NKE3 için sırasıyla 3,08, 2,77 ve 2,42 KOB/g olduğu saptanmış (bu değerler tabloda verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Diğer yandan BHT ve NKE ekstraktları katılan örneklerden yaklaşık 1 saat içerisinde yapılan ekimler sonucunda ise maya-küf sayılarının 3,53 ile 2,42  $\log_{10}$ KOB/g arasında olduğu görülmektedir. Depolama süresi uzadıkça maya-küf yükü artmış ve 9. günde 6.08  $\log_{10}$ KOB/g ile yine en yüksek K örneğinde ve 5.48  $\log_{10}$ KOB/g ile en düşük NKE3 örneğinde saptanmıştır (Şekil 4.3).

Çizelge 4.10 Köftelerin maya-küf sayısına ( $\log_{10}$  KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	3,26±0,05cA	4,03±0,03bA	6,00±0,05aA	6,08±0,05aA	<b>4,84±1,31</b>
BHT	3,26±0,05cA	3,53±0,01bB	5,44±0,17aB	5,60±0,15aBC	<b>4,42±1,19</b>
NKE1	3,26±0,05cA	3,51±0,02cB	5,40±0,01bBC	5,72±0,07aC	<b>4,43±1,23</b>
NKE2	3,26±0,05cA	3,27±0,03cC	5,33±0,05bBC	5,56±0,07aBC	<b>4,23±1,31</b>
NKE3	3,26±0,05cA	2,90±0,04cD	5,18±0,03bC	5,48±0,10aC	<b>3,99±1,44</b>
<b>Ort.</b>	<b>3,26±0,00</b>	<b>3,45±0,41</b>	<b>5,47±0,31</b>	<b>5,69±2,33</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.01).



Şekil 4.3 Soğukta depolama sırasında köftenin maya-küf sayısında meydana gelen değişimler

Farklı NKE düzeylerinin, depolama süresinin ve bunların interaksyonunun etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu muamele gruplarının, depolama süresinin ve muamele grupları x depolama süresi interaksyonunun etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ( $P<0,01$ ) (Çizelge 4.11). İnteraksiyonun etkisi 3. günden itibaren gözlenmiştir. Buna göre NKE'nin etkisi 3. günde gözlenmiştir. Depolama süresi uzadıkça maya-küf yükü artmış ve bu artış her bir depolama süresi arasında önemli düzeyde olmuştur ( $P<0,01$ ). Depolamanın 3. 6. ve 9 günlerinde Kontrol grubu ile kıyaslandığında BHT ve NKE içeren örneklerde maya-küf gelişiminin önemli ölçüde baskılandığı görülmektedir ( $P<0,01$ ). Depolamanın 3. gününde BHT ve %0,1 NKE içeren örneklerin maya-küf yükleri arasındaki fark önemsiz olurken ( $P>0,01$ ), bu gruplarla %0.2 ve %0.3 NKE içeren örneklerin maya-küf yükleri arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P<0,01$ ). Depolamanın 3. gününde, kontrol örneği ile kıyaslandığında BHT ve NKE1, NKE2 ve NKE3 katılan örneklerde maya-küf sayılarında sırasıyla 0,76, 1,13 ve 0,58 log düzeyinde azalmalar görülmüştür ( $P<0,01$ ). Depolamanın 6. ve 9. günlerinde ise aynı örneklerde maya-küf sayısında ortalama 0,5 log düzeylik azalma olduğu görülmüştür. Bununla birlikte bozulmanın başladığı 6. ve 9. günlerde maya-küf gelişim hızı tüm gruplarda azalmış, kontrol örnekleri için 6 log KOB/g ve antioksidan ilave edilen örnek grupları için ise ortalama 5,5 log KOB/g seviyesinde kalmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.11 Soğukta depolanan köftelerin maya-küf sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	134,67	0,000**
Depolama süresi (S)	3	3387,58	0,000**
M x S	12	5,76	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

Üzüm posası liyofilize ekstraktlarının soğukta depolanan sığır köftelerinde maya-küf gelişimini inhibe ettiği ve yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin daha iyi olduğu belirtilmiştir (Sağdıç vd. 2011). Araştırmacılar, %5 ve %10 düzeylerinde liyofilize üzüm

posası ilave edilen köfte örneklerde 48 saat depolama sırasında maya-küf gelişiminin tamamen inhibe edildiğini bildirmişlerdir.

#### 4.2.2.4 Laktik Asit Bakteri (LAB) sayım sonuçları

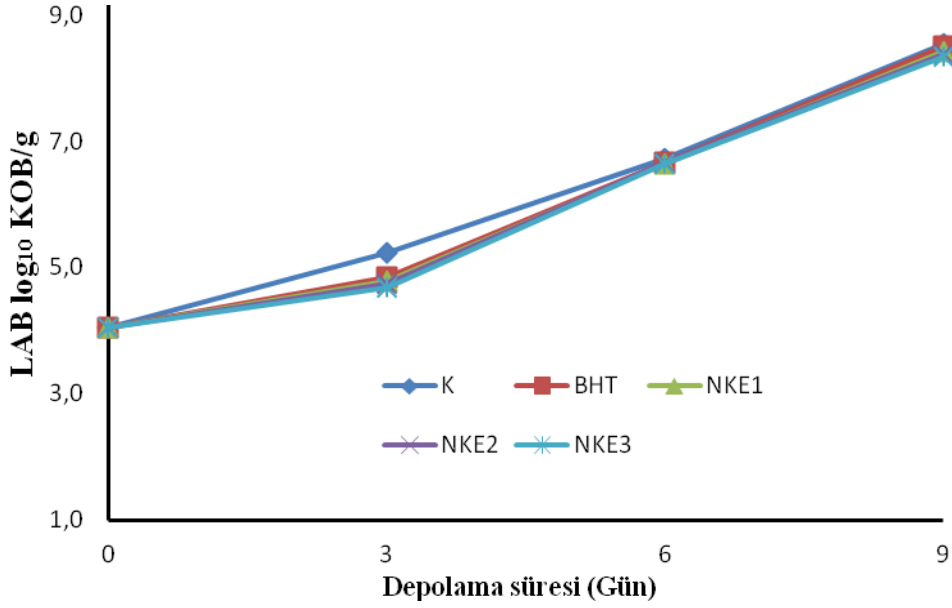
Soğukta depolanan, farklı düzeylerde NKE ve BHT içeren ve hiçbirini içermeyen köftelerde belirlenen laktik asit bakterisi (LAB) sayım sonuçları Çizelge 4.12’de ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Depolamanın başlangıcında köfte örneklerinde LAB yükü  $4,05 \log_{10} \text{KOB/g}$  olarak saptanmıştır. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katıldıktan sonra yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında bu örneklerde LAB yükü, BHT için 3,99, NKE1, NKE2 ve NKE3 için sırasıyla 3,91, 3,86 ve 3,85 KOB/g olduğu saptanmış (bu değerler tabloda verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Depolama ile LAB yükü tüm örneklerde paralel olarak artmış ve 9. günde en yüksek düzeye ulaşmıştır ( $8,34-8,53 \log \text{KOB/g}$ ) (Çizelge 4.12, Şekil 4.4).

Çizelge 4.12 Köftelerin laktik asit bakterisi (LAB) sayısına ( $\log_{10} \text{KOB/g}$ ) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	4,05±0,05dA	5,23±0,02cA	6,73±0,02bA	8,53±0,08aA	<b>6,13±1,94</b>
BHT	4,05±0,05dA	4,84±0,04cB	6,67±0,03bA	8,49±0,08aAB	<b>6,00±2,00</b>
NKE1	4,05±0,05dA	4,79±0,01cBC	6,65±0,03bA	8,41±0,02aBC	<b>5,94±2,00</b>
NKE2	4,05±0,05dA	4,75±0,05cBC	6,66±0,01bA	8,37±0,05aC	<b>5,91±2,01</b>
NKE3	4,05±0,05dA	4,69±0,06cC	6,65±0,00bA	8,34±0,02aC	<b>5,88±2,02</b>
<b>Ort.</b>	<b>4,05±0,00</b>	<b>4,86±0,21</b>	<b>6,67±0,03</b>	<b>8,43±0,08</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.01).



Şekil 4.4 Soğukta depolama sırasında köftenin LAB sayısında meydana gelen değişimler

Köfte örneklerde faktörlerin etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu NKE konsantrasyonunun, depolama süresinin ve NKE konsantrasyonu x depolama süresi interaksiyonunun önemli olduğunu ( $P < 0,01$ ) göstermiştir (Çizelge 4.13). Şekil 4.4’de görüldüğü gibi, LAB gelişimine BHT ve NKE ekstraktlarının etkisi depolamanın 3. gününde önemli olurken ( $P < 0,01$ ), sonraki günler etkisi önemli olmamıştır ( $P > 0,01$ ). Depolamanın 3. gününde, kontrol örneği ile kıyaslandığında BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 katılan örneklerde LAB sayılarında sırasıyla 0,39, 0,44, 0,48 ve 0,54 log seviyelerinde de olsa düşük düzeyde azalmalar görülmüştür ( $P < 0,01$ ) (Çizelge 4.12). Depolama süresi LAB yükünün artışına neden olmuş ve tüm analiz dönemlerinde, her bir grupta belirlenen LAB yükleri, bir öncekinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur.



Çizelge 4.13 Soğukta depolanan köftelerin LAB sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	47,26	0,000**
Depolama süresi (S)	3	23958,18	0,000**
M x S	12	8,19	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

Doğal ekstraktların pişirilerek, soğukta depolan sığır köftelerinde antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada, LAB yükünün kontrol örneklerinde depolama ile birlikte arttığı belirtilmiştir. Buna göre, kontrol örneklerinde 1. günde 2,00 log KOB/g'den 12. günde 3,30 log KOB/g'a, ekstrakt içeren örneklerde ise ya hiç oluşmadığı veya kontrol örneklerden daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir (Fernandez-lopez vd. 2005). Çalışmamızda köfte örneklerinde belirlenen LAB sayılarının bu çalışmadaki yüklerden daha yüksek olması, çalışma materyalimizin çiğ olmasından kaynaklanmıştır.

#### 4.2.2.5 Toplam *Enterobacteriaceae* sayım sonuçları

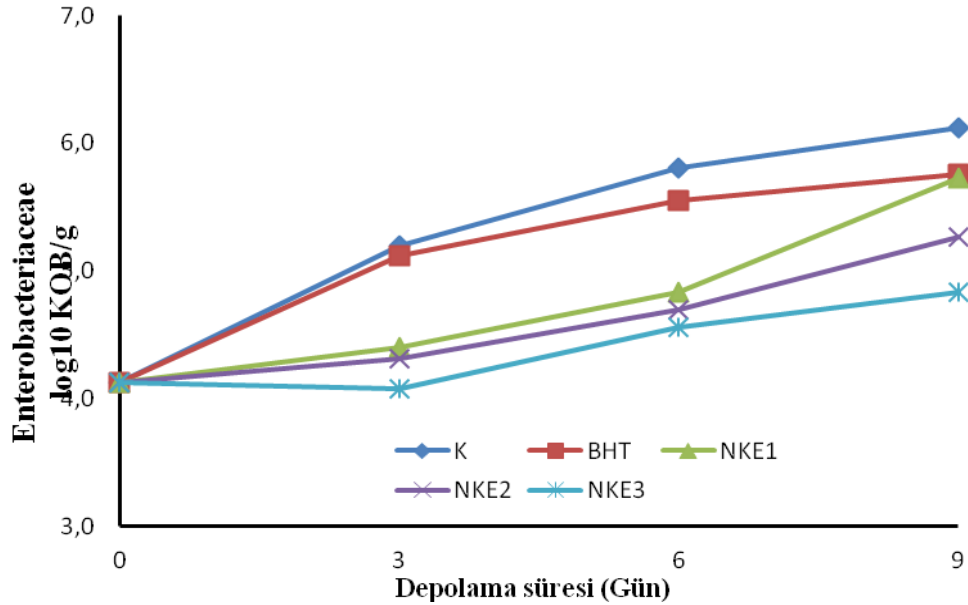
Soğukta depolanan köftelerde belirlenen *Enterobacteriaceae* yükleri Çizelge 4.14'de ve Şekil 4.5'de görülmektedir. Depolama başlangıcında toplam *Enterobacteriaceae* yükü  $\log_{10}$  KOB/g olarak 4,13 bulunmuştur. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katıldıktan sonra yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında bu örneklerde toplam *Enterobacteriaceae* yükü, BHT için 4,03 ( $P>0.01$ ), NKE1, NKE2 ve NKE3 için sırasıyla 3,61, 3,61 ve 3,54 KOB/g ( $P<0.01$ ) olduğu saptanmış (bu değerler tabloda verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Depolama süresi boyunca *Enterobacteriaceae* yükü 3. ve 6. Günlerde en fazla kontrol ve BHT örneklerinde olurken, NKE içeren örneklerde konsantrasyon arttıkça daha düşük yükler belirlenmiştir (Şekil 4.5).

Çizelge 4.14 Köftelerin *Enterobacteriaceae* sayısına ( $\log_{10}$  KOB/g) NKEkonsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	4,13±0,11dA	5,20±0,03cA	5,81±0,03bA	6,12±0,09aA	<b>5,32±0,88</b>
BHT	4,13±0,11dA	5,12±0,02cA	5,55±0,04bA	5,76±0,02aB	<b>5,11±0,77</b>
NKE1	4,13±0,11dA	4,40±0,14cB	4,83±0,04bB	5,73±0,03aB	<b>4,64±0,88</b>
NKE2	4,13±0,11dA	4,31±0,14cBC	4,70±0,05bB	5,27±0,22aC	<b>4,47±0,69</b>
NKE3	4,13±0,11dA	4,08±0,09bC	4,56±0,05aB	4,83±0,18aD	<b>4,25±0,57</b>
<b>Ort.</b>	<b>4,13±0,00</b>	<b>4,62±0,51</b>	<b>5,09±0,55</b>	<b>5,54±0,50</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-D), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).



Şekil 4.5 Soğukta depolama sırasında köftenin *Enterobacteriaceae* sayısında meydana gelen değişimler

Varyans analizi sonucu *Enterobacteriaceae* yüküne muamele şeklinin, depolama süresinin ve muamele şekli x depolama süresi interaksiyonunun etkili olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.15). İnteraksiyonun etkisine bakıldığında (Çizelge 4.14), 3. günde NKE ilavesinin toplam *Enterobacteriaceae* çoğalmasını baskıladığı görülmektedir. BHT ilavesinin toplam *Enterobacteriaceae* yükü üzerine herhangi bir etkisi olmadığı, buna karşın NKE ilavesinin etkili olduğu görülmektedir.

*Enterobacteriaceae* yüküne depolama süresinin etkisi önemli olmuş, her bir grupta depolama süresi arttıkça yük önemli düzeyde artmıştır ( $P<0,01$ ) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.15 Soğukta depolanan köftelerin *Enterobacteriaceae* sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	179,59	0,000**
Depolama süresi (S)	3	640,79	0,000**
M x S	12	7,59	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

Şekil 4.5’de görüldüğü gibi, toplam *Enterobacteriaceae* üzerine NKE ekstraktlarının etkisi depolamanın 3., 6. ve 9. günlerinde önemli olmuş ( $P<0,01$ ) ve NKE konsantrasyonları arttıkça etki de doğru orantılı olarak artmıştır. Depolama süresi boyunca kontrol örneği ile kıyaslandığında NKE1, NKE2 ve NKE3 katılan örneklerde LAB sayılarında sırasıyla 3. gün için 0,89-1,12, 6. gün için 0,89-1,25, 9. gün için ise 0,39-1,29 log düzeyinde azalmalar görülmüştür ( $P<0,01$ ) (Çizelge 4.14). Sonuçta, NKE’nin farklı konsantrasyonları muamele gruplarında depolamanın tüm günlerinde toplam *Enterobacteriaceae* üzerine önemli ölçüde baskılayıcı etki göstererek bakteri yükünde 1 log düzeyin üzerinde sağlayarak bakterileri depolama sonuna kadar düşük düzeyde (ortalama 5 log KOB/g) tutmuştur.

#### 4.2.2.6 Mikrokok-Stafilokok sayım sonuçları

Farklı düzeylerde NKE içeren köfterde depolama sırasında belirlenen mikrokok-stafilokok sayıları Çizelge 4.16’da ve Şekil 4.6’da görülmektedir. Depolamanın başında belirlenen mikrokok-stafilokok yükü 3,52 KOB/g olarak saptanmıştır. Daha sonra bu köfte hamuruna BHT ve NKE ekstraktları katıldıktan sonra yaklaşık 1,5 saat içinde yapılan sayım sonuçları kontrol örneği ile kıyaslanarak dikkate alındığında bu örneklerde toplam mikrokok-stafilokok yükü, BHT için 3,57, NKE1, NKE2 ve NKE3

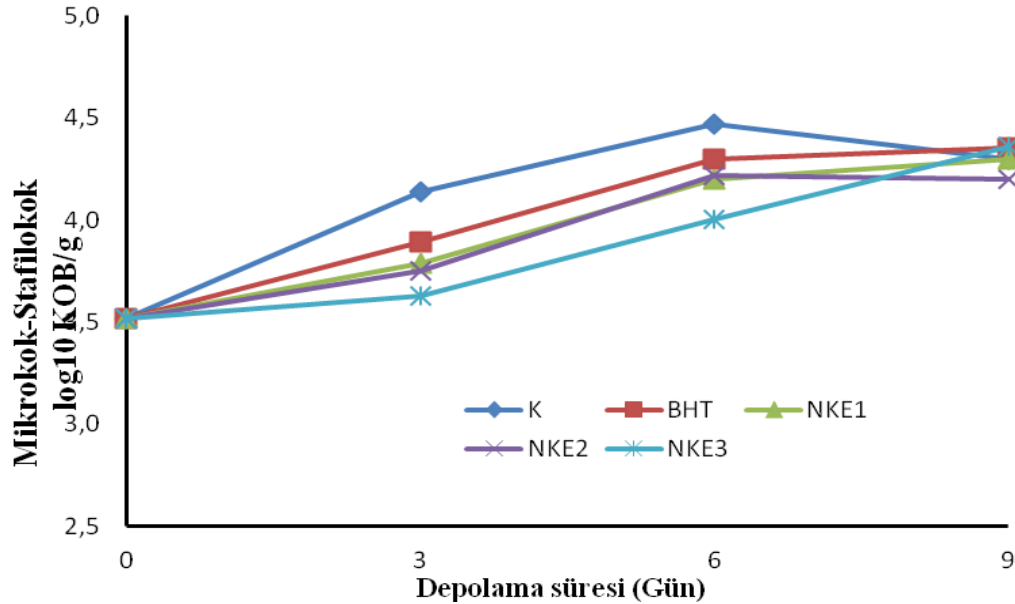
için sırasıyla 3,55, 3,10 ve 2,96 KOB/g olduğu saptanmış (bu değerler tabloda verilmiştir) ve beklendiği gibi depolama boyunca artmıştır. Mikrokok-stafilokok yükü depolama sırasında 6. güne kadar giderek artmış ve 6. günden sonra tüm gruplarda durmuş kontrol grubunda bir miktar düşmüştür. Bu düşüş, diğer mikroorganizmaların ortama hakim olarak mikrokok-stafilokok bakterilerin gelişmesini inhibe etmesi ile açıklanabilir.

Çizelge 4.16 Köftelerin mikrokok-stafilokok sayısına ( $\log_{10}$  KOB/g) NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	3,52±0,04cA	4,14±0,01bA	4,47±0,12aA	4,30±0,07abA	<b>4,11±0,42</b>
BHT	3,52±0,04cA	3,89±0,05bAB	4,30±0,09aA	4,35±0,01aA	<b>4,03±0,37</b>
NKE1	3,52±0,04cA	3,79±0,01bB	4,20±0,12aAB	4,30±0,13aA	<b>3,96±0,35</b>
NKE2	3,52±0,04cA	3,75±0,03bB	4,22±0,10aAB	4,20±0,06aA	<b>3,82±0,53</b>
NKE3	3,52±0,04cA	3,63±0,07cB	4,00±0,03bB	4,36±0,23aA	<b>3,74±0,60</b>
<b>Ort.</b>	<b>3,52±0,00</b>	<b>3,84±0,19</b>	<b>4,24±0,17</b>	<b>4,30±0,06</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-B), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).



Şekil 4.6 Soğukta depolama sırasında köftenin mikrokok-stafilokok sayısında meydana gelen değişimler

Muamele şeklinin ve depolama süresinin etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu, muamele şeklinin, depolama süresinin ve muamele şekli x depolama süresi interaksiyonunun etkili olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.17). Depolamanın 3. gününde, sadece K ile NKE ilaveli gruplar arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ) olmuştur. Öyleki, NKE1, NKE2 ve NKE3 katılan örneklerde 0,35-0,51 log düzeyinde azalmalar görülürken ( $P<0,01$ ) diğer gruplar arasındaki fark ise önemsiz ( $P>0,01$ ) bulunmuştur. Depolamanın 6. gününde mikrokok-stafilokok yüklerindeki değişim K ile NKE3 arasında önemli (0,47 log düzeylik azalma) ( $P<0,01$ ), diğer gruplar arasında önemsiz olmuştur ( $P>0,01$ ). Depolamanın 9. gününde ise gruplar arasında fark gözlenmemiştir ( $P>0,01$ ) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17 Soğukta depolanan köftelerin mikrokok-stafilokok sayısında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	20,36	0,000**
Depolama süresi (S)	3	219,06	0,000**
M x S	12	4,53	0,001**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

#### 4.2.3 Renk değerleri

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

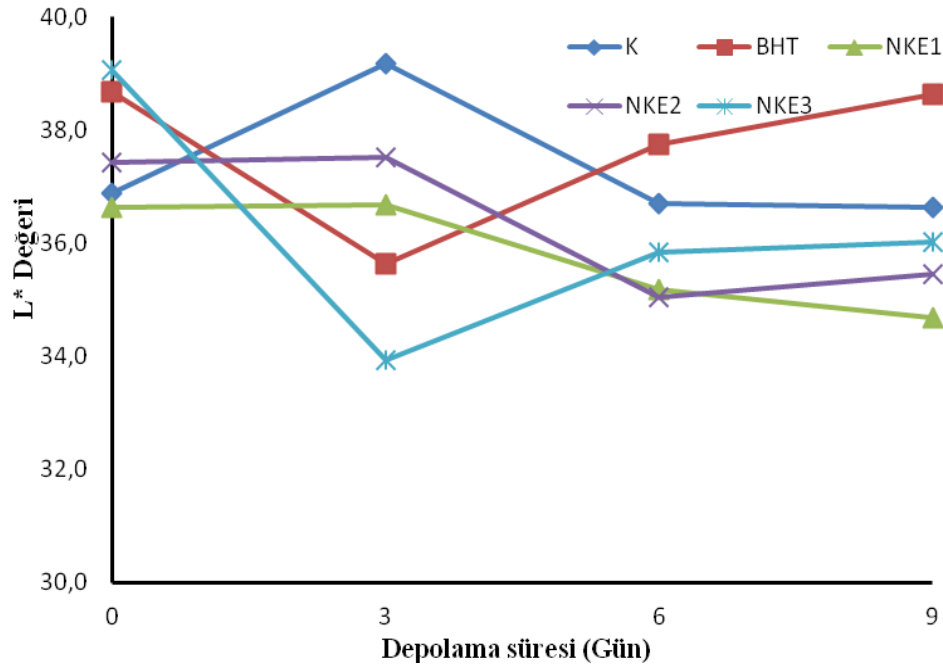
Kontrol, BHT, NKE1, NKE2, NKE3 ilaveli köfte gruplarının 9 gün boyunca buzdolabı koşullarında depolanması sırasında belirlenen CIE L\* (parlaklık) değerlerindeki değişim çizelge 4.18’de ve şekil 4.7’de verilmiştir. Parlaklık derecesi olarak tanımlanan L\* değerleri depolama başlangıcında en düşük NKE1’de (36,64) ve en yüksek NKE3’de (39,06) belirlenmiştir. Köftelerin başlangıç ve 9. gün L\* değerlerindeki değişim incelendiğinde, K örneklerinde 36,87’den 36,62’ye, BHT örneklerinde 38,67’den

38,62'ye, NKE1 örneklerinde 36,64'den 34,67'ye, NKE2 örneklerinde 37,43'den 35,46'ya ve NKE3 örneklerinde 39,06'dan 36,02'ye azalma olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.18). Depolama sonunda tüm örneklerin L\* değerlerinde azalma olduğu görülmektedir. Mikrobiyolojik sonuçlara göre, K örnekler 3. günden itibaren tüketilebilirlik özelliklerini yitirmiştir. Buna bağlı olarak L\* değerleri 3. günde artmış, 6. ve 9. günlerde ise azalmıştır. NKE1 ve NKE2 örneklerinin L\* değerlerinde 6.

Çizelge 4.18 Köftenin L\* değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	36,87±3,75	39,17±3,12	36,70±1,37	36,62±0,69	<b>37,34±2,24</b>
BHT	38,67±1,63	35,63±0,58	37,73±0,90	38,62±0,80	<b>37,66±1,54</b>
NKE1	36,64±1,44	36,68±2,41	35,18±0,15	34,67±0,14	<b>35,80±1,42</b>
NKE2	37,43±0,33	37,51±0,93	35,04±0,83	35,46±0,29	<b>36,36±1,30</b>
NKE3	39,06±2,18	33,92±1,94	35,84±1,23	36,02±1,28	<b>36,21±2,35</b>
<b>Ort.</b>	<b>37,73±1,92</b>	<b>36,58±2,40</b>	<b>36,10±1,30</b>	<b>36,28±1,52</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.



Şekil 4.7 Soğukta depolama sırasında köftenin L\* değerinde meydana gelen değişimler

günde azalma gözlenmiştir. BHT ve NKE3 içeren örneklerin L\* değerlerinde depolamanın 3. gününde azalma, 6. ve 9. günlerinde ise artma gözlenmiştir (Şekil 4.7). Depolama süresince L\* değerinde meydana gelen değişmelere farklı düzeylerde NKE ilavesinin ve depolama süresinin etkisini belirlemek üzere uygulanan varyans analizi sonucu, bu faktörlerin etkisinin önemli olmadığını göstermiştir ( $P>0,01$ ) (Çizelge 4.19). Ancak L\* değerinde depolama süresince meydana gelen azalmanın, mikrobiyel değişimler sonucunda ette meydana gelen renk değişimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Turan, 2011).

Çizelge 4.19 Soğukta depolanan köftelerin L\* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	1,93	0,145
Depolama süresi (S)	3	2,08	0,135
M x S	12	1,55	0,186
Hata	20		
Toplam	39		

Diğer bulgularda da antioksidan ve antimikrobiyel içeren kıyma etlerin soğukta depolanması sırasında L\* değerinde azalma olduğu, fakat bu azalmanın önemli düzeyde olmadığı ifade edilmiştir (Quilo vd. 2009, Hoyle Parks vd. 2012). Diğer yandan doğal ekstraktların (biberiye, portakal ve limon) antioksidan ve antimikrobiyel etkilerinin araştırıldığı pişmiş ve 8°C’de depolanmış sığır köftelerinde L\* değerine gerek bitkisel ekstraktların gerekse depolama süresinin etkisi önemli bulunmuştur (Fernández-López vd. 2005). Çalışmada depolamanın 1. gününden 12. gününe L\* değerinde tüm gruplarda artış olduğu ve en fazla artışın K örneklerinde gözlemlendiği ifade edilmiştir. Köfte tipi ürünlerde depolama sırasında L\* değerinde gözlenen artışın metmiyogloblin (MMb) oluşumu ile ilgili olduğu belirtilmektedir (Fernández-López vd. 2005). Antioksidan maddelerin varlığında MMb oluşumunun geciktirilebildiği ve L\* değerinin azaldığı ifade edilmektedir. Çalışmamızda L\* değerinde en fazla azalma depolamanın 3. gününde BHT ve %0.3 NKE içeren örneklerde gözlenmiştir. Yani MMb oluşumunu en fazla BHT ve yüksek NKE düzeyi yavaşlatmıştır.

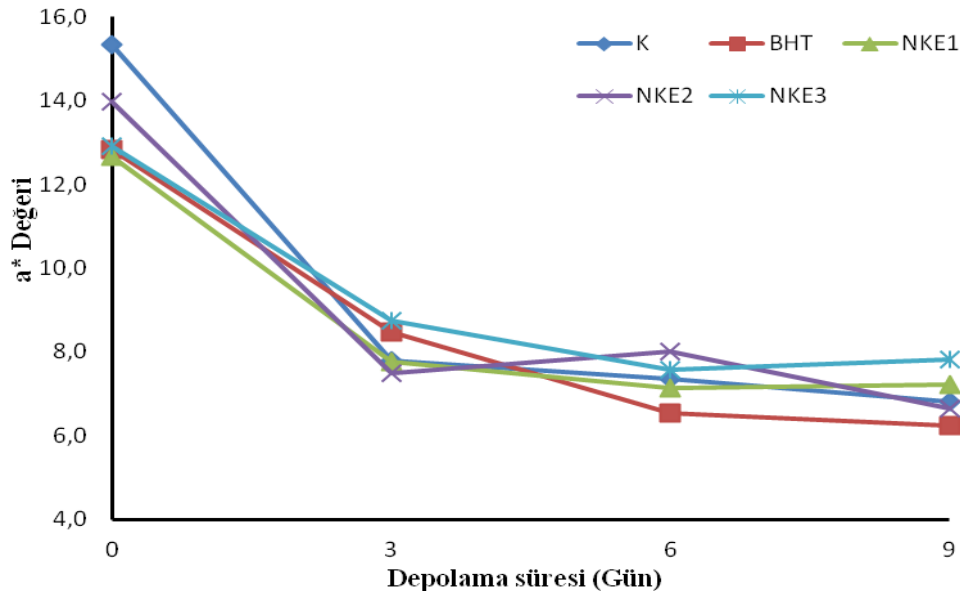
Soğukta depolanan köftelerde belirlenen kırmızılık ( $a^*$ ) değerleri Çizelge 4.20’de ve Şekil 4.8’de görülmektedir. K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinde başlangıç  $a^*$  değerleri sırasıyla 15,32, 12,84, 12,67, 13,96 ve 12,92 olarak belirlenmiş ve depolamanın 3. gününde tüm gruplarda sırasıyla 7,80, 8,48, 7,77, 7,49 ve 8,74’e azalmıştır. Köfte örneklerin  $a^*$  değerleri 3. günden 9. güne daha az olmak üzere düşüş göstermiş ve 9 günlük depolama sonunda sırasıyla 6,80, 6,25, 7,21, 6,65 ve 7,81 olarak belirlenmiştir. En fazla düşüş, sentetik veya bitkisel madde içermeyen kontrol örneklerinde belirlenirken, en az düşüş ise %0,3 düzeyinde NKE içeren NKE3

Çizelge 4.20 Köftenin  $a^*$  değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	15,32±1,40	7,80±0,81	7,35±0,93	6,80±1,93	<b>9,32±3,86</b>
BHT	12,84±0,07	8,48±0,58	6,54±0,32	6,25±0,18	<b>8,53±2,83</b>
NKE1	12,67±1,15	7,77±0,30	7,14±0,48	7,21±1,39	<b>8,70±2,57</b>
NKE2	13,96±0,64	7,49±0,38	8,02±0,17	6,65±0,90	<b>9,03±3,12</b>
NKE3	12,92±0,27	8,74±0,41	7,57±0,53	7,81±0,57	<b>9,26±2,34</b>
<b>Ort.<sup>2</sup></b>	<b>13,54±1,23a</b>	<b>8,06±0,64b</b>	<b>7,32±0,66Bc</b>	<b>6,94±1,03c</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>a-c: İlgili satırda, aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.01).



Şekil 4.8 Soğukta depolama sırasında köftenin  $a^*$  değerinde meydana gelen değişimler



örneklerinde belirlenmiştir (Şekil 4.8). Farklı düzeylerde bitkisel ekstrakt ilavesinin ve depolama süresinin a\* değerine etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu, uygulamanın etkisinin önemli olmadığını ( $P>0,01$ ), depolama süresinin etkisinin ise önemli olduğunu ( $P<0,01$ ) göstermiştir (Çizelge 4.21). Depolama süresi uzadıkça a\* değeri azalmış, bu azalma 0., 3. ve 9. günler arasında önemli ( $P<0,01$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.21 Soğukta depolanan köftelerin a\* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	1,42	0,264
Depolama süresi (S)	3	141,62	0,000**
M x S	12	1,68	0,148
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

Kırmızılık (a\*) değeri, et ve et ürünlerinin görsel kabul edirliliği açısından önemli parametrelerden birisidir (McCarthy vd. 2001, Rhee vd. 2003). Yapılan çalışmaların bir çoğunda et ve et ürünlerinde meydana gelen oksidasyonun a\* değerini düşürdüğü belirlenmiştir (Higgins vd. 1998, Lee vd. 1998). Bu bakımdan, NKE3 ilaveli grupta a\* değerinde meydana gelen düşüşün en az olması, yüksek konsantrasyonda NKE ilavesinin köftenin rengi üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermiştir. Fernández-López vd. (2005), doğal ekstraktların (biberiye, limon ve portakal lifi) pişmiş ve 8°C'de depolanmış sığır köftelerinin a\* değerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tüm örneklerin a\* değerinin depolama süresince azaldığını, bu azalmanın en fazla kontrol örneğinde olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, a\* değerindeki azalmanın en az biberiye ekstraktı içeren örneklerde belirlendiğini, yani bu ekstraktların oksidasyonu yavaşlattığını ifade etmişlerdir. Çalışmamızda depolamanın 6. gününde a\* değerinde en fazla azalma K örneğinde, daha sonra BHT ve birbirlerine çok yakın olmak üzere NKE içeren örneklerde gözlenmiştir.

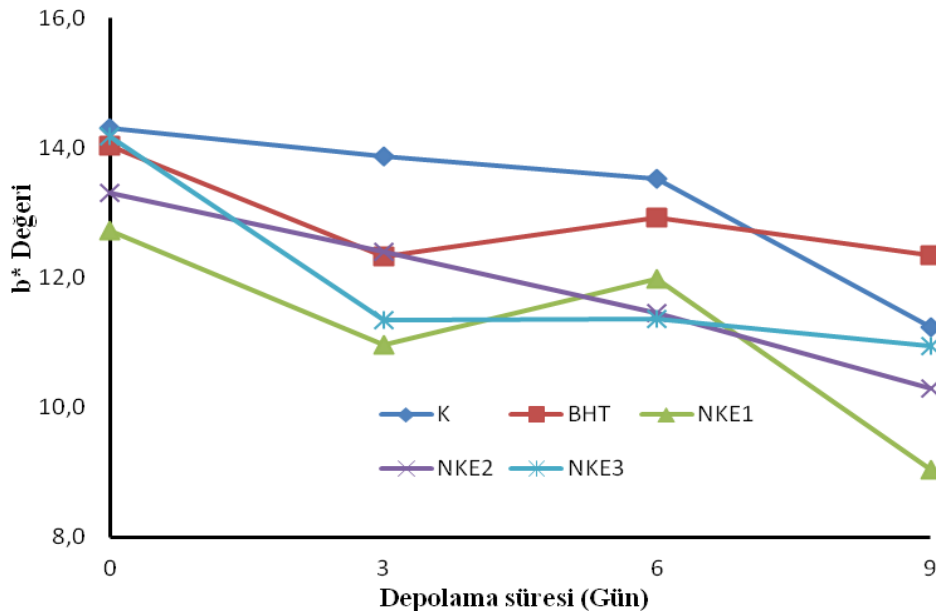
Soğukta depolanan köftelerde belirlenen sarılık ( $b^*$ ) değerleri çizelge 4.22’de ve şekil 4.9’da verilmiştir. K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinde başlangıç değerleri sırasıyla 14,31, 14,03, 12,72, 13,31 ve 14,18 olarak belirlenmiş, depolama sırasında tüm gruplarda azalma gözlenmiş ve 9. günde sırasıyla 11,24, 12,35, 9,04, 10,29 ve 10,95 olarak belirlenmiştir. Başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında depolama, tüm örneklerin  $b^*$  değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Sarılık değerlerinde en fazla düşüş NKE1 grubundaki örneklerde, en az düşüş BHT örneklerinde izlenmiştir.

Çizelge 4.22 Köftenin  $b^*$  değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	14,31±1,61	13,86±1,97	13,52±1,324	11,24±0,60	<b>13,23±1,70A</b>
BHT	14,03±0,06	12,33±1,25	12,93±0,26	12,35±0,60	<b>12,91±0,91A</b>
NKE1	12,72±0,27	10,97±1,31	11,97±0,17	9,04±0,72	<b>11,17±1,59B</b>
NKE2	13,31±0,55	12,40±0,31	11,46±0,22	10,29±0,83	<b>11,87±1,26AB</b>
NKE3	14,18±1,38	11,34±1,09	11,37±0,31	10,95±1,00	<b>11,96±1,58AB</b>
<b>Ort.</b>	<b>13,71±0,97a</b>	<b>12,18±1,44b</b>	<b>12,25±1,01b</b>	<b>10,78±1,29c</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-B), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,01$ ).



Şekil 4.9 Soğukta depolama sırasında köftenin  $b^*$  değerinde meydana gelen değişimler

İlave edilen sentetik antioksidan ve farklı NKE konsantrasyonunun ve depolama süresinin b\* değerine etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu hem muamelenin hem de depolama süresinin b\* değerine etkisinin önemli olduğunu (P<0,01) göstermiştir (Çizelge 4.23). Depolama süresi arttıkça b\* değeri düşüş göstermiş, en fazla düşüş depolamanın 3. ve 9. günlerinde gözlenmiştir (P<0,01). Muamele grupları arasında en yüksek b\* değeri ortalaması olan K (13,23) örnekleri ile en düşük b\* değeri ortalaması olan NKE1 (11,17) örnekleri arasındaki fark önemli (P<0,01), diğerleri arasındaki fark önemsiz (P>0,01) olmuştur (Çizelge 4.22). Başlangıç analizlerinde en yüksek sarılık değeri kontrol grubunda elde edilirken en düşük değerler NKE1 ve NKE2 örneklerinde elde edilmiştir. Nar kabuğu ekstraktı ilavesinin köfte örneklerinde sarılık değerleri üzerine az ama önemli derecede etki ettiği belirlenmiştir (P<0,01). Araştırmacılar kırmızılık değerindeki azalma ve sarılık değerindeki yüksekliği, lipid oksidasyonundaki artıştan ve oksidasyonla birlikte parlak renkte olan heme proteinlerinin oksidasyon rengi olan kahverenkli met-heme proteinlere dönüşmesinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir (Sanchez-Alonso vd. 2008).

Çizelge 4.23 Soğukta depolanan köftelerin b\* değerinde meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	6,14	0,002**
Depolama süresi (S)	3	15,74	0,000**
M x S	12	0,96	0,512
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

#### 4.2.4 Tiyobarbitürik asit değeri

Soğukta depolanan BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 içeren ve antioksidansız K köfte örneklerinde belirlenen tiyobarbitürik asit (TBA) değerleri Çizelge 4.24'de ve Şekil 4.10'da görülmektedir. Depolama başlangıcında K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinde TBA değerleri mg MA/kg köfte olarak sırasıyla 1,02, 0,89, 0,76, 0,74 ve

0,66 iken, depolama sırasında giderek artmış ve 9. günde sırasıyla 1,49, 1,18, 1,03, 1,04 ve 0,98 değerlerine ulaşmıştır.

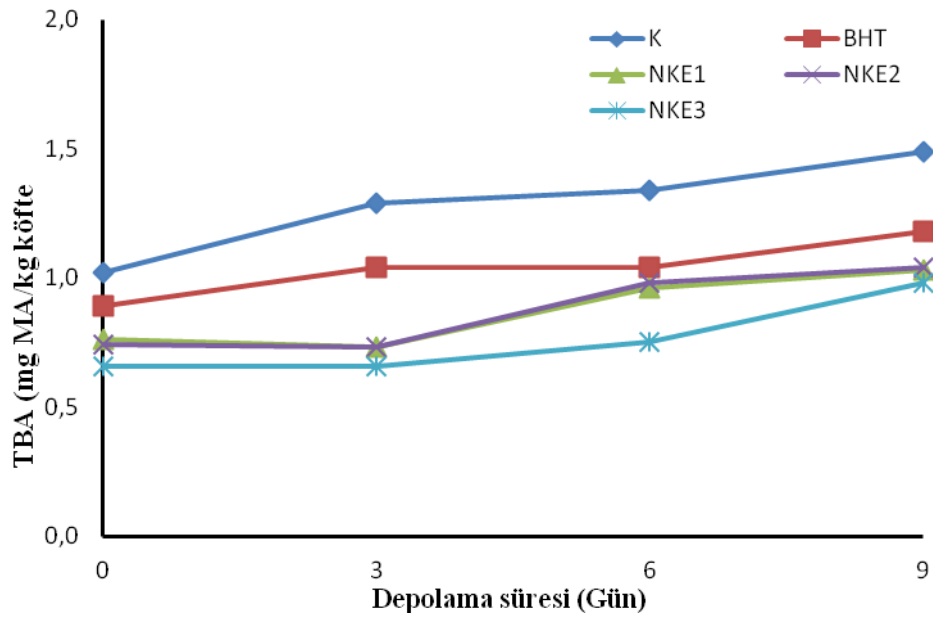
Şekil 4.10 incelendiğinde, TBA değerinde en fazla artışın kontrol örneklerinde, en az ise NKE3 örneklerinde olduğu görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonuçları TBA değerine muamelenin, depolama süresinin ve muamele x süre interaksiyonunun etkisini göstermiştir (Çizelge 4.25). NKE ilavesi lipid oksidasyonunu geciktirmede başlı başına etkili olmuştur.

Çizelge 4.24 Köftenin TBA değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	1,02±0,11cA	1,29±0,31bA	1,34±0,06bA	1,49±0,04aA	<b>1,28±0,19</b>
BHT	0,89±0,02cB	1,04±0,09bB	1,04±0,01bB	1,18±0,02aB	<b>1,04±0,12</b>
NKE1	0,76±0,02bC	0,73±0,04bC	0,96±0,03aB	1,03±0,11aC	<b>0,87±0,14</b>
NKE2	0,74±0,04bC	0,73±0,06bC	0,98±0,06aB	1,04±0,02aC	<b>0,87±0,15</b>
NKE3	0,66±0,08bC	0,66±0,02bC	0,75±0,05bC	0,98±0,11aC	<b>0,76±0,15</b>
<b>Ort.</b>	<b>0,81±0,14</b>	<b>0,89±0,25</b>	<b>1,02±0,20</b>	<b>1,14±0,20</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,05).



Şekil 4.10 Soğukta depolama sırasında köftenin TBA değerinde meydana gelen değişimler

Özellikle ilk 3 günde meydana gelen malonaldehit miktarı NKE içeren örneklerin hepsinde BHT ve K örneklerinden önemli düzeyde az olmuştur ( $P<0,05$ ). NKE konsantrasyonunun etkisi 6. günde ortaya çıkmış ve NKE3 örneklerinin TBA değeri ile diğer grupların TBA değerleri arasındaki fark önemli ( $P<0,05$ ) olmuştur. TBA değerinde en fazla artış, depolamanın 3. ve 9. günlerinde K örneklerinde belirlenmiştir (Çizelge 24, Şekil 4.10). Buna göre, malonaldehit oluşumunu %0,1, %0,2 ve %0,3 NKE düzeyleri 9 gün boyunca engellemiş, BHT ise kontrol grubundan daha iyi bir engelleyici olmuştur.

Çizelge 4.25 Soğukta depolanan köftelerin TBA değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	107,21	0,000**
Depolama süresi (S)	3	67,89	0,000**
M x S	12	2,83	0,019*
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$ ; \* $P<0,05$  düzeyinde önemli.

TBA değeri, lipid oksidasyonu sonucu meydana gelen malonaldehitin miktarını veren, oksidasyonun önemli bir göstergesidir (Fan vd. 2009, Özen vd. 2011). Bin shan vd. (2009), 25 gr et örneğinin 100 ml nar kabuğu ekstraktı ile muamele edilerek 9 gün boyunca mikrobiyolojik ve oksidasyon yönünden incelendikleri çalışmalarında 0. gün 0,70 seviyesinde ölçülen TBA değerlerinin 9 gün sonunda NKE içeren örnekte 0,8 düzeyinde olduğu kontrol grubunda ise bu değer 2,1 seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar NKE'nin yapısındaki fenolik bileşikler ve tanenler (Shan vd. 2005, 2007 ) sayesinde serbest radikal oluşumunu engellediğini ve metalleri bağladığını belirtmişlerdir (Brown vd. 1998). Nar kabuğu liyofilize ekstraktının tavuk ürünlerinin raf ömrüne etkisinin belirlendiği bir çalışmada, %0,1 ve %0,5 düzeylerinde NKE ile muamele edilen tavuk ürünleri pişirilmiş ve 0-3°C'de 20 gün depolanmışlardır. Tavuk ürünlerinin TBA değerleri depolama sırasında K örneklerinde hızlı artarken, NKE içeren örneklerde konsantrasyon arttıkça daha yavaş artmış ve araştırmacılar soğukta depolama et ürünlerinde lipid oksidasyonunu geciktirmede NKE'nin etkili olduğunu ifade etmişlerdir (Kanatt vd. 2010). Fernandez-Lopez vd. (2005), sığır köftelerine ilave edilen biberiye, limon ve portakal liflerinin, pişmiş köftelerin 8°C'de 12 gün depolanması sırasında lipid oksidasyonunu önemli düzeyde geciktirdiğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda nar kabuğu ekstraktı ilave edilen tavuk köfteleri pişirilerek 4°C'de 15 gün depolanmıştır. Farklı NKE konsantrasyonu içeren köftelerin TBA değerleri vitamin C içeren ve hiçbir antioksidan içermeyen kontrol köftelerle karşılaştırılmıştır. NKE konsantrasyonu 5 mg'dan 20 mg'a arttıkça TBA oluşumu azalmıştır. Depolama sırasında TBA değeri en fazla K örneklerde 0. günde 0,286 mg MA/kg et değerinden 15. günde 1,53mg MA/kg et değerine yükselmiştir. NKE, malonaldehit oluşumunu vitamin C içeren örneklerden daha iyi azaltmıştır (Naveena vd. 2008). Bu çalışmada 100 gr et örneğinde lipid oksidasyonunun önlenmesi için 10 mg NKE'nin yeterli olduğu tespit edilmiştir.

#### **4.2.5 Peroksit değeri**

BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 içeren ve hiçbir katkı içermeyen kontrol köfte örneklerinde soğukta depolama sırasında peroksit değerinde (PD) meydana gelen

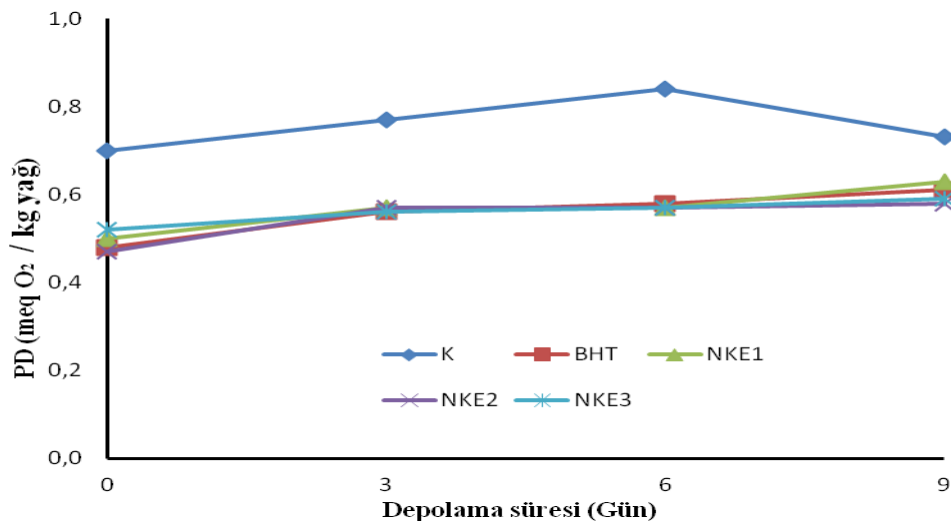
değişmeler Çizelge 4.26' da ve Şekil 4.11'de verilmiştir. Depolama başlangıcında elde edilen PD sonuçları meqO<sub>2</sub>/kg yağ olarak K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerde sırasıyla 0,70, 0,48, 0,50, 0,47 ve 0,52 olarak belirlenmiştir. Depolama sırasında peroksit değeri özellikle kontrol grubunda 9. güne kadar artmış ve 9. gün düşmüştür. BHT ve NKE içeren örneklerin PD, daha stabil bir değişim göstermiştir (Şekil 4.11). Depolama sonunda Kontrol, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinde elde edilen PD sonuçları sırasıyla 0,73, 0,61, 0,63, 0,58 ve 0,59 olmuştur. Antioksidan kaynağı içeren örneklerde PD daha düşük olmuştur. En yüksek PD, kontrol örneğinde belirlenmiştir (ortalama 0,76 meqO<sub>2</sub>/kg yağ).

Çizelge 4.26 Köftenin peroksit değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	0,70±0,12	0,77±0,03	0,84±0,13	0,73±0,03	<b>0,76±0,06A</b>
BHT	0,48±0,07	0,56±0,05	0,58±0,07	0,61±0,12	<b>0,56±0,06B</b>
NKE1	0,50±0,07	0,57±0,21	0,57±0,11	0,63±0,04	<b>0,57±0,05B</b>
NKE2	0,47±0,01	0,57±0,03	0,57±0,02	0,58±0,04	<b>0,55±0,05B</b>
NKE3	0,52±0,05	0,56±0,01	0,57±0,03	0,59±0,01	<b>0,56±0,03B</b>
<b>Ort.</b>	<b>0,53±0,09a</b>	<b>0,61±0,09b</b>	<b>0,63±0,12b</b>	<b>0,63±0,06b</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-b) ve ilgili sütunda (A-B), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).



Şekil 4.11 Soğukta depolama sırasında köftenin peroksit değerinde meydana gelen değişmeler

Yapılan varyans analizi sonucu, ilave edilen antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin peroksit oluşumunu önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) etkilediğini göstermiştir (Çizelge 4.27). Buna göre antioksidan kaynağı içeren köfte örneklerinin PD ile K örneklerinin PD arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ), antioksidan kaynakları arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur. Depolama süresinin etkisi ise 0. gün ile diğer günler arasında önemli olmuş ( $P<0,01$ ), yani 3., 6. ve 9. günde belirlenen PD, 0. günden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.26). Peroksit oluşumunu yavaşlatmada K örnekleri hariç tüm gruplar aynı düzeyde etki göstermiştir ( $P>0,01$ ).

Çizelge 4.27 Soğukta depolanan köftelerin peroksit değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	6,42	0,002**
Depolama süresi (S)	3	2,05	0,005**
M x S	12	0,30	0,981
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

Lipid oksidasyonunda doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla meydana gelen birincil oksidasyon ürünleri peroksitlerdir. Bu bakımdan acılaştırmanın başlangıç aşamasında oluşan peroksitlerin saptanması çoğu zaman kalite göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yağlarda oksidasyonun bir göstergesi olan peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalan olarak miktarıdır.

#### 4.2.6 *p*-Anisidin Değeri

Farklı düzeylerde NKE ve BHT ilave edilen ve hiçbir antioksidan kaynağı ilave edilmeden üretilerek, soğukta depolanan köftelerde belirlenen *p*-anisidin değeri sonuçları Çizelge 4.28’de ve Şekil 4.12’de topluca verilmiştir. Depolama başlangıcında belirlenen *p*-anisidin değerleri K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerde sırasıyla



17,43, 13,08, 13,96, 13,92 ve 14,95'dir. *p*-Anisidin depolama sırasında K örnekler hariç tüm gruplarda artış göstermiştir. K grubu hariç, en fazla artış depolamanın 3. gününde gözlenirken, 6. ve 9. günlerde çok az değişim gözlenmiştir (Şekil 4.12). Kontrol örneklerde 3. günden itibaren gözlenen azalışın, mikrobiyolojik olarak bozulan örneklerde meydana gelen oksidasyon ürünlerinin mikroorganizmalar tarafından kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

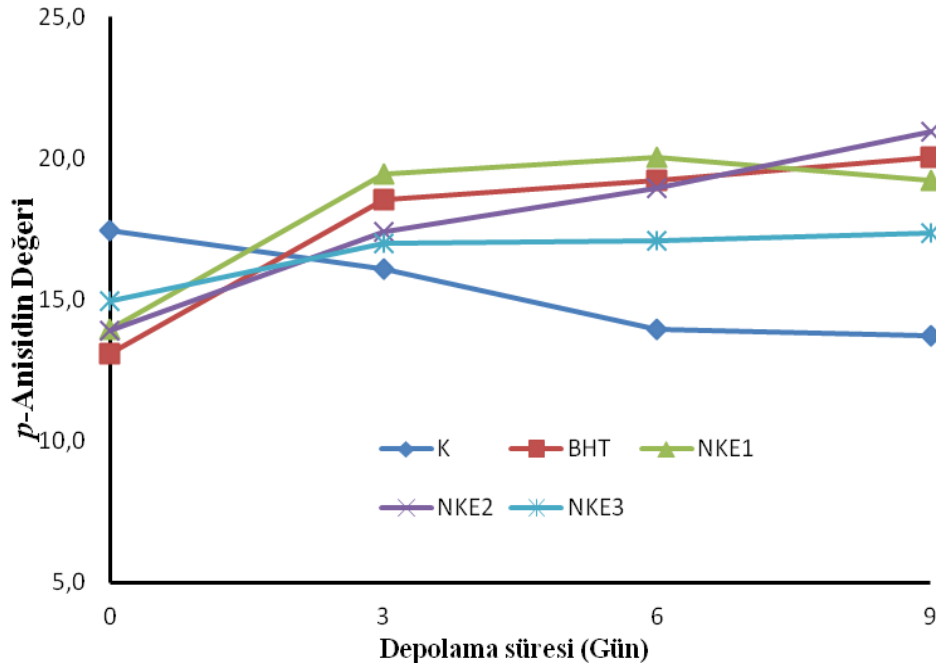
Çizelge 4.28 Köftenin *p*-anisidin değerine NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	17,43±2,62	16,09±0,75	13,96±0,94	13,72±3,61	<b>15,35±1,72B</b>
BHT	13,09±0,33	18,55±0,50	19,19±2,39	20,04±2,16	<b>17,72±3,14A</b>
NKE1	13,96±0,49	19,42±0,94	20,04±3,77	19,21±0,42	<b>18,25±1,70A</b>
NKE2	13,92±1,40	17,41±1,69	18,94±2,48	20,92±2,18	<b>17,80±2,96A</b>
NKE3	14,95±1,44	16,97±1,70	17,10±0,17	17,34±1,85	<b>16,59±1,10AB</b>
<b>Ort.</b>	<b>14,67±1,68a</b>	<b>17,69±1,31b</b>	<b>17,92±2,51b</b>	<b>18,29±2,78b</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-b) ve ilgili sütunda (A-B), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).

Antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin *p*-anisidin değerine etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonuçları, *p*-anisidin değerinin ilave edilen antioksidan kaynağından ve depolama süresinden etkilendiğini göstermiştir (P<0,01) (Çizelge 4.29). Buna göre, depolama süresi arttıkça 3. günden itibaren *p*-anisidin değeri artmıştır. Bu artış 0. gün ile 3., 6. ve 9. günler arasında önemli düzeyde olurken (P<0,01), 3., 6. ve 9. günler arasındaki değişim önemli düzeyde olmamıştır (P>0,01) (Çizelge 4.28). Muamele grupları arasında en düşük *p*-anisidin değeri K ile NKE3 grubu arasında belirlenmiştir. Fakat K grubundaki düşük düzeyin, mikrobiyel bozulma kaynaklı olduğu, NKE3 grubundaki düşük *p*-anisidin değerinin ise NKE3'ün yüksek antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna göre K grubu ile BHT, NKE1 ve NKE2 değerleri arasındaki fark önemli (P<0,01) düzeyde olmuştur.



Şekil 4.12 Soğukta depolama sırasında köftenin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimler

Çizelge 4.29 Soğukta depolanan köftelerin *p*-anisidin değerinde meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	7,28	0,001**
Depolama süresi (S)	3	6,90	0,002**
M x S	12	2,16	0,062
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

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

Nar kabuğunda bulunan fenoliklerin elektron vererek redükten işlevi gördükleri, serbest radikallerle reaksiyona girerek bu bileşikler daha stabil bileşiklere dönüştürdükleri ve serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırdıkları belirtilmektedir (Negi ve Jayaprakasha 2003).

#### 4.2.7 Duyusal analiz sonuçları

BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 ilavelive antioksidan kaynağı ilavesiz üretilen kontrol köfte örneklerindedepolama sırasında duyusal özelliklerde meydana gelen değişimler renk, koku ve genel beğeni yönlerinden incelenmiştir. Koku özelliği; ransit, kokuşma, ve kötü aromayönlerinden değerlendirilmiştir. Renk puanlarına ait ortalama değerler Çizelge 4.30'da ve Şekil 4.13'de verilmiştir. Depolama başlangıcında verilen renk puan ortalamaları Kontrol, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinin tamamında 7,00 olurken depolama sonunda ise 3,30, 4,90, 4,30, 4,40 ve 4,30 olmuştur. Depolamanın 0. gününde renk yönünden tüm örnekler en yüksek puanı alırken depolamanın ilerleyen günlerinde tüm örneklerin puanı önemli ölçüde düşmüştür. Depolamanın 9. gününde en düşük puanı kontrol grubu alırken en yüksek puanı ise 4.9 ile BHT içeren grup almıştır.

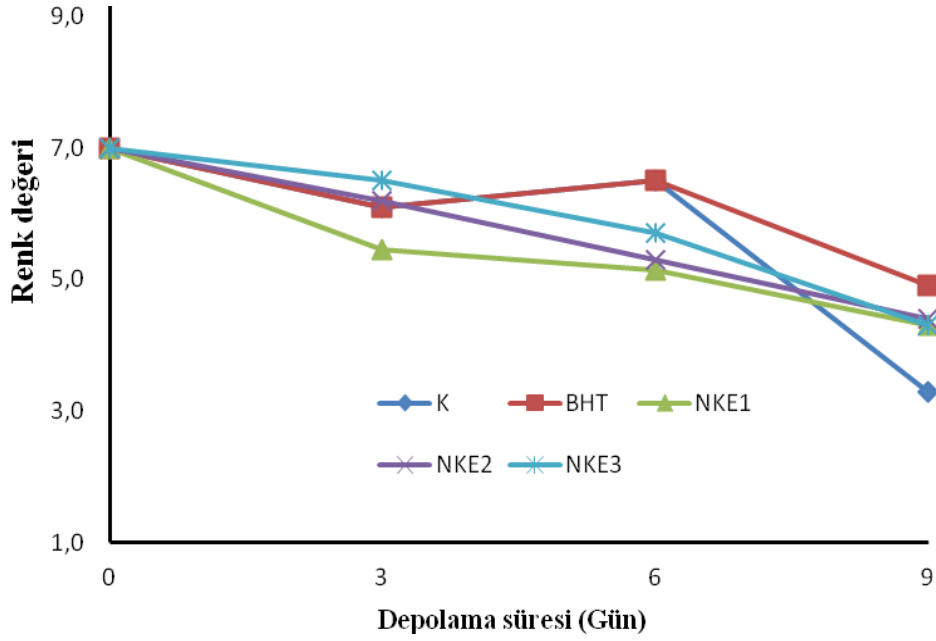
Köftelerin rengi üzerine antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları hem muamelenin hem de depolama süresinin önemli etkisi ( $P<0,01$ ) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.31). En düşük renk puanları K grubuna verilmiş ve diğer gruplarla arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30 Köftenin renk puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	7,00±0,00aA	6,10±0,14cB	6,50±0,14bA	3,30±0,14dC	<b>5,73±1,54</b>
BHT	7,00±0,00aA	6,10±0,14cB	6,60±0,00bA	4,90±0,14dA	<b>6,15±0,85</b>
NKE1	7,00±0,00aA	5,45±0,21bC	5,15±0,21bC	4,30±0,14cB	<b>5,48±1,05</b>
NKE2	7,00±0,00aA	6,20±0,00bAB	5,30±0,14cC	4,40±0,00dB	<b>5,73±1,04</b>
NKE3	7,00±0,00aA	6,50±0,00bA	5,70±0,14cB	4,30±0,14dB	<b>5,88±1,09</b>
<b>Ort.</b>	<b>7,00±0,00</b>	<b>6,070±0,37</b>	<b>5,85±0,64</b>	<b>4,24±0,56</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,01$ ).



Şekil 4.13 Köfte örneklerinin renk puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler

Kontrol örneklerin renk puanları arasındaki fark depolama süreleri arasında önemli, 9. günde ise diğer gruplar arasında önemli düzeyde ( $P < 0,01$ ), düşük bulunmuştur. Antioksidanlı grupların renk puanları depolamanın 3. gününde 0. günden önemli düzeyde düşük ( $P < 0,01$ ) bulunmuştur.

Çizelge 4.31 Soğukta depolanan köftelerin renk puanlarında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	36,22	0,000**
Depolama süresi (S)	3	974,96	0,002**
M x S	12	34,10	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P < 0,01$  düzeyinde önemli.

Soğukta depolanan köftelere ransit aroma yönünden verilen puanlar Çizelge 4.32’de ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Ransit aroma, depolamanın 6. gününden itibaren hissedilmeye başlanmıştır. Kontrol örnekler, depolamanın 3. günü mikrobiyolojik olarak bozulsalar bile, ransit aroma 3. günden sonra hissedilmeye başlanmış ve 9. gün 2,90 ile en düşük puan ortalamasına sahip olmuşlardır. Başlangıç ransit aroma puan ortalaması 7,00 iken, depolamanın 9. gününde BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerinde sırasıyla 3,20, 3,00, 3,20 ve 3,70 olmuştur. Bununla birlikte, ransit aroma oluşumunun NKE3 örneğinde en yavaş olduğu belirlenmiştir. Buna göre NKE ilavesinin ransit aroma oluşumunu yavaşlattığı söylenebilir (Çizelge 4.32 ve Şekil 4.14).

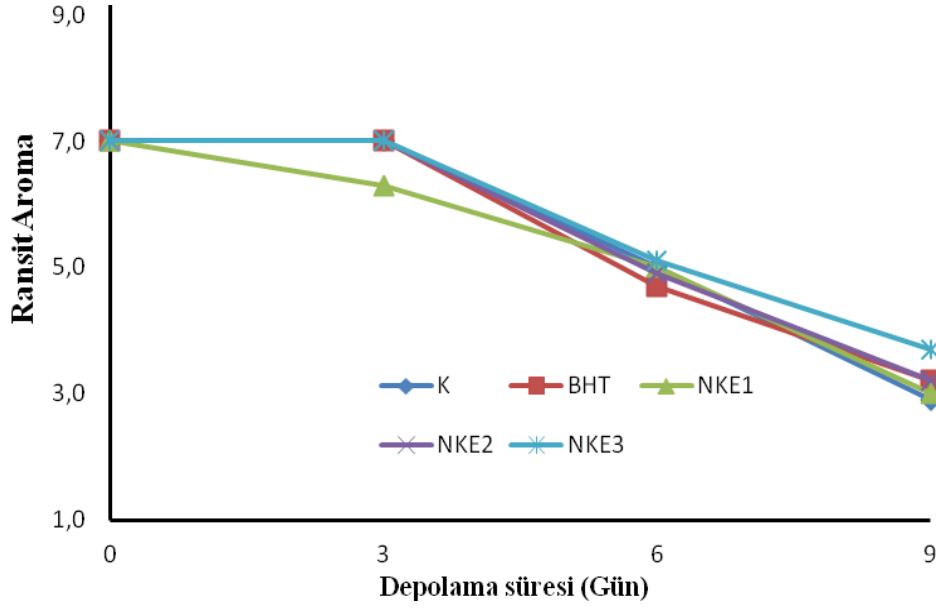
Çizelge 4.32 Köftenin ransit aroma puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	5,00±0,00bA	2,90±0,14cC	<b>5,48±1,81</b>
BHT	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	4,70±0,14bB	3,20±0,00cB	<b>5,48±1,73</b>
NKE1	7,00±0,00aA	6,30±0,00bB	5,00±0,00cA	3,00±0,00dC	<b>5,33±1,63</b>
NKE2	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	4,90±0,14bA	3,20±0,00cB	<b>5,53±1,70</b>
NKE3	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	5,10±0,14bA	3,70±0,14cA	<b>5,70±1,49</b>
<b>Ort.</b>	<b>7,00±0,00</b>	<b>6,86±0,295</b>	<b>4,94±0,17</b>	<b>3,20±0,30</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).

Köftelerde ransit aroma gelişimi üzerine antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları, hem uygulamanın hem de depolama süresinin önemli etkisi (P<0,01) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.33). En düşük puanlar K ve NKE1 grubuna verilmiş ve diğer gruplarla arasındaki fark önemli (P<0,01) olmuştur (Çizelge 4.32). Ransit aroma özellikle 3. günden itibaren algılanmaya başlanmış ve puanlar giderek düşmüştür.



Şekil 4.14 Köfte örneklerinin ransit aroma puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler

Çizelge 4.33 Soğukta depolanan köftelerin ransit aroma puanlarında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	29,00	0,000**
Depolama süresi (S)	3	6468,80	0,000**
M x S	12	19,13	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

Mikrobiyolojik bozulmanın tipik göstergesi olan kokuşma aroması puanları Çizelge 4.34 ve Şekil 4.15’de görülmektedir. Depolama başlangıcında tüm gruplarda 7,00 olan puanlar 6. günden itibaren tüm gruplarda düşmüş ve depolamanın 9. gününde en düşük puan ortalaması K örneklerinde (3,00 puan), en yüksek ise antioksidan içeren örneklerde (BHT’li grup 3,80, NKE1’li grup 3,60, NKE2 ve NKE3’lü grup 3,80 puan) belirlenmiştir. Kokuşma aroması oluşumu, NKE2 ve NKE3 örneklerinde daha yavaş

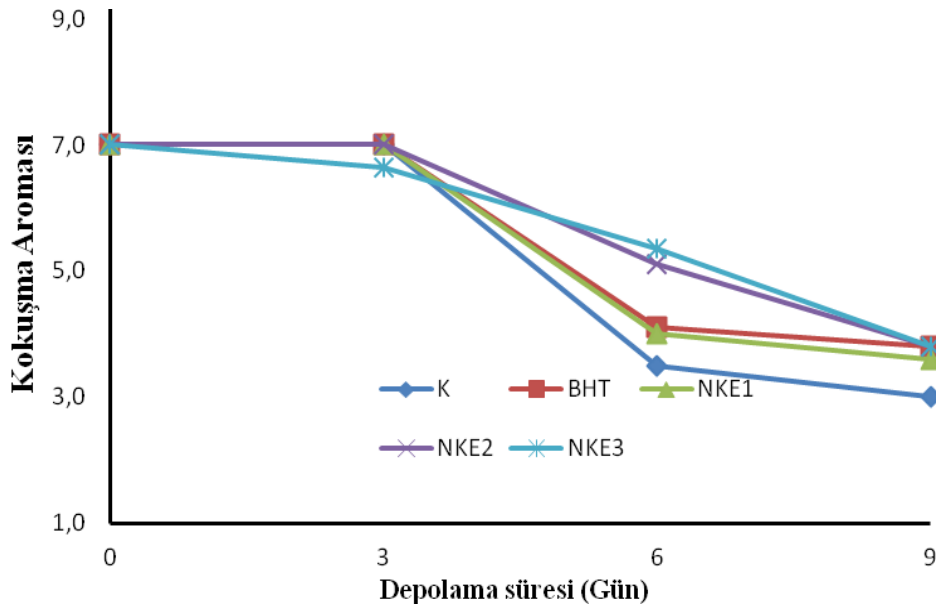
olmuştur. Buna göre NKE ilavesinin kokuşmayı geciktirdiği söylenebilir (Çizelge 4.34 ve Şekil 4.15).

Çizelge 4.34 Köftede kokuşma aroması puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	3,50±0,14bC	3,00±0,28cB	<b>5,13±2,02</b>
BHT	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	4,10±0,14bB	3,80±0,00cA	<b>5,48±1,64</b>
NKE1	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	4,00±0,00bB	3,60±0,00cA	<b>5,40±1,72</b>
NKE2	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	5,10±0,14bA	3,80±0,00cA	<b>5,73±1,45</b>
NKE3	7,00±0,00aA	6,65±0,21bB	5,35±0,07cA	3,80±0,00dA	<b>5,70±1,35</b>
<b>Ort.</b>	<b>7,00±00</b>	<b>6,93±0,17</b>	<b>4,41±0,74</b>	<b>3,60±0,34</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).



Şekil 4.15 Köfte örneklerinin kokuşma aroması puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler

Taze depolanan köftelerin kokuşma aroması üzerine antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları, hem uygulamanın hem de depolama süresinin önemli etkisi (P<0,01) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.35). En

düşük puanlar, K örneklerine verilmiş ve diğer gruplarla arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.35 Soğukta depolanan köftelerin kokuşma aroması puanlarında meydana gelen değişmelere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	50,68	0,000**
Depolama süresi (S)	3	3190,21	0,000**
M x S	12	36,26	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

Soğukta depolanan antioksidan ilaveli ve ilavesiz köfte örneklerde kötü aroma puan ortalamaları Çizelge 4.36'da ve Şekil 4.37'de verilmiştir. Depolama başlangıcında ortalama puan 7,00 iken, 3. günden sonra kötü koku hissedilmeye başlanmış ve puanlar düşmüş ve 9. günde K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklerde sırasıyla 2,80, 3,10, 3,00, 3,50 ve 3,60 olmuştur. En düşük puan ortalaması K ve NKE1 örneklerinde olurken, en yüksek puan ortalaması NKE3 örneklerine ait olmuştur.

Çizelge 4.36 Köftede kötü aroma puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	3,50±0,14bC	2,80±0,28cC	<b>5,08±2,08</b>
BHT	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	3,50±0,14bC	3,10±0,14cB	<b>5,15±1,99</b>
NKE1	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	3,50±0,14bC	3,00±0,00cC	<b>5,13±2,01</b>
NKE2	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	4,70±0,14bB	3,50±0,14cA	<b>5,55±1,62</b>
NKE3	7,00±0,00aA	7,00±0,00aA	5,30±0,07bA	3,60±0,00cA	<b>5,73±1,51</b>
<b>Ort.</b>	<b>7,00±0,00</b>	<b>7,00±0,00</b>	<b>4,10±0,81</b>	<b>3,20±0,34</b>	

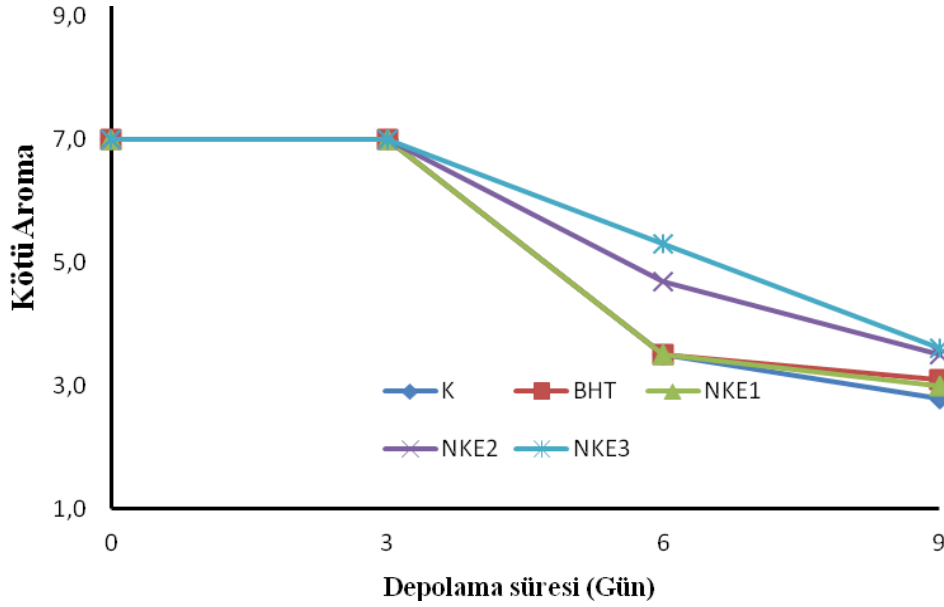
<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-c) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,01$ ).

Taze depolanan köftelerde kötü aroma oluşumuna antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonuçları, hem uygulamanın hem de



depolama süresinin önemli etkisi ( $P<0,01$ ) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.37). En düşük kötü aroma puanları, K ve NKE1 gruplarına verilmiş ve diğer gruplarla arasındaki fark önemli ( $P<0,01$ ) olmuştur (Çizelge 4.36).



Şekil 4.16 Köfte örneklerinin kötü aroma puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler

Çizelge 4.37 Soğukta depolanan köftelerin kötü aroma puanlarında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	68,75	0,000**
Depolama süresi (S)	3	3875,83	0,000**
M x S	12	32,75	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\* $P<0,01$  düzeyinde önemli.

BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 ilaveli ve antioksidan ilavesiz üretilen K köfte örneklerine depolama sırasında verilen genel beğeni puanları Çizelge 4.38'de ve Şekil 4.17'de görülmektedir. Depolamanın 0. gününde genel beğeni yönünden tüm örnekler en yüksek puanı alırken, depolamanın ilerleyen günlerinde tüm örneklerin puanları giderek düşmüştür. En düşük puanlar, tüm örneklerin tüketilebilir özelliklerini yitirdikleri 9.

günde verilmiştir. Buna göre 9. günde K, BHT, NKE1, NKE2 ve NKE3 örneklere verilen genel beğeni puanları sırasıyla 2,50, 3,10, 3,20, 3,50 ve 3,60'tır.

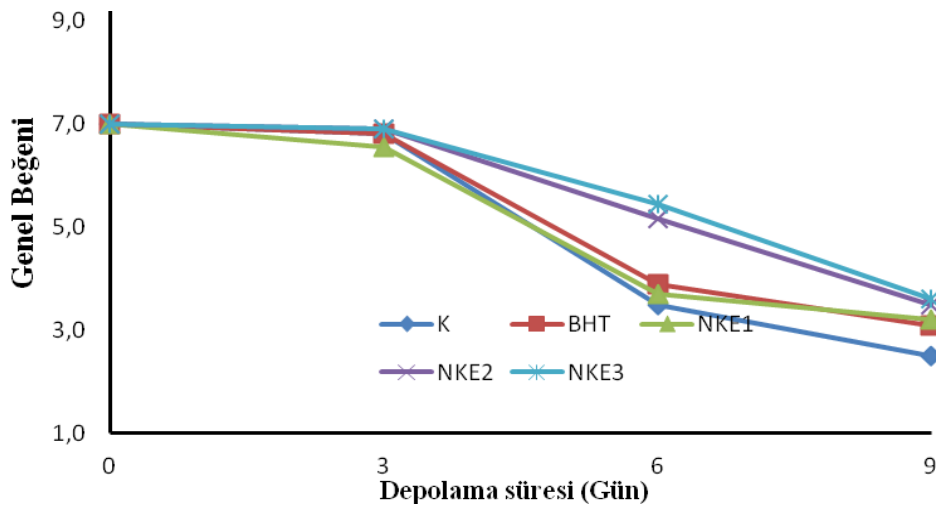
Çizelge 4.38 Köftede genel beğeni puanlarına NKE konsantrasyonunun ve soğukta depolama süresinin etkisi

Grup	Depolama süresi (gün) <sup>1,2</sup>				Ort.
	0	3	6	9	
K	7,00±0,00aA	6,80±0,00aA	3,50±0,14bB	2,50±0,42cC	<b>4,95±2,13</b>
BHT	7,00±0,00aA	6,80±0,00aA	3,90±0,14bB	3,10±0,14cB	<b>5,20±1,85</b>
NKE1	7,00±0,00aA	6,55±0,07bA	3,70±0,14cB	3,20±0,00dB	<b>5,11±1,80</b>
NKE2	7,00±0,00aA	6,90±0,14aA	5,15±0,21bA	3,50±0,14cB	<b>5,64±1,54</b>
NKE3	7,00±0,00aA	6,90±0,14aA	5,45±0,21bA	3,60±0,00cA	<b>5,74±1,48</b>
<b>Ort.</b>	<b>7,00±00</b>	<b>6,79±0,15</b>	<b>4,34±0,85</b>	<b>3,18±0,44</b>	

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

<sup>2</sup>İlgili satırda (a-d) ve ilgili sütunda (A-C), aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,01).

Köftelerin genel beğeni puanlarına antioksidan ilavesinin ve depolama süresinin etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonuçları, antioksidan ilavesi ve depolama süresi interaksiyonunun önemli etkisi (P<0,01) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.39). Depolamanın 0. ve 3. günlerinde, grupların genel beğeni puanları arasındaki fark önemli olmazken (P>0,01), 6. günde K, BHT ve NKE1 örnekleri arasındaki fark önemsiz, fakat bu gruplarla NKE2 ve NKE3 örnekleri arasındaki fark önemli (P<0,01), 9. günde ise en düşük genel beğeni puanı alan K grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli düzeyde (P<0,01) olmuştur (Çizelge 4.38).



Şekil 4.17 Köfte örneklerinin genel beğeni puanlarında depolama boyunca meydana gelen değişimler

Çizelge 4.39 Soğukta depolanan köftelerin genel beğeni puanlarında meydana gelen değişimlere antioksidan kaynaklarının ve depolama süresinin etkisini gösteren varyans analizi sonucu

Varyans kaynağı	DF	F	P
Muamele (M)	4	45,22	0,000**
Depolama süresi (S)	3	1690,45	0,000**
M x S	12	17,27	0,000**
Hata	20		
Toplam	39		

\*\*P<0,01 düzeyinde önemli.

## 5. SONUÇ

Nar kabuğu liyofilize ekstraktlarının yüksek düzeyde fenolik madde içerdiği ve bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkisi olduğu belirlenmiştir. İlave edilen konsantrasyonlarda (%0,2 ve %0,3) NKE, *S. aureus* gelişimini inhibe etmiştir.

Soğukta depolanan köfte tipi et ürünlerinde 1-2 gün gibi oldukça kısa olan depolama ömrü, NKE ilavesi ile geciktirilebilmiştir. Antioksidan kaynağı içermeyen köftelerde TAMB ve TAPB yükleri 3. günde kabul edilebilir düzeyi aşarken, NKE içeren köftelerde bu düzeye 5. günde ulaşılmıştır. İlave edilen konsantrasyon arttıkça mikrobiyel yükteki artış yavaşlamıştır.

NKE ilavesinin toplam *Enterobacteriaceae* çoğalmasını baskıladığı belirlenmiştir. BHT ilavesinin toplam *Enterobacteriaceae* yükü üzerine herhangi bir etkisi olmadığı, buna karşın NKE ilavesinin etkili olduğu görülmektedir. Özellikle depolamanın 3. gününden itibaren NKE'nin etkisi gözlenmiş ve konsantrasyon arttıkça *Enterobacteriaceae* sayısı azalmıştır. NKE ilavesi, köftede maya-küf sayısındaki artışı ilk 3 gün önemli düzeyde baskılamıştır ( $P<0,01$ ).

NKE ilavesinin renk değerleri üzerine olan etkisi incelendiğinde,  $L^*$  değerinin önemli oranda etkilenmediği,  $a^*$  değerinin depolama süresi boyunca etkilendiği,  $b^*$  değerinin ise hem uygulama hem de depolama süresince etkilendiği belirlenmiştir.

NKE ilave edilen örneklerin TBA ve PD sonuçları, antioksidan kaynağı içermeyen örneklerden önemli düzeyde daha düşük olmuştur ( $P<0,01$ ). NKE içeren örneklerin TBA değerleri, kontrol ve BHT içeren örneklerin TBA değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Antioksidan kaynağı içeren köftelerin PD, içermeyen kontrol örneklerinden önemli düzeyde daha düşük olmuştur ( $P<0,01$ ). BHT ve farklı NKE düzeyleri, peroksit oluşumunu eşit düzeyde geciktirmişlerdir.

Köfte örneklerin duyuşal özellikleri (renk ve koku), NKE ilavesi ile olumlu yönde etkilenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; meyve suyu üretiminde atık olarak ortaya çıkan nar kabuğu yüksek fenolik madde içeriği, antioksidan ve antibakteriyel etkileri nedeniyle, depolama sırasında oksidatif ve mikrobiyal değişmelerin gözlemlendiği et ürünleri için uygun bir doğal koruyucu olarak önerilmektedir. Et ürünlerine daha yüksek konsantrasyonlarda (>%0,3) katılması durumunda antioksidan ve antimikrobiyel etkisinin daha fazla olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Ahn, D.U., Olson, D.G., Lee, J.I., Jo, C., Wu, C. and Chen, X. 1998. Packaging and irradiation effects on lipid oxidation and volatiles in pork patties. *J. Food Sci.* 63: 15-19.
- Ahmad, I. Beg, A.Z. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens, *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 113–133.
- Alanis, A.D., Calzade, F., Cervantes, J.A., Torres and J, ceballos, G.M. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders, *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 153-157.
- Al-Zoreky, N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L*) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 13, 24–28.
- Anonim. 2000. Su ürünleri kalite kontrol el kitabı. T.C. Tarım Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü. Ankara.
- Anonim. 2004. Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü
- Anonim. 2011. Web sitesi: <http://www.tuik.gov.tr>, Erişim Tarihi: 15 Kasım 2011.
- Anonim. 2013. Spoilage of Food Products. Meat and Meat Products. Pdf. ([pathogencombat.wur.nl/](http://pathogencombat.wur.nl/)).
- Anonymous, 2006, [http://www.gebelik-rehberi.com/diet\\_beslenme/gida.asp](http://www.gebelik-rehberi.com/diet_beslenme/gida.asp)
- Anonymous, 2008, <http://www.kkqm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2001-19.html>
- Anonymous,2004b.<http://www.biltektubitak.gov.tr/canlilar/monera/bacillus.htm>
- Anonymous. 1986. ICMSF. Microorganisms in Foods 2: Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications; International Commission on of the Microbiological Specifications for Foods International Union of Microbiological Societies; University of Toronto Press: Toronto, Canada.
- Anonymous. 1991. Fish for food and devolapment. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Strategy and Programmes for Fisheries, Rome.
- Anonymous. 1998. Bacteriological Analytical Manuall, 8th edn, A.O.A.C. International, Gaithersburg, MD.
- Anonymous. 2000a. Official methods of Analysis. Horwitz, W. (Ed), 17th ed., Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD.
- Anonymous. 2000b. Computer program, MINITAB release 15.1 for Windows. Minitab Inc., USA.

- Anonymous. 2011. Web sitesi: <http://aquaticpath.phhp.ufl.edu/lesionguide/>, Erişim Tarihi: 6.10.2011.
- Anwar, F., Naseer, R., Bhangar, M.I., Ashraf, S., Talpur, F.N. and Aladededune, F.A. 2008. Physicochemical characteristics of citrus seeds and oils from Pakistan, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 321–330.
- Arihara, K. 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74 (1), 219-229
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P. and Bast, A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein, *Food and Chemical Toxicology*, 39, 787-791.
- Bacon, R. T. and Sofos, J. N. 2003. Food hazards: biological food; characteristics of biological hazards in foods. In *Food Safety Handbook*, R.H. Schmidt and G. Rodrick, Editors. Wiley Interscience, New York, NY. pp. 157-195.
- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J., 2003. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *Journal of Food Protection*, 66 (4), 668-673.
- Bailey, M.E. 1988. Inhibition of warmed-over flavor, with emphasis on Maillard reaction products, *Journal of Food Technology* 42, 6, 123–126.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Baron, C. P., Kjaersgard, I. V. H., Jessen, F. and Jacobsen, C. 2007. Protein and lipid oxidation during frozen storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8118–8125.
- Bell, C., Kyriakides, A. 2002. *Salmonella: A Practical Approach to the Organism and its Control in Foods*. Blackwell Science, London.
- Benli, H. 2001. Narın Konserveye İşlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. s:82.
- Bera, D., Lahiri, D. and Nag, A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of Food Engineering*, 74, 542-545.
- Braga, L., Shupp, J., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J., Carmo, L., Chartone-Souza, E. and Nascimento, A. 2005. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production, *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 335–339.
- Brown, J.E., Khodr, H. Hider, R.C. and Rice-Evans, C.A. 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu<sup>2+</sup> ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330, 1173–1178.

- Carbonell, A. L., J. Fernandez-Lopez, E. Sendra, E. Sayas-Barbera J..A. and Perez-Alvarez, 2004. Quality characteristics of a non-fermented dry-cured sausage formulated with lemon albedo. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 2077-2084.
- Carbonella, A. L., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez J.A. and Kuri, V. 2005. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(2), 247-255.
- Dağcı, E. K. ve Dığrak, M. 2005. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri. *Fen ve Mühendislik Dergisi* 8 (2) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü. Kahramanmaraş.
- Dave, D. and Ghaly, A.E. 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical Review. *American Journal of agricultural and biological sciences*, 6(4), 486-510.
- Davidson, P.M. and Harrison, M.A., 2003. Microbial Adaptation to Stresses by Food Preservatives in *Microbial Stress Adaptation and Food Safety*, Ch 3, Eds. P. Davidson, M., Harrison, M.A., CRC Press, ( <http://www.foodnetbase.com/ejournals/books> )
- Decker , E. A. and Mei, L. 1996. Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods, In *Proceedings of the 49th Reciprocal Meat Conference*, Savoy, IL : American Meat Science Association, pp. 64 – 72.
- Decker, E.A., Xiong, Y.L., Calvert, J.T. Crum, A.D. and Blanchard, S.P. 1993. Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 186-189.
- Devatkal, S.K., Narsaiah, K. and Borah, A. 2010. Antioxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties, *Meat Science*, 85, 155-159.
- Doyle, M.E. 2007. Microbial Food Spoilage- Losses and control strategies. <http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRIBriefMicrobialFoodSpoilage7-07.pdf>.
- Ercolın1, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P. and Villani, F. 2006. Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 72, 4663-4671.
- Eymard, S., Baron, C.P. and Jacobsen, C. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chemistry*, 114, 57-65.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qui, J., Zhang, Y. and Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf-life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115, 66-70.



- Farag, R.S., El-Baroty, G.S. and Basuny A.M. 2003. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. Picual and Kronakii) on the stability of sunfloweroil. *International Journal of Food Science and Technology*, 38,81-87.
- Fernández, J., Perez-Alvarez, J.A. and Fernandez-Lopez, J.A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat, *Food Chemistry*, 59, 345–353.
- Fernández,J.M. and Perez, J.A. 2005. Meat products as functional foods: A Review. *Journal of Food Science*, 70, 2.
- Fernández-Lopez, J., Viuda-martos, M., Sendra, E., Sayas-barbera, M.E., Navarro, C. and Perez-Alvarez, J.A. 2006. Orange fiber as source of dietary polyphenols: aplication in dry-cured sausages. *Proceeding of 13th World Congress of Food Science and Technology: Nantes, France*.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A. and Kuri, V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts:application in beef meatballs. *Meat Science*, 69, 371-380.
- Fernández-Lopez, J., Vidua-Martos, M. and Sendra, E. 2007. Orange fibre as potential functional ingredient for dry-cured sausages. *European Food Research and Technology*, 226: 1-6.
- Frankel, E.N. 2005. *Lipid oxidation*, Bridgewater, England: P.J. Barnes and Associates.
- Gerrard, A.J. and Brown, K.P. 2002. Protein cross-linking in food: Mechanisms, consequences, applications, *International Congress Series*, 1245, 211–215.
- Ghasemian, A., Mehrabian, S. and Majd, A. Peel extracts of two Iranian cultivars of pomegranate (*Punica granatum*) have antioxidant and antimutagenic activities, *Pak. J. Biol. Sci.*, 9, 1402–1405, (2006).
- Gil, M.I., Tomás-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Gokoglu, N., Topuz, O.K. and Yerlikaya, P. 2009. Effects of pomegranate sauce on quality of marinated anchovy during refrigerated storage, *LWT Food Science and Technology*, 42, 113-118.
- GorinSTEM, S., Cvikrova, M., Machackova, I., Haruenkit, R, Park, Y.S., Jung, S.T, Yamamoto, K., Ayala, A.L.M., Katrich, E. and Trakhtenberg, S. 2004. Characterization of antiozidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits, *Food Chemistry*, 84, 503-504.
- Gould, G.W., 1999. *New Methods of Food Preservation*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.

- Gölkücü, M., Tokgöz, H. ve Kıralan, M. 2008. Ülkemizde yetiştirilen önemli nar (*Punica granatum*) çeşitlerine ait çekirdeklerin bazı özellikleri, *Gıda*, 33, 6, 281-290.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. and Jiang, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay, *Nutrition Research*, 23, 1719–1726.
- Hall III C. 2001. Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. *Antioxidants in Food, Practical Applications*, J Pokorny, N Yanislhlieva and M Gordon (eds), pp. 169-219, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C. and Beumer, R. R. 2012. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23, 66-72.
- Higgins, F.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J. and Morrissey, P.A. 1998. Effect of dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on  $\alpha$ -tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Science*, 50, 373–383.
- Holetz, F.B., Pessini, G.L., Sanches, N.R., Cortez, D.A., Nakamura, C.V. and Filho, B.P. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 97, 1027– 1031.
- Hoyle Parks, A.R., Brashears, M.M., Martin, J.N., Woerner, W.D., Thompson, L.D. and Brooks, J.C. 2012. Shelf life and stability traits of traditionally and modified atmosphere packaged ground beef patties treated with lactic acid bacteria, rosemary oleoresin, or both prior to retail display. *Meat Science*, 90, 20-27.
- Ikawa, Y. 1998. Use of tea extracts (sanfood) in fish paste products, *New Food Industry*, 40, 33–39.
- Iupac. 1989. Determination of the p-anisidine value (p-Av). In C. Paquet, & A. Hautfenne (Eds.), *Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives* (7th ed.). Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications. Method number 2.504. Pp. 143–144.
- Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products, *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 216-222.
- Kırca , A. ve Özkan, M. 2007. *Gıda analizleri*. Sayfa, 168-177.
- Lee, C. M., Trevino, B. and Chaiyawat, M. 1996. A simple and rapid solvent extraction method for determining total lipids in fish tissue, *The Journal of AOAC International*, 79, 487–492.

- Lee, H.S. and Ahn, Y.J. 1998. Growth-inhibiting effects of Cinnamomum cassia bark-derived materials on human intestinal bacteria. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 46, 8–12.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology *International Journal of Food Microbiology*, 55, 181–186.
- Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, W.A. Jr. and Shadomy, H.J. 1985. *Manual of clinical microbiology* (Eds.) 4th Edn. American Society for Microbiology, Washington.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S. and Stadtman, E.R. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464-78.
- Lindberg Madsen, H. and Bertelsen, G. 1995. Spices as antioxidants, *Trends in Food Science and Technology*, 6, 271–278.
- Lopez-Mendoza, M.C., Ruiz P. and Mata C.M. 2007. Combined effects of nisin, lactic acid and modified atmosphere packaging on the survival of *Listeria monocytogenes* in raw ground pork: Antimicrobials to control *Listeria* in meat, *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 562-566.
- Machado, T., Pinto, A., Pinto, M., Leal, I., Silva, M., Amaral, A., Kuster, R. and Netto dosSantos, K. 2003. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21, 279–284.
- Mbandi, E. and Shelef, L. A. 2002. Enhanced antimicrobial effects of combination of lactate and diacete on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef Bologna. *International Journal of Food Microbiology*. 76, 191-198.
- Mccarrell, E., Gould, S., Fielder, M., Kelly, A., El Sankary, W. and Naughton, D. 2008. Antimicrobial activities of pomegranate rind extracts: enhancement by addition of metal salts and vitamin C. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8, 64.
- Mccarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry, J.F., Lynch, P.B. and Buckley, D.J. 2001. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Science*, 57,177–184.
- Medina, I., Gonzalez, M.J., Pazos, M., Medaglia, D.D., Sacchi, R. and Gallardo, J.M. 2003. Activity of plant extracts for preserving functional food containing n-3-PUFA, *European Food Research and Technology*, 217, 4, 301-307.
- Medina, I., Satue´-Gracia, M.T., German, J.B. and Frankel, E.N. 1999. Comparison of natural polyphenols antioxidant from extra virgin olive oil with synthetic antioxidants in tuna lipids during thermal oxidation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4873–4879.

- Miller, N.J. and Rice-Evans, C.A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chemistry*, 60, 331-337.
- Naveena, B.M, Sen, A.R., Kingsly, R.P., Singh, D.B. and Kondaiah, N. 2008. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties, *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1807-1812.
- Negi, P. S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S., 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food chemistry*, 80,393-397.
- Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J.M. and Sakariah, K.K. 2003. Antibacterial activity of turmeric oil: a by product from curcumin manufacture, *J. Agric. Food Chemistry*, 47, 4297-4300.
- Negi, P.S. and Jayaprakasha, G.K. 2003. Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of Food Science*, 68, 1473-1477.
- O'mahony, R. 2010. The Antibacterial Properties of Dietary Fruit. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. 141s.
- Ozkal, N. ve Dinc, S. 1994. Evaluation of the pomegranate (*Punica granatum L.*) peels from the standpoint of pharmacy, *Ankara Univ Eczacilik Fak Derg*, 22, 21-29.
- Özdemir, H., Soyer, A. ve Kurt, E. 2009. Meyve lifi ilavesinin sucuğun kalite özelliklerine etkisi. *Dünya Gıda*, 2009-05, 79-84.
- Özen, Ö.B., Eren, M., Pala, A. ve Soyer, A. 2011. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 724-731.
- Öztan, A., 2003. Et Bilimi ve Teknolojisi. TMMOB. Gıda Müh. Odası Yayınları yayın No:1. Ankara. 495s.
- Pichhardt, K. 2004. Gıda Mikrobiyolojisi Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar. *Literatür Yayınları*. Manisa, 176-178s.
- Quilo, S.A., Pohlman, F.W., Brown, A.H., Crandall, P.G., Dias-Morse, P.N., Baublits, R.T. and Aparicio, J.L. 2009. Effects of potassium lactate, sodium metasilicate, peroxyacetic acid, and acidified sodium chloride on physical, chemical, and sensory properties of ground beef patties. *Meat Science*, 82, 44-52.
- Reddy V, Urooj A. and Kumar A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. *Food Chemistry*, 90, 317-321.
- Rhee, K.S., Lupton, C.J., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C. 2003. Effects of sheep production systems on oxidative storage stability of lean lamb patties. *Meat Science*, 65,701-706.

- Sagdic O., Ozturk I., Yilmaz, M.T. ve Yetim H. 2011. Effect of grape pomace extracts obtained from different grape varieties on microbial quality of beef patty, *Journal of Food Science*, 76, M515-M521.
- Samelis, J. 2006. Managing microbial spoilage in the meat industry, : *Food Spoilage Microorganisms*. p.213-288.
- Sanchez-Alonso, I., Jimenez-Escrig, A., Saura-Calixto, F. and Borderias, A.J. 2008. Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *LWT-Food Science and Technology*, 41(1), 42-50.
- Schlundt, J. 2002. New directions in foodborne disease prevention. *International food microbiology.*, 78,3-17.
- Shahidi, F., Janita, P.K. and Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic antioxidants, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67–103.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidants An Overview*. Ed: Shaihidi, F. *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Illinois, 1–11.
- Shahid, I., HaLeeem, S., Akthar, M., Zia-ul-Haq, M. and Akbar, J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions, *Food Res. Int.*, 41, 194–200.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J. and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary species and medicinal herb extracts, *International Journal of Food Microbiology*, 117, 112–119.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. and Corke, H. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55,5484–5490.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. and Corke, H., 2009. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservative of raw pork, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(11), 1879-1885.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7749–7759.
- Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids, *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.

- Soyer, A. ve Şahin, M.E. 1999. Effect of glazing and storage time on lipid oxidation of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*), Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23, 575-584.
- Şahin, E., 2006. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi. İstanbul.
- Taş, E. 2008. Probiyotik laktik asit bakterileri ve baharatların bazı gıda patojenleri üzerine inhibisyon etkisi. Çukurova Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Adana.
- Tezcan, F., Gultekin-Ozguven, M, Diken, T., Özöçelik, B. ve Erim, F.B. 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices, Food Chemistry, 115, 873-877.
- Tomas-Barberan, F. and Espin, J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruit and vegetables, Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 853–876.
- Tunçel, G. ve Tiryaki, G. 2001. Çiğ köftelerin gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi. Dünya Gıda Dergisi. Aralık. s: 56-61.
- Turan, M. 2011. Dondurularak depolanan fileto gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*) kalitesine kitosan ile glazelemenin etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Turhan S. ve Üstün S. 2006. Doğal Antioksidanlar ve Gıdalarda Kullanımları. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, Bolu.
- Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Dereli, U. ve Özkan, M. 2013. Effects of various pressing programs and yields on the antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content and colour of pomegranate juices. Food Chemistry, 138 (1-2), 1810-1818.
- Üner, Y., Aksu, H. ve Ergün, Ö. 2000. Baharatın çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkileri, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 26 (1), 1-10.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E. and Vasiliadou, S. 1997. Effectiveness of natural rosemary (*Rosmarinus offi cinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. Z Lebensm Unters Fors ch A, 205: 93-96.
- Voravuthikunchai, S., Sririrak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T. and Honda, T. 2005. Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7, Journal of Health Science, 51, 590–596.
- Wu, J.M., Lee, M.H., Ho, C.T. and Chang, S.S. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary, Journal of American Oil Chemists' Society, 59(8), 339–345.

- Xiong, Y.L. 2000. Protein Oxidation and Implications for Muscle Foods Quality. In: Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to improve quality, (Ed: Decker, E.A., Faustman, C. & Lopez-Bote, C.J.), 2000 pp.
- Yapar, F., 2006. Parça Et Ve Kıymalarda Erik Ekşisi, Nar Ekşisi Ve Limon Tuzunun Antibakteriyal Etkisi. Yüksek Lisans Tezi Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.

**EKLER**  
**Ek 1**

**Panelistin Adı Soyadı:**  
**\*Formu doldurmadan önce “Notlar” kısmını okuyunuz.**

**Tarih:**

**KÖFTE DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU (ÇİĞ)**

Örnek Kodu	Renk	Koku (acılaşma)	Koku (kokuşma)	Koku (kötü koku)	Genel beğeni

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

Notlar

Renk : Hoşa gider tipik köfte rengi

Koku (acılaşma) : koklayarak algılanan acılaşma kokusu.

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

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

Genel beğeni : Tüm kriterler dikkate alınarak yapılan değerlendirme.

Düşünceler:



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hazret Özdemir

Doğum Yeri: Aksaray

Doğum Tarihi: 03.02.1981

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise: Çankırı Ziraat Meslek Lisesi (1995-1999)

Ön lisans: Ankara Üniversitesi Kalecik Meslek Yüksek Okulu Gıda Teknolojisi  
Bölümü (1999-2001)

Lisans: Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü  
(2004-2008)

Uzaktan eğitim: Technology Management. Bemidji State University (USA) 2006-2008

Yüksek lisans: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana  
Bilim Dalı. 2009-

Çalıştığı iş: Et ve Balık Kurumu Sincan Kombinası: Mamüller Şefi