

**SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYON
YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN MELOCAN (*Smilax excelsa*
L.) EKSTRAKTLARININ TANIMLANMASI VE KÖFTE
FORMÜLASYONUNDA KULLANILMASININ
ARAŞTIRILMASI**

**DETERMINATION OF MELOCAN (*Smilax excelsa* L.)
EXTRACTS OBTAINED BY SUPERCRITICAL CARBON
DIOXIDE EXTRACTION METHOD AND
INVESTIGATION OF ITS USE IN MEATBALL
FORMULATION**

ESRA BOSTANCI SELBEŞ

PROF. DR. HALİL VURAL

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

ÖZET

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) EKSTRAKTLARININ TANIMLANMASI VE KÖFTE FORMÜLASYONUNDA KULLANILMASININ ARAŞTIRILMASI

Esra BOSTANCI SELBEŞ

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halil VURAL

Haziran 2022, 103 sayfa

Bu tez çalışmasında çevre dostu bir yöntem olan süperkritik karbondioksit (Sc-CO₂) ekstraksiyon yöntemi ile melocan bitkisinin farklı kısımları (filiz, meyve ve yaprak); iki farklı basınç (250 ve 350 bar), iki farklı sıcaklık (30 ve 50 °C), iki farklı süre (60 ve 90 dakika (dk)) ve iki farklı etanol konsantrasyonunda (%10 ve %20) ekstrakte edilmiştir. 350 bar basınç ve 50 °C'de, %20 etanol ile 90 dk Sc-CO₂ ekstraksiyonuna tabii tutulan melocan yaprağının; toplam fenolik madde (TFM) ve toplam antioksidan kapasite (TAK) yönüyle en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir. Belirtilen ekstraksiyon koşullarında yaprak kısmından elde edilen melocan ekstraktı (ME) farklı oranlarda (%0.1, %0.5 ve %1) sığırti köftesine ilave edilmiş ve 9 günlük soğukta depolama süresi boyunca kalite parametreleri incelenmiştir.

ME ilavesinin sığır eti köftelerinin nem, yağ, kül, protein içeriğinde, pH değeri, pişme verimi, toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve toplam maya-küf (TMK) sayıları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). ME kullanımı sığır eti köftelerinin soğukta depolama süresince lipid oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirmiştir ($p<0.05$). ME içermeyen kontrol grup köftede tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARs) değeri depolama sonunda 2.46 mg malonaldehit (MA)/kg köfte'ye ulaşırken, %0.1 oranında ME ilaveli köftelerin (ME0.1) TBARs miktarı 1.39'a, %0.5 oranında ME içeren köftelerin (ME0.5) TBARs miktarı 0.92'ye ve %1 oranında ME (ME1) içeren köftelerin TBARs miktarı ise 1.00 mg MA/kg köfte'ye ulaşmıştır. ME ilavesinin köftelerin parlaklık (L^*), kırmızılık (a^*), sarılık (b^*), kroma (C) ve ton açısı (h°) renk değerli üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). ME oranı arttıkça, köftelerin L^* , a^* ve C değerinde azalma, h° değerinde ise artma görülmüştür. ME oranı arttıkça köftelerin TAK ve TFM miktarı artış göstermiştir. Köftelerin TFM miktarı depolama süresince artış gösterirken; TAK değerleri 6. günü hariç düşüş göstermiştir. Duyusal özellikler bakımından üretilen köfte grupları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Tüm duyusal özellikler bakımından köfte grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm duyusal özellikler değerlendirildiğinde; kontrol grup en yüksek puanları almış ve ME oranı arttıkça puanlarda düşüş meydana gelmiştir. Kontrol grup ve ME0.1'in duyusal özellikleri bakımından aralarındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

ME, sığır eti köftelerinde lipid oksidasyonunu önemli düzeyde önlemiş ve antioksidan kapasiteyi artırmıştır, dolayısıyla yapay antioksidanlara alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır. En düşük oranda (%0.1) ME ile üretilmiş köftelerin hem duyusal özellikler yönünden kontrol gruba en yakın puanları alması hem de lipid oksidasyonunu bu konsantrasyonda dahi önemli ölçüde önlemesi nedeniyle %0.1 melocan yaprağı ekstraktının sığır eti köftelerinde kullanımı önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Süperkritik karbondioksit, doğal antioksidan, melocan, *Smilax excelsa*, köfte.

ABSTRACT

DETERMINATION OF MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) EXTRACTS OBTAINED BY SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION METHOD AND INVESTIGATION OF ITS USE IN MEATBALL FORMULATION

Esra BOSTANCI SELBEŞ

Master of Science, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Halil VURAL

June 2022, 103 pages

In the current study, different parts of the plant called melocan (sprout, fruit and leaf) have been extracted under two different pressure levels (250 and 350 bar), two different temperatures (30 and 50 °C), two different durations (60 and 90 minutes (mins)), and two different levels of ethanol concentration (10% and 20%) through supercritical carbon dioxide (Sc-CO₂) extraction method, which is an environmentally-friendly method. It has been observed that the melocan leaf which has been extracted through Sc-CO₂ at 350 bar pressure and 50 °C which has been modified with 20% ethanol for 90 mins has the richest total phenolic substance content (TPC) and total antioxidant capacity (TAC). Three different amounts of the melocan extract (ME) obtained from the leaf under the above-mentioned conditions (0.1%, 0.5% and 1%) have been added to beef meatballs, and the effect of 9-day cold storage on certain quality parameters have been investigated.

The effect of adding ME in beef meatballs on fat, ash and protein contents, pH value, cooking yield, and total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) and total yeast-mold (TYM)

numbers has not been found to be statistically significant ($p>0.05$). The use of ME has considerably delayed the lipid oxidation of beef meatballs during cold storage ($p<0.05$). While the thiobarbituric acid reactive substance value (TBARs) reached 2.46 mg malonaldehyde (MA)/ kg meatball in the control group, which is the meatballs that did not have any ME content, the TBARs values of meatballs with 0.1%ME content (ME0.1), those with 0.5%ME content (ME0.5), and those with 1%ME content (ME1) reached 1.39, 0.92, and 1.00 mg MA/kg meatball respectively. The effect of adding ME in meatballs on the color values lightness (L^*), redness (a^*), yellowness (b^*), chroma (C) and hue angle (h°) has been found statistically significant ($p<0.05$). As the ME content increased, the L^* , a^* and C values of the meatballs have been observed to decrease, and their h° value has been found to increase. In addition, as the ME content increased, an increase in the TPC and TAC levels have been observed. While the TPC levels rose during the storage period, the TAC levels dropped except on the 6th day. Considerable differences have been observed among the meatball groups in terms of all of the sensorial properties, and they have been found to be statistically significant ($p<0.05$). When all the sensorial properties were evaluated, the control group received the highest scores, and as the ME content increased, a decrease was observed in the scores. The differences between the sensorial properties of the control and ME0.1 groups have not been found to be statistically significant ($p>0.05$).

ME has considerably prevented lipid oxidation in beef meatballs and increased the antioxidant capacity. Therefore, it has been concluded that ME can be an alternative to synthetic antioxidants. Due to the fact that beef meatballs produced with the lowest ME content (0.1%) received the scores closest to the control group in terms of sensorial properties and that ME prevented lipid oxidation to a considerable extent even at this content level, ME0.1 is advised to be used in beef meatballs.

Keywords: Supercritical carbondioxide, natural antioxidant, melocan, *Smilax excelsa*, meatball.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana yol gösteren, zorluk yaşadığım her anda gösterdiği anlayışıyla beni rahatlatan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen sayın danışmanım Prof. Dr. Halil VURAL'a, çalışmalarımın laboratuvar imkanlarından faydalandığım sayın Prof. Dr. Ali TOPCU'ya, mikrobiyolojik analizlerimle ilgili sorularımı hiçbir zaman cevapsız bırakmayan kıymetli hocalarım sayın Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN, Prof. Dr. Remziye YILMAZ ve Prof. Dr. Sait Aykut AYTAÇ'a, bu zorlu süreçte gerek bilgi birikimi gerek sevgisiyle her zaman yanımda olduğunu hissettiren çok kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Güliz HASKARACA'ya, laboratuvar tecrübelerini benimle paylaşan ve manevi desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Özlem ŞAHİN'e, her sorumu sabırla cevaplayan, zorlandığımda yol gösterenim olan sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Fundagül EREM'e ve bu süreçte yoğunluğumu anlayışla karşılayıp destek veren Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün çok kıymetli hocaları, Prof. Dr. Mahmut ŞEKER, Dr. Öğr. Üyesi Özge Duygu OKUR, Dr. Öğr. Üyesi Özge ALGAN CAVULDAK, Dr. Öğr. Üyesi Ümran ALAN ve Arş. Gör. Dr. Fatma GÜLER GENÇER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam için gerekli bazı ekipmanların teminine yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Ferhat ŞEN'e, Uzm. Zekeriya DOĞAN'a ve Uzm. Yelda ZENCİR'e hem teknik bilgisi hem de manevi desteğiyle yanımda olan Uzm. Meltem YILDIRIM'a, laboratuvar çalışmalarımın yardımcılarından dolayı mezunlarımız Gıda Müh. Mükremin ÖZDİL ve Gıda Müh. Yağmur Çılga DENİZ'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Hayatımın her anında sevgi ve desteklerini hissettiğim, sabırla yanımda olan canım ailem, babam Mustafa BOSTANCI'ya, annem Cangül BOSTANCI'ya, aynı zamanda en yakın arkadaşım da olan, ablam Tuğba BOSTANCI'ya ve en büyük destekçim olan kıymetli eşim Ali Haydar SELBEŞ'e çok teşekkür ederim. İyi ki hayatımdasınız..

Bu çalışma, FHD-2018-17030 nolu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Hacettepe Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Et ve Et Ürünlerinde Antioksidan Kullanımı	4
2.2. Fenolik Bileşikler	5
2.2.1. Fenolik Bileşiklerin Önemi	6
2.2.2. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	7
2.2.2.1. Fenolik asitler	7
2.2.2.2. Flavonoidler	8
2.2.2.2.1. Antosiyanidinler.....	8
2.2.2.2.2. Flavon ve Flavonoller	8
2.2.2.2.3. Flavanonlar	9
2.2.2.2.4. Kateşin ve Lökoantosiyanidinler	9
2.2.2.2.5. Proantosiyanidinler	9
2.2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	10
2.2.3.1. Ultrason Destekli Ekstraksiyon	10
2.2.3.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon	12
2.3. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂) Ekstraksiyonu	12
2.3.1. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂)	14
2.3.2. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂)'in Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları	15
2.3.3. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂) Ekstraksiyon Sistemi	15

2.3.4. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂) Ekstraksiyon Sisteminin Verimliliğini Etkileyen Temel Parametreler.....	18
2.3.4.1. Sıcaklık ve Basınç	19
2.3.4.2. Tanecik Boyutu	19
2.3.4.3. Çözücü Akış Hızı	19
2.3.4.4. Yardımcı Çözücü.....	20
2.3.4.5. Ekstraksiyon Süresi	20
2.3.5. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂) Ekstraksiyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları	20
2.3.6. Fenolik Bileşiklerin Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO ₂) Ekstraksiyon Yöntemi Kullanılarak Elde Edildiği Çalışmalar	21
2.4. <i>Smilax excelsa</i> L. (Melocan)	24
2.5. Bitkisel Ekstraktların Köftede Kullanımı	29
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	33
3.1. En Uygun Ekstraksiyon Koşulunun Seçilmesi	33
3.1.1. Materyal	33
3.1.1.1. Melocan Kısımlarının (Filiz, Meyve, Yaprak) Süperkritik Karbondioksit Ekstraktörü ile Ekstraksiyonu	33
3.1.2. Analiz Yöntemleri.....	33
3.1.2.1. Melocan Kısımlarının Nem Miktarı.....	33
3.1.2.2. Melocan Kısımlarının Kül Miktarı.....	34
3.1.2.3. Ekstraktların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı.....	34
3.1.2.4. Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)	34
3.1.2.5. Ekstraktların Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi'nde (HPLC) Tanımlanması	35
3.2. Seçilmiş Koşullarda Üretilmiş Melocan Yapağı Ekstraktının Sığır Eti Köftesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi	35
3.2.1. Materyal	35
3.2.1.1. Seçilmiş Koşullarda Melocan Yapağı Ekstraktı Eldesi	35
3.2.1.2. Köfte Üretimi	37
3.2.2. Analiz Yöntemleri.....	39
3.2.2.1. Ekstrakta Yapılan Analizler	39

3.2.2.1.1. Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı	39
3.2.2.1.2. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK).....	39
3.2.2.2. Köftede Yapılan Analizler	39
3.2.2.2.1. Nem Miktarı.....	39
3.2.2.2.2. Kül Miktarı.....	39
3.2.2.2.3. Yağ Miktarı Analizi	40
3.2.2.2.4. Protein Miktarı	40
3.2.2.2.5. pH Değeri.....	40
3.2.2.2.6. Pişme Verimi	40
3.2.2.2.7. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARs) Miktarı.....	40
3.2.2.2.8. Renk Analizi	41
3.2.2.2.9. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM).....	41
3.2.2.2.10. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK).....	42
3.2.2.2.11. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı.....	42
3.2.2.2.12. Toplam Maya-Küf (TMK) Sayımı.....	42
3.2.2.2.13. Duyusal Analiz.....	42
3.2.2.2.14. İstatistiksel Analiz.....	43
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	44
4.1. En Uygun Ekstraksiyon Koşulunun Seçilmesi.....	44
4.1.1. Melocan Kısımlarının Kuru Madde ve Kül Miktarları.....	44
4.1.2. Ekstraktların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı, Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK) ve Toplam Klorojenik Asit Miktarı (TKM).....	44
4.2. En Uygun Koşullarda Üretilmiş Melocan Ekstraktının Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı ve Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK).....	46
4.3. Köftede Yapılan Analiz Sonuçları.....	47
4.3.1. Köftelerin Nem, Yağ, Kül ve Protein Miktarları.....	47
4.3.2. pH Değeri	48
4.3.3. Pişme Verimi	50
4.3.4. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARs) Miktarı	52
4.3.5. Renk Değerleri.....	57
4.3.6. Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı	64
4.3.7. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)	67

4.3.8. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayısı.....	70
4.3.9. Toplam Maya-Küf (TMK) Sayısı	73
4.3.10. Duyusal Analiz.....	75
5. YORUM.....	80
6. KAYNAKLAR	83
EKLER.....	98
EK 1 - Kalibrasyon Kurveleri	98
EK 2 – Duyusal Analiz Formu.....	101
EK 3 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	102
ÖZGEÇMİŞ	103

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fenol bileşiği.....	5
Şekil 2.2. Saf maddenin sıcaklık-basınç diyagramı	13
Şekil 2.3. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi	17
Şekil 2.4. Ekstraksiyon prosesinde meydana gelen olaylar	18
Şekil 2.5 <i>Smilax excelsa</i> bitkisinin sınıflandırması	24
Şekil 2.6. <i>Smilax excelsa</i> bitki kısımları	25
Şekil 3.1. Süperkritik karbondioksit ekstraktörü.....	36
Şekil 3.2. Melocan ekstraktından etanolün uçurulması.....	37
Şekil 3.3. Üretilen köftelerin çiğ (a) ve pişmiş (b) görüntüsü.....	38
Şekil 4.1. Köftelerin pH değerindeki değişimler.....	49
Şekil 4.2. Köftelerin pişme verimi (%) değerindeki değişimler	51
Şekil 4.3. Köftelerin TBARs miktarındaki değişimler.....	53
Şekil 4.4. Köftelerin L* değerindeki değişimler	58
Şekil 4.5. Köftelerin a* değerindeki değişimler.....	59
Şekil 4.6. Köftelerin b* değerindeki değişimler	61
Şekil 4.7. Köftelerin C değerindeki değişimler.....	62
Şekil 4.8. Köftelerin h° değerindeki değişimler.....	63
Şekil 4.9. Köftelerin TFM miktarındaki değişimler.....	65
Şekil 4.10. Köftelerin TAK değerindeki değişimler	68
Şekil 4.11. Köftelerin TMAB sayısındaki değişimler.....	71
Şekil 4.12. Köftelerin TMK sayısındaki değişimler	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Gaz, sıvı ve süperkritik akışkanların fiziksel özellikleri	14
Çizelge 3.1. Köfte formülasyonu	38
Çizelge 4.1. Melocanın farklı kısımlarının TFM, TAK ve TKM değerleri	44
Çizelge 4.2. Köftelerin %nem, %yağ, %kül ve %protein değerleri	47
Çizelge 4.3. Köftelerin pH değerleri	49
Çizelge 4.4. Köftelerin pişme verimi (%) değerleri	51
Çizelge 4.5. Köftelerin TBARs miktarları	53
Çizelge 4.6. Köftelerin L* değerleri	58
Çizelge 4.7. Köftelerin a* değerleri	59
Çizelge 4.8. Köftelerin b* değerleri	60
Çizelge 4.9. Köftelerin C değerleri	61
Çizelge 4.10. Köftelerin h° değerleri	62
Çizelge 4.11. Köftelerin TFM miktarları	65
Çizelge 4.12. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TAK değerleri	67
Çizelge 4.13. Köftelerin TMAB sayıları	71
Çizelge 4.14. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TMK sayıları	74
Çizelge 4.15. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin duyu analizi sonuçları	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
°C	Derece santigrat
ρ	Yoğunluk
T_c	Kritik sıcaklık
P_c	Kritik basınç
v/v	Hacimce karışım
w/w	Kütlece karışım
nm	Nanometre
μm	Mikrometre
mm	Minimetre
cm	Santimetre
cm^2	Santimetre kare
cm^3	Santimetre küp (Cubic centimeter)
m	Metre
m^2	Metre kare
μl	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
sn	Saniye
dk	Dakika
μg	Mikrogram
mg	Miligram
g	Gram
kg	Kilogram
mbar	Milibar
atm	Atmosfer basıncı
MPa	Megapaskal
N	Normalite
W	Watt
mM	Milimolar

GHz	Gigahertz
KHz	Kilohertz
MHz	Megahertz
Rpm	Dakikada devir sayısı
Ppm	Milyonda bir (parts per million)
CO ₂	Karbondioksit
Log	Logaritma
mol/L	Mol/litre
mmol Fe ⁺² /kg	Milimol (2 değerlikli) demir/kilogram
kg/h	Kilogram/saat
g/mL	Gram/mililitre
g/cm ³	Gram/santimetre küp
mL/dk	Mililitre/dakika
g/cm.sn	Gram/santimetre-saniye
cm ² /sn	Santimetre kare/saniye
W/m ²	Watt/metre kare
W.s/m ²	Watt-saniye/metre kare
kg/cm ²	Kilogram/santimetre kare
mg MA/kg	Miligram malonaldehit/kilogram

Kısaltmalar

BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CO ₂	Karbondioksit
CCl ₄	Karbon tetraklorür
CFCs	Kloroflorokarbonlar
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC ₅₀	DPPH radikalinin %50'sinin inhibe eden konsantrasyon
FRAP	Ferrik demir indirgeme metodu
GAE	Gallik asit eşdeğeri
-H	Hidrojen
HC	Hidrokarbonlar
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry

KA	Klorojenik asit
MA	Malonaldehit
ME	Melocan ekstraktı
ME0.1	%0.1 oranında melocan ekstraktı ilave edilmiş köfte
ME0.5	%0.5 oranında melocan ekstraktı ilave edilmiş köfte
ME1	%1 oranında melocan ekstraktı ilave edilmiş köfte
MeOH	Metanol
NaCl	Sodyum klorür
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
NMR	Nükleer manyetik rezonans
-OH	Hidroksil
PCA	Plate count agar
PPO	Polifenoloksidaz
Sc-AE	Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
Sc-CO ₂	Süperkritik karbondioksit
TAK	Toplam antioksidan kapasite
TBA	2-thiobarbituric acid
TBARs	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
TCA	Triklor asetik asit
TE	Troloks eşdeğeri
TEP	Tetraethoxypropane
TFM	Toplam fenolik madde
TKM	Toplam klorojenik asit miktarı
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
TMK	Toplam maya küf
UV/Vis	Ultraviyole-görünür spektroskopi
VW	Değişken dalgaboylu

1. GİRİŞ

Et, gerek besin değeri, gerekse ürün çeşitliliği ile beslenmemizde önemli bir yer tutan, kasaplık tür hayvanların iskelet kasından elde edilen bir gıdadır. Dayanıklılığını arttırmak amacıyla ete uygulanan fiziksel ve kimyasal işlemler (soğutma ve dondurma işlemi dışında) sonucunda meydana gelen yeni ürün ise, et ürünü olarak adlandırılmaktadır [1].

İnsan sağlığı ve gelişimi için beslenmenin önemli bir parçası olan et, temel mikro besinleri ve amino asitleri yeterli düzeyde sağlamasının yanı sıra enerji metabolizmasının düzenlenmesinde de rol oynar. Kırmızı et; selenyum, demir, folik asit, A ve B₁₂ vitaminleri gibi bazı mikro besinler açısından önemli bir kaynaktır. Bu mikro besinler bitkisel gıdalarda ya bulunmaz ya da biyoyararlılığı oldukça düşüktür. Bunlara ilaveten et; yüksek protein ve düşük karbonhidrat içermesi ve düşük glisemik indeksli olması sebebiyle; aşırı kilo alımı, diyabet ve kanser gelişimi gibi sağlık sorunları üzerinde olumlu etkiye sahiptir [2].

Taze et, kimyasal bileşimi dolayısıyla oldukça kolay bozulabilen bir üründür. Depolama ve paketlenme koşulları, ortamda ışık varlığı, nem, endojen enzimler ve mikroorganizmalar gibi çeşitli faktörler tazeliğini ve raf ömrünü kolaylıkla etkileyebilir. Bu bağlamda; artan nüfusa yeterli miktarda kaliteli ve uygun fiyatlı et ürünü sağlamak için et işleme ve muhafaza teknolojileri gıda güvenliğinde önemli rol oynamaktadır [3].

Etin yapısındaki protein ve lipidler parçalanarak; tat, gevreklik, sululuk, koku ve yapı (tekstür) gibi duyu özelliklerinde olumsuz değişikliklere neden olan yeni bileşiklerin üretilmesine yol açabilir. Bu nedenle, et ve et ürünlerinin bozulma etmenlerini iyi anlamak ve tazeliğini korumak için optimum koşulları sağlamak oldukça önemlidir [4].

Hem artan tüketici talebi hem de et endüstrisindeki rekabet nedeniyle, yeni ürün araştırmaları sürekli olarak devam etmektedir. Bununla birlikte, önceleri birtakım hastalıklara yol açan etmenlere alternatif olması için yeni ürünler piyasaya sürülmüştür [5].

Et ve et ürünlerinin insan sağlığı ile ilişkisi hakkında bilinçlenen tüketiciler tarafından, ürünlerin kalitesi ve güvenilirliği son yıllarda dikkate alınan en önemli özellikler olmuştur. Et ve et ürünleri satın alımında; kimyasal katkı maddeleri kullanılmış ürünler yerine doğal alternatiflerle korunmuş ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Bu nedenle tüketici beklentilerini karşılayabilmek için gıda üreticileri ve araştırmacılar sürekli olarak doğal alternatifler aramaktadır [6-7].

Et ve et ürünlerinde kullanmak üzere, içerdiği antioksidanlar sayesinde lipid oksidasyonunu önlemeye yarayan bitki ekstraktlarını elde etmek ve ticari sürdürülebilirliği sağlamak için güvenli, verimli ve ekonomik prosedürler geliştirilmektedir. Araştırmacılar geçmişten günümüze çeşitli ekstraksiyon prosedürleri üzerinde çalışmaktadırlar. Ekstraksiyon süresi prosedürdeki çeşitlilik sebebiyle birkaç saniyeden birkaç saate kadar değişmektedir. Bu çeşitlilikler, çözücü hacminin numune ağırlığına oranı, basınç, sıcaklık ve radyasyon uygulaması gibi farklı fiziksel parametreleri içermektedir. Tek bir bitkinin birkaç bine kadar ikincil metabolit içerebilmesi, yüksek performanslı ve hızlı ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır [8].

Çok sayıda araştırma yeşil yapraklı sebzelerin; minerallerin yanı sıra β -karoten, askorbik asit, riboflavin ve folik asit gibi önemli fonksiyonel gıda bileşenlerini ve özellikle bol miktarda polifenollerini içerdiğini göstermektedir. İçeriğindeki biyoaktif maddeler; doğal antimikrobiyal ve antioksidan ajan olarak son yıllarda araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir [9].

Ayrıca bazı epidemiyolojik kanıtlar, yüksek düzeyde doğal antioksidan içeren meyve-sebzeleri tüketmenin kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıkları önlemeye yardımcı olduğunu göstermiştir [10].

Taze et ve et ürünlerinin kalitesinin ve fonksiyonel özelliklerinin artırılması için, biyoaktif bileşik kaynağı olan bitki ekstraktları kullanılmaktadır. Bu ekstraktlar, et ürünlerinin fonksiyonel değerini doğrudan veya dolaylı olarak iyileştirebilmekte, raf

ömrünü uzatabilmektedir. Bitki ekstraktları tüketiciler tarafından güvenli olarak algılanmaları nedeniyle et endüstrisinde popülerlik kazanmaktadır [11].

Bitkilerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda tek veya standart bir yöntem yoktur [12]. Soxhlet ekstraksiyonu, maserasyon ve perkolasyon gibi geleneksel yöntemler uzun yıllardır uygulanmaktadır. Son yıllarda, geleneksel yöntemlerin fazla hammadde gereksinimi, uzun süre gerektirmesi, fenolik bileşiklerin yapısında hasara neden olabilecek yüksek sıcaklık uygulaması içermesi gibi olumsuzlukları nedeniyle modern tekniklere gereksinim duyulmuştur. Bu amaçla geliştirilen tekniklerden biri süperkritik akışkan ekstraksiyon (Sc-AE) yöntemidir [13-15]. Sc-AE yöntemi, daha az ekstraksiyon süresi ve çözücü gerektiren çevre dostu bir yöntemdir [16].

Süperkritik akışkanlar düşük viskozite, yüksek difüzyon hızı (yayınrlık), yüksek yoğunluk ve çözme gücüne sahip olmaları nedeniyle ekstraksiyon için iyi çözücülerdir [17-18]. Sc-AE yönteminde genellikle toksik olmaması, ucuz olması, gıdaya zarar vermemesi ve süperkritik hale ulaşma kolaylığı gibi avantajları nedeniyle çözücü olarak karbondioksit kullanılmaktadır. Fenolik bileşikler gibi polar yapıları bileşiklerin ekstraksiyonunda çözücü gücünün artırılması için yardımcı çözücüler (ko-solventler) ile modifiye edilerek (genellikle etanol) kullanılmaktadır [19-20]. Sc-CO₂ ekstraksiyon yönteminin verimliliği; sıcaklık, basınç, tanecik boyutu, ekstraksiyon süresi, çözücü akış hızı ve ko-solvent konsantrasyonu gibi parametrelere bağlı olarak değişmektedir [21].

Bu çalışmada; ilk aşamada, doğal antioksidan kaynağı olarak bilinen melocan (*Smilax excelsa* L.) bitkisinin filiz, meyve ve yaprak olmak üzere farklı kısımları Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemiyle; iki farklı basınç (250 bar ve 350 bar), iki farklı etanol konsantrasyonu (%10 ve %20), iki farklı sıcaklık (30 °C ve 50 °C) ve iki farklı sürede (60 dk ve 90 dk) ekstrakte edilecek ve elde edilen ekstraktlarda TFM, TAK ve TKM yönünden en iyi sonucu veren bitki kısmı ve parametre belirlenerek, köfte üretiminde bu ekstraktlar kullanılacak ve soğukta depolama süresince köftelerdeki kalite parametreleri izlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Et ve Et Ürünlerinde Antioksidan Kullanımı

Et ve et ürünleri; zengin besin içeriği nedeniyle kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmalara elverişli gıdalardır. Bozulmanın en önemli nedenleri ise; lipit oksidasyonu ve mikrobiyal kontaminasyonlardır. Et ürünlerinde lipit oksidasyonu renk, tat, tekstür ve kokuda bozulmalara neden olarak tüketici beğenisini etkilemekte; mikrobiyal bozulma ise üründe bozulmaya neden olarak tüketicide zehirlenmelere yol açabilmektedir. Et ürünlerinin güvenilirliğini sağlamak, ürün kalitesini ve raf ömrünü korumak amacıyla; ısıl işlem, soğutma, dondurma, vakum ve modifiye atmosferde ambalajlama, sentetik veya doğal antioksidanların kullanımı gibi birçok yöntem uygulanmaktadır. Antimikrobiyal ve antioksidan özellikteki katkı maddeleri uzun yıllardır bu amaçla kullanılmaktadır [22-23].

Serbest radikal oluşumunu engellemek ya da var olan radikalleri süpürmek, hücrede meydana gelen hasarı onarmak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan” adı verilmektedir. Antioksidanlar elde edilme kaynaklarına göre; doğal ve sentetik olacak şekilde ikiye ayrılmaktadırlar [24].

Doğal antioksidanlar içerisinde; askorbik asit ve türevleri, tokoferoller, nordihidroguayanet asidi, aminoasit, peptit ve proteinler yer almaktadır. Yapay antioksidanlar içerisinde ise; bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianizol (BHA) ve propil gallat yer almaktadır. Et endüstrisinde BHA, askorbik asit ve gallatların kullanımı yaygındır [25].

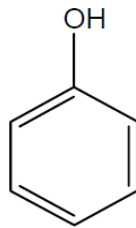
Gıdalarda kullanılacak antioksidanlar; insan sağlığı için zararsız olmalı, düşük maliyetli olmalı, gıdanın doğal yapısını bozmamalı, koruyacağı madde için çözünebilir ve karışmalı ve uygulanan işlemlere dayanıklı olmalıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar; yapay antioksidanların toksisite gösterebileceğini, karsinojenik etki gösterebileceğini, yüksek maliyet gerektirdiğini ve doğal antioksidanlara kıyasla daha düşük antioksidan aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır. Bu nedenle; yapay antioksidanların kullanımına yasal kısıtlamalar getirilmiş ve besinlerle alınabilecek doğal antioksidanlara yönelim artmıştır.

Bu doğrultuda; yüksek fenolik içeriği nedeniyle güçlü antioksidan etkiye sahip olan bitkilere eğilim de artmıştır [24].

2.2. Fenolik Bileşikler

Dünyada yüksek yapılı bitkilerden izole edilmiş ve tanımlanmış 200.000'den fazla kimyasal bileşik vardır. Bu kimyasal bileşikler; birincil ve ikincil metabolitler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler birincil metabolitlerdir ve hücre bakımı için gereklidirler. İkincil metabolitler, fotosentez veya solunum metabolizmasına doğrudan katılmazlar ve genellikle ultraviyole radyasyondan veya patojenlerin saldırılarından bitkileri korurlar. Fenolik bileşikler; meyve-sebzelerin ve diğer bitkilerin, duyuşal ve beslenme kalitesinde önemli belirleyiciler olan ikincil metabolitler olarak tanımlanırlar. Şikimik metabolik yol, poliasetat (malonik asit) metabolik yol veya karışık metabolik yol (shikimik-poliasetat) ile biyosentezlenirler. Doğrudan aromatik halkasına bağılı bir veya birden çok hidroksil (-OH) grubuna sahip olan fenolik bileşiklerin temel yapısı fenol bileşiğine dayanır [12,26-27].

Şekil 2.1.'de de görüldüğü gibi fenol bileşiğı benzen halkasına bir -OH grubunun bağılanması ile oluşur. Fenoller birçok yönüyle -OH grubunun karbon zincirine bağılandığı alifatik alkollere benzerler. Fenolik -OH grubu aromatik halkanın varlığından etkilenir. Aromatik halkadan dolayı fenolik -OH grubunun hidrojeni kararsızdır, bu sebeple fenoller zayıf asitlerdir. Polimerler, bağımsız fenol bileşikleri olarak düşünülse de bu düşünce çoğu zaman yanıltıcıdır. Fenolik bileşikler, bitkiler için karakteristik özellik taşırlar. Bitki yapısında serbest olarak bulunmazlar, genellikle ester veya glikozit olarak bulunurlar [28].



Şekil 2.1. Fenol bileşiğı [28]

2.2.1. Fenolik Bileşiklerin Önemi

Fenolik bileşikler, bitkiler aleminin oldukça yaygın bir sınıfıdır. Meyveler, sebzelerden daha fazla fenolik bileşen içerse de neredeyse tüm meyve-sebzelerde bulunurlar. Meyve-sebzelerin lezzet oluşumundan ve ağızda bıraktığı burukluk hissinden fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı sorumludur. Kalıcı olarak algılanan burukluk hissi fenolik bileşiklerin ağız mukozasında, proteinler ve polisakkaritlerle etkileşimi sonucu oluşur. Ayrıca fenolik bileşikler, acı tat oluşumuna da katkı sağlarlar. Fenolik bileşiklerin proteinlerle kompleks oluşturarak tortu oluşumunu sağlaması, endüstride berrak meyve suyu veya şarap üretiminde durultma amacıyla kullanılmasına olanak sağlar [29-30].

Fenolik bileşik içeren gıdalarda, muhakkak polifenoloksidaz enzimi de bulunur. Fenolik bileşikler, polifenoloksidaz (PPO) enziminin katalizlediği enzimatik esmerleşme reaksiyonlarıyla, gıdalarda esmerleşmeye neden olurlar. Sağlıklı bir hücre fenolik bileşikleri vakuollerinde, PPO enzimi sitoplazmasında barındırdığından; birbirleri ile temasta bulunmazlar. Fakat gıdaya mekanik bir işlem (parçalama, dilimleme, pulpa işleme gibi) uygulandığında, PPO enzimi ile fenolik bileşikler bir araya gelirler ve elma, muz, patates gibi gıdalarda esmerleşmeye neden olurlar. Bu durumun aksine; yapıda esmerleşmeye neden olacak nitelikte fenolik bulunmayan, PPO enzim aktivitesi düşük olan veya askorbik asit içeriği yüksek olan bazı gıdalarda (portakal, limon gibi) enzimatik esmerleşmeye neden olmazlar [30].

Bitkisel fenolikler sağlık açısından da oldukça önemli bileşiklerdir. Fenolik bileşikler doğal antioksidan özelliğine sahip bileşiklerdir [31]. Antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinogenik ve sahip olduğu diğer biyolojik özellikleri ile oksidatif strese ve bazı hastalıklardan korunmayı sağlarlar [32-33]. Ayrıca fenolik bileşikler; anti-diyabetik, anti-alerjik, antifungal, antiinflamatuvar, antikarsinogenik, antimikrobiyal, antiapoptoz (hücre ölümünü engelleyici), yaşlanma karşıtı, kardiyoprotektif ve vazodilatör (damar genişletici) gibi çok çeşitli fizyolojik özelliklere sahiptirler. Bunlara ek olarak; anjiyogenez inhibisyonu ve hücre çoğalması aktivitesine sahiptirler [34-35]. Osteoporoz, dejeneratif hastalıklar ve merkezi sinir sistemi hastalıkları üzerinde koruyucu etkileri olduğu da bildirilmiştir [34,36-37].

2.2.2. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler, Swain ve Bate-Smith [38] tarafından “yaygın” ve “daha az yaygın” olarak iki gruba ayrılmıştır. Harborne ve Simmonds [39], bu bileşikleri moleküldeki karbon sayısına göre gruplara ayırmışlardır. Ribéreau-Gayon [40] ise fenolleri; “yaygın-tüm bitkiler için yaygın olan ya da belli bir bitki için önemli olan”, “daha az yaygın olan-sınırlı sayıda bileşik bilinen” ve “polimerler olarak bilinen fenolik bileşikler” olmak üzere üç sınıfa ayırmıştır [28].

Fenolik bileşikler, değişken yapıları nedeniyle çok fonksiyonlu bileşikler olarak kabul edilirler ve sınıflandırılmasında çeşitli kombinasyonlar gerçekleştirebilir [34]. Bitkisel kökenli olan fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olarak ayrılırlar. Toplam diyet fenoliklerinin %60’ını fenolik asitler, %30’unu flavonoidler oluşturur. Fenolik asitler; benzoik asitler (veya hidroksibenzoik asitler) ve sinamik asitler (hidroksinamik asitler) olmak üzere ikiye ayrılır. Flavonoidleri ise; antosiyonidinler, flavanonlar, flavon ve flavonoller, proantosiyonidinler, kateşin ve lökoantosiyonidinler olarak 5 alt gruba ayırmak mümkündür [26,30].

2.2.2.1. Fenolik asitler

Genellikle serbest olarak bulunmazlar. Karboksil grupları karbonhidrat, glikozit, aminoasit ya da proteinler ile reaksiyona girebilirler; alkoller ile fenol esterleri, amino bileşikleri ile amidleri oluştururlar. Fenol halkalarına bağlı -OH grupları oldukça aktiftir ve şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar. Fenolik asitler; hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit olmak üzere iki grup altında incelenir [41].

Sinamik asit bileşiklerinin yapıları C₆-C₃ (fenilpropan) iskeletine dayalıdır. Kafeik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit meyvelerde bulunan sinamik asitlerdir. Sinamik asit meyvelerde, kinik asit ve glikozla esterleşmiş halde bulunur. En yaygın sinamik asit türevi klorojenik asittir (KA). KA; kafeik asitin o-kinik asitle yaptığı esterdir. Kinik asit, dört -OH grubuna sahip olduğundan, dört bağlanma olasılığı vardır. Siklitoller için International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) terminolojisine göre, 3-, 4- ve 5-kafeoilkinik asitler neoklorojenik asit, kriptomklorojenik asit ve KA ile aynıdır.

Ayrıca sinamik asitler, malik asit ve tartarik asit esterleri olarak da bulunur. Benzoik asit bileşiklerinin yapısı C₆-C₁ (fenilmetan) iskeletine dayanır ve bitkisel gıdalarda sinamik asit türevlerinden oldukça az bulunur veya bulunmazlar. Salisilik asit, vanilik asit, gallik asit, elajik asit, m-hidroksibenzoik asit ve p-hidroksibenzoik asit benzoik asitler arasında sayılmaktadır [41-43].

2.2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler doğrusal bir üç karbon zinciriyle birleştirilen iki benzen halkası olan C₆-C₃-C₆ difenilpropan iskeletine dayanan yapıdadır. Merkezi üç karbon zinciri, benzen halkalarından biriyle kapalı bir piran halkası oluşturabilir. Flavonoidler, bağlanan -OH grubu sayısının farklılığı, merkezi piran halkasının oksidasyon durumu ve doymamışlık derecesine bağlı olarak gruplara ayrılırlar [44-46]. Flavonoidler; bitkilerde sarı, mavi, kırmızı renklerden sorumludur. Meyve-sebzelerde, çay ve şarapta bulunurlar. Sebzelerde en çok bulunan flavonoidler; kuersetin ve kaemferol, meyvelerde ise kuersetindir [47]. Flavonoidler prooksidan ve daha ağırlıklı olarak antioksidan özellik gösterirler. Dolayısıyla radikal aracılı hasar sonucu oluşabilecek pek çok hastalıktan korunmayı sağlarlar [48].

2.2.2.2.1. Antosiyanidinler

Genel adıyla antosiyanin adı verilen glikozit formda bulunan bileşikler meyve, sebze ve çiçeklerin; pembe-kırmızı-mavi bölgedeki renklerinden sorumludurlar. Antosiyaninlerin aglikon kısmını fenolik bileşikler oluşturur ve fenolik bileşiğin yapısındaki -OH grubu fazlaştıkça renkte mavi, metoksi (-OCH₃) grubu fazlaştıkça kırmızılık artar. Başlıca antosiyaninler; siyanidin, pelargonidin, petunidin, delfinidin, peonidin ve malvidindir. Bunlardan siyanidin oldukça yaygındır ve çok tüketilen meyvelerin %90'ında bulunur [41-43].

2.2.2.2.2. Flavon ve Flavonoller

Flavon ve glikozitleri açık sarı renkli bileşiklerdir. Hemen hemen her bitkide bulunurlar. Flavonoller şekerlerle glikozit halinde bağlanmıştır. Flavon ve flavonollerin farkı, orta halkanın 3. pozisyonundaki karbon atomuna farklı grupların bağlanmasından

kaynaklanır. Flavonlarda bu pozisyona hidrojen (-H), flavonollerde ise -OH grubu bağlanmıştır. Gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonlar; luteolin, apigenin, diosmetin ve krizoeriyol olarak flavonoller ise; kamferol, mirisetin, kuersetin ve isoramnetin olarak sayılabilir. Bunlardan kuersetin çok etkili antioksidandır [42-43].

2.2.2.2.3. Flavanonlar

Flavonon glikozitleri turunçgillerde yaygın bulunan bir bileşiktir. Örneğin naringin, hesperidin, naringenin gibi. Bunlardan naringin greyfurtun acı tadından sorumlu bileşiktir. Buna karşın naringenin, naringindihidrokalona dönüşmesi ile tatlı tadı oluşturur. Dihirokalon bileşiklere örnek olarak floretin ve floridzin olarak gösterilir. Dihirokalon yapısındaki bileşikler gıdaların içeriğinde oldukça az vardır. Elma ile armut bulunduğu istisna gıdalardandır [41-42].

2.2.2.2.4. Kateşin ve Lökoantosiyanidinler

Bitkiler aleminde geniş yayılım göstermekle birlikte; renksizdir, serbest olarak bulunurlar. Kimyasal yapılarında 3. karbon atomunda -OH içerirler. İki adet asimetrik karbon atomuna sahip olduklarından dört izomere sahiptirler. 2. ve 3. karbon atomundaki -H cis formda ise (-)-epikateşin ve (-)-epigallokateşin; trans formda ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşin adını alırlar. Kateşinler, polimerlere kadar kondense olabilir ve proantosiyanidini oluştururlar. Flavon türevidir olan lökoantosiyanidinler ise, gıdalarda serbest halde bulunmazlar. Hem 3. hem de 4. karbon atomunda -OH içerdiklerinden, sistematik adları flavon-3,4-dioldür [41-42].

2.2.2.2.5. Proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler; kateşinlerden veya lökoantosiyanidinlerin kondenzasyonu ile oluşan polimerik yapılardır. Epikateşin-kateşin kondensasyonu ile meydana geliyorsa prosiyanidin, kateşin-gallokateşin kondensasyonu ile meydana geliyorsa prodelfinidin olarak adlandırılır. Bitki kökenli gıdalarda çoğunlukla, (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından meydana gelen dimerler ile iki (-)-epikateşinden oluşan prosiyanidin B2 bulunur [41,49].

2.2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin gerek endüstriyel uygulamalarda gerekse araştırmalarda kullanılabilmesi için öncelikle ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Fenolik bileşiklerin doğru ölçülmesi için numune hazırlama ve istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması önemlidir, fakat ekstraksiyon yöntemi fenolik bileşiklerin ayrılması ve geri kazanılmasında birincil belirleyicidir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda tek veya standart bir yöntem yoktur. Elde edilmek istenen aktif maddeye göre ekstraksiyon yöntemi ve koşulları belirlenir. Ekstraksiyon koşulları, elde edilen fenolik bileşik miktarını önemli ölçüde etkiler. Ekstraksiyon koşulları; kullanılan çözücülere, miktarlarına ve oranlarına, ekstraksiyon süresine, sıcaklık ve çalkalama kullanımına göre değişiklik gösterir [12-13,34,46].

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılan geleneksel yöntemler; soxhelet ekstraksiyonu, maserasyon ve perkolasyondur. Soxhelet ekstraksiyonu, katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılan en eski ve en yaygın yöntemdir. Yöntemin düşük maliyetli olması, kullanımının kolay olması ve eş zamanda birçok örneğin ekstrakte edilebilmesi gibi avantajları vardır. Bunlara karşın; fazla miktarda hammadde ihtiyacı, uzun işlem süresi gerektirmesi, yüksek sıcaklıklarda uygulanması ve atık sorunu ortaya çıkarması önemli dezavantajlarıdır. Yüksek sıcaklıklarda uzun süre çalışılması, fenolik bileşiklerin kaybına neden olmaktadır [14-15]. Dolayısıyla; organik çözücü kullanımını en aza indiren, ekstraksiyon süresini kısaltan ve çevre dostu olan modern tekniklere gereksinim oluşmuştur. Bu amaçla geliştirilen ekstraksiyon teknikleri; ultrason, mikrodalga destekli ve süperkritik akışkan ile ekstraksiyondur [16].

2.2.3.1. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon, ısı ve kütle transferini hızlandırabilen ve ekstraksiyon alanında başarılı bir şekilde kullanılan potansiyel bir teknolojidir. İnsanların işitme aralığının üzerindeki frekanslara sahip ses dalgaları, ultrasonik ses dalgalarıdır. Gıda uygulamalarında genel olarak 20 kilohertz (kHz) ile 10 megahertz (MHz) frekans aralığındaki ultrasonik düzenek kullanılır. Gıda endüstrisinde ultrases uygulaması düşük ve yüksek enerjili olarak iki şekilde uygulanmaktadır. İki uygulamada da üretilen enerji miktarı en önemli kriter olmakla birlikte; ses gücü (W), ses yoğunluğu (W/m²) veya ses

enerji yoğunluğu ($W.s/m^3$) ile tanımlanır. Düşük enerjili ultrases uygulama yoğunluğu $1 W/m^2$ 'den az ve frekansı 100 kHz'den fazladır. Yüksek enerjili ultrases ise $1 W/m^2$ 'den fazla yoğunlukta ve frekansı 18-100 kHz aralığındadır. Düşük enerjili ultrases, fizikokimyasal özelliklerin kalite güvencesi ve proses kontrolü için tahribatsız bir analitik teknik olarak kullanılırken; yüksek enerjili ultrases, ekstraksiyon ve işleme uygulamaları için kullanılır [50-51].

Ultrason destekli ekstraksiyon, ısı ve kütle transferini hızlandırabilen ve ekstraksiyon alanında başarılı bir şekilde kullanılan potansiyel bir teknolojidir. Ultrason herhangi bir ortamdan yayıldığında, ortamın moleküllerinde bir dizi sıkışma ve gevşeme meydana getirir. Bu tür basınç değişiklikleri, kabarcıkların oluşmasına ve nihayetinde çökmesine neden olur. Bu olay; akustik kavitasyon olarak adlandırılır. Akustik kavitasyon; sonikasyon ile ekstraksiyonun gerçekleşmesi için itici güçtür [51].

Kamran Khan ve arkadaşları [52], portakal kabuğundan fenolik bileşik elde etmek için ultrason destekli ekstraksiyon yöntemini kullanmışlardır. %80'lik etanol ile 40 °C sıcaklıkta ve 150 W sonikasyon gücü uygulanmış 2 cm portakal kabuğu örneklerinde TFM miktarı 275.8 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g taze ağırlık, flavonon konsantrasyonları ise; 205.2 mg hesperidin ve 70.3 mg naringin/100 g taze ağırlık tespit edilmiştir. Ayrıca ekstraktların, ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivitesi ölçülmüş ve geleneksel ekstraktlara kıyasla yüksek verimlilik ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Cheok ve arkadaşları [53] tarafından yapılan bir çalışmada Mangosten (*Garcinia mangostana* L.) kabuğundan antosiyanin ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ultrasonik yöntemle optimize edilmiştir. 15 dk ve %20 genlikte ultrasonikasyon uygulamasıyla metanol sıvı çözücüsü kullanılarak en yüksek toplam monomerik antosiyanin (2.92 mg cyanidin-3-glucoside/g kabuk tozu) elde edilirken; 25 dk ve %80 genlikte ultrasonikasyon uygulamasıyla etanol çözeltisi kullanılarak en yüksek TFM miktarı (245.78 mg GAE/g kabuk tozu) elde edilmiştir. Çalışmada; toplam antosiyanin ve TFM veriminin, ultrasonik olmayan diğer yöntemlere kıyasla, sırasıyla %45.6 ve %8.8 daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

2.2.3.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

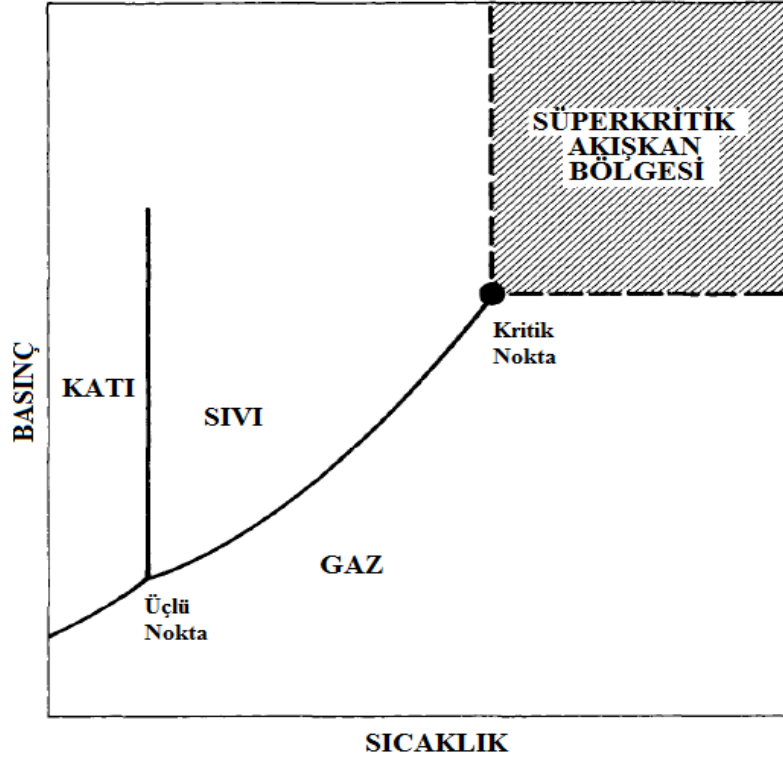
Elektromanyetik spektrumda kızılötesi ışınlarla radyo frekansları arasında, 300 MHz-300 GHz frekans aralığında uzanırlar ve 1-100 cm aralığında dalga boyundadırlar. Endüstriyel ya da bilimsel amaçlı uygulamalarda yaygın olarak 915 MHz ve 2.45 GHz mikrodalga frekansları kullanılır. Mikrodalgalar, magnetron adı verilen elektron tüplerinde üretilirler. İyonik parçacık göçü ya da dipolar parçacık rotasyonu ile moleküler bir harekete yol açarlar. Mikrodalga destekli ekstraksiyon iki farklı teknikle uygulanmaktadır. Bunlardan biri; sıcaklık ve basıncın kontrol altında olduğu kapalı kap uygulamaları, diğeri ise; atmosferik basınç altındaki açık kap uygulamalarıdır. Kapalı kap uygulamaları daha çok uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda avantajlı iken; açık kap uygulamaları hem daha güvenlidir hem de daha fazla miktarda örneğin ekstraksiyonu sağlar. Bu sistem; hızlı olması sebebiyle, daha yüksek verimli ekstraksiyon gerçekleştirmeye olanak sağlar [14,54].

Nkhili ve arkadaşları [55] tarafından yürütülen araştırmada; yeşil çaydan mikrodalga destekli yöntemle fenolik bileşik elde edilmiş ve geleneksel yöntemle kıyaslanmıştır. Yöntemlerden her ikisinde de çözücü olarak su kullanılmıştır. 80 °C’de 30 dk uygulanan mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucunda flavanol içeriği 97.46 mg kateşin eşdeğeri/g yeşil çay olarak bulunurken; 80 °C’de 45 dk uygulanan geleneksel ekstraksiyonla elde edilen ekstraktlarda flavanol içeriği 83.06 mg kateşin eşdeğeri/g yeşil çay olarak bulunmuştur. Ayrıca, en biyoaktif flavanol olan epigallokateşin 3-O-gallat konsantrasyonu; mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulaması sonucu, 77.14 mg kateşin eşdeğeri/g yeşil çay olarak bulunurken; geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulaması ile 64.18 mg kateşin eşdeğeri/g yeşil çay olarak bulunmuştur.

2.3. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO₂) Ekstraksiyonu

Doğada madde; sıcaklık ve basınca bağlı olarak katı, sıvı ve gaz olarak bulunmaktadır. Bir gaz, yüksek basınç altında yeterince sıkıştırıldığında sıvı olur. Fakat belirli bir sıcaklığın üzerinde ne kadar sıkıştırılsa da sıvılaşamaz. Sıvılaşmadığı bu sıcaklığa ‘kritik sıcaklık’ bu sıcaklıktaki buhar basıncına ise ‘kritik basınç’ denir. Her madde kendine özgü kritik bir sıcaklık (T_c) ve basınca (P_c) sahiptir. Şekil 2.2.’de saf maddenin sıcaklık-basınç diyagramı verilmiştir. Burada üçlü nokta, her üç fazın bir arada bulunduğu sıcaklık

ve basıncı, kritik nokta ise sıvı ve gazın bir arada olduğu en yüksek sıcaklık ve basıncı ifade eder. Maddeye kritik noktasının üzerinde basınç ve sıcaklık uygulandığında üç fazdan farklı bölge meydana gelir ve bu bölgede yer alan akışkan ‘süperkritik akışkan’ olarak anılmaktadır [19,56-57].



Şekil 2.2. Saf maddenin sıcaklık-basınç diyagramı [17]

Süperkritik akışkanlar, düşük viskozite ve yüksek difüzyon hızı (yayınırılık) özelliklerinden dolayı gazlara; yüksek yoğunluk ve çözme gücü özelliklerinden dolayı ise sıvılara benzer davranış gösterirler. Sahip oldukları bu özellikler süperkritik akışkanların çözücü olarak etkili bir şekilde kullanılmasını sağlar. Bununla birlikte süperkritik akışkanların viskozitesinin ve yüzey geriliminin düşük olması, katılar içerisine daha kolay nüfuz etmesini; difüzyon katsayısının yüksek olması ise, ekstraksiyon işlemlerinin etkili bir şekilde gerçekleşmesini sağlar [18,58] Çizelge 2.1.’de gaz, sıvı ve süperkritik akışkan maddelerin bahsedilen fiziksel özellikleri (yoğunluk, difüzyon katsayısı ve viskozite) karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.1. Gaz, sıvı ve süperkritik akışkanların fiziksel özellikleri [59]

	Yoğunluk (g/cm ³ ,mL)	Difüzyon Katsayısı (cm²/sn)	Viskozite ($\frac{g}{cm.sn} \times 10^{-4}$)
Gaz	(0.6-2.0)x10 ⁻³	(0.01-1.0)	(0.5-3.5)
Süperkritik Akışkan	(0.2-0.9)	(0.5-3.3)x10 ⁻⁴	(2.0-9.9)
Sıvı	(0.8-1.0)	(0.5-2.0)x10 ⁻⁵	(30-240)

Fiziksel özellikleri ekstraksiyon işlemi için uygun olsa dahi her süperkritik akışkan, her maddeyi aynı verimlilikle çözmez. Dolayısıyla, akışkan seçimi büyük öneme sahiptir. Seçim yapılırken elde edilmesi istenen bileşiğin akışkan içindeki çözünürlüğü, akışkanın kimyasal kararlılığı, ekonomik uygunluğu, saflığı, kritik koşullara kolay ulaşabilmesi, kolay bulunabilir olması, toksisite göstermemesi, patlayıcı ve yanıcı olmamasına dikkat edilmelidir [60-61].

2.3.1. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO₂)

Karbondioksit (CO₂), kritik sıcaklık değeri olan 31 °C ve kritik basınç değeri olan 73,8 bar ve üzeri değerlerde süperkritik akışkan fazındadır. Toksik olmaması, yanıcı olmaması, gıdanın besinsel ve duyuşsal özelliklerine zarar vermeden kolayca süperkritik hale ulaşması, ucuz olması ve uzun süreli sağlık problemi yaratmaması gibi özellikleri nedeniyle süperkritik akışkan ekstraksiyonlarının çoğunda ekstraksiyon ajanı olarak CO₂ kullanılır. Bunlara ilaveten; birçok proseste %90'ın üzerinde geri kazanılabilmesi ve yeniden kullanılabilmesi, sıkıştırılmış CO₂ gazı için silindirler ve sıvı CO₂ için basınçlı ve soğutmalı tanklar ile kolayca ve emniyetli bir şekilde depolanabilmesi, çözme gücünün basınç ve sıcaklıkla değişebilmesi gibi özellikleri de CO₂'in ekstraksiyonda çözücü olarak kullanılması için önemli avantaj sağlar [19,61]

CO₂; non-polar özelliğinden dolayı, polar maddeler için iyi bir çözücü değildir. Polar maddelerdeki çözünürlüğünü artırmak için; CO₂, polar yapıda olan organik yardımcı çözücüler ile modifiye edilir. Basınç, sıcaklık koşulları ve organik çözücünün kontrol edilmesi ile Sc-CO₂, geniş kullanım alanı bulmaktadır [19]. Mühendislik uygulamalarında sıklıkla karşılaşılan ve süperkritik akışkan ile modifiye edilen organik çözücüler, alternatif terminolojide 'ko-solvent' ya da 'sürükleyici' terimleri ile ifade

edilir. Sc-CO₂ ekstraksiyon işlemi için CO₂'in ko-solvent ile modifiye edilmesinde iki farklı deney düzeneği kullanılır. Bunlardan biri; Sc-CO₂ ekstraksiyonu boyunca, genellikle ek bir pompa kullanılarak veya nadiren sıvı besleme silindiri kullanılarak, ko-solventin sürekli olarak ilave edilmesidir. Diğeri ise; ko-solventin ekstraksiyon öncesinde numune ile beraber ekstraksiyon kabına yerleştirilmesi yani statik eklenmesidir [62].

Sc-CO₂'in polar maddelerdeki çözücü gücünü artırmak için yardımcı çözücü olarak çoğunlukla etanol kullanılır. Bunun nedeni; etanolün düşük kaynama noktasına sahip olması ve gıdaya uygulanabilir olmasıdır [63-64].

2.3.2. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO₂)'in Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları

Başta CO₂ olmak üzere, süperkritik akışkanlar, (özellikle gıda, kimya, biyokimya ve kozmetik sanayiinde) katı veya sıvılardan ekstraksiyon, saflaştırma, gözenek oluşturma ve tanecik tasarımı gibi ayırma uygulamalarında; yağların modifikasyonu, polimerizasyon ve atık su arıtma gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlarda kullanılır [65].

Süperkritik akışkanlar gıda endüstrisinde; çay ve kahve dekafeinizasyonu, baharat ekstraksiyonu, yağların deodorizasyonu, öğütülmüş tohum ve tahıllardan bitkisel yağ eldesi, şerbetçi otu ve bitki kökenli ilaçların ekstraksiyonu, meyve suyu stabilizasyonu, lanolinin yünden eldesi, tüketime hazır gıdalardan yağın uzaklaştırılması, hayvansal dokuların ve yumurta sarısının dekolestrolizasyonu, bitkisel materyallerden antioksidan eldesi, bitkilerden renk pigmenti eldesi ve tütünün denikotinizasyonu gibi işlemler için kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten tatlandırıcı, koku, aroma ve parfüm üretiminde ve doğal pestisit üretiminde de kullanım alanı bulmaktadır [57].

2.3.3. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO₂) Ekstraksiyon Sistemi

Son yirmi yıldır, laboratuvar ve ticari ölçeklerde çeşitli matrislerden biyoaktif ve değerli bileşikleri ekstrakte etmek için Sc-AE teknolojisi yaygın olarak uygulanmaktadır. Ticari ölçeklerde bazı olumsuzlukları olmasına rağmen, Sc-AE teknolojisi gıda ve ilaç sektöründe gelecek vaat eden bir uygulamadır. Sc-AE'de nihai amaç; kısa sürede, yüksek

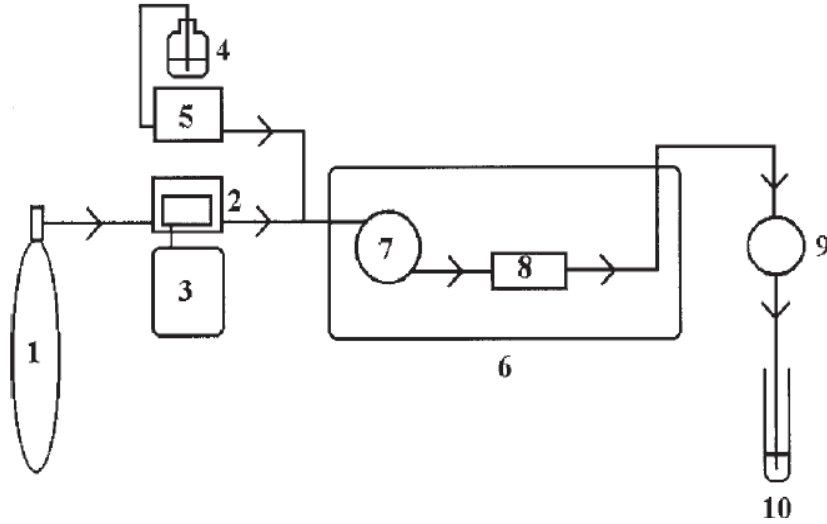
seçicilikte ve yüksek saflıkta ürün elde etmektir. Bu amaç doğrultusunda; önceki bölümlerde bahsedilen özellikleri nedeniyle organik çözücü ile de desteklenebilen CO₂ kullanılmaktadır [63,66].

Süperkritik akışkan ile ekstraksiyon; süperkritik akışkan kullanılarak, çözünmeyen matristen çözünen maddelerin çıkarılması işlemidir [67]. Süperkritik çözücüde çözünebilen maddelerin ekstraksiyonu ve ekstrakte edilen maddelerin çözücüden uzaklaştırılması (seperasyonu) olmak üzere iki aşamada tamamlanır. Ekstraksiyon katı, sıvı veya yoğun bir matrise uygulanabilir. Sc-CO₂ ekstraksiyonunda gelişmelerin çoğu ve endüstriyel uygulamalar katı matristen ekstraksiyonu kapsar [68].

Sc-CO₂ ekstraksiyon sistemleri karmaşıklık ve maliyet gözetilmeksizin; bir akışkan kaynağı, bir veya daha fazla pompa, soğutma ünitesi, ekstraksiyon haznesi, yardımcı çözücü haznesi, yardımcı çözücü pompası, fırın, dengeleme bobini, ekstraksiyon haznesi, geri basınç düzenleyicisi ve toplama kabı gibi temel parçalardan oluşur. Fırın, hücre içeriğini ekstraksiyon sıvısının kritik sıcaklığının üzerinde tutmak için kullanılır. Dengeleme bobini ise, fırın içerisindeki termal dengenin sağlanmasına yardımcı olmak için kullanılır. Ekstraksiyon haznesi numunenin yerleştirildiği ve ekstraksiyonun gerçekleştiği bölümdür. Genellikle içi boş ve iki ucunda filtre içeren hazne; paslanmaz çelik malzemeden yapılmıştır. Geri basınç düzenleyici, basıncın kritik seviyenin üzerinde tutulmasını sağlar. Toplama kabı, çözünen bileşiğin biriktiği parçadır. Sc-CO₂ ekstraksiyon sisteminin en basit haliyle gösterimi Şekil 2.3.'teki gibidir [67].

Sistemde; ilk olarak ön muamele edilmiş hammadde, (genellikle öğütülmüş katı gıda) iki ucunda da filtre bulunan ekstraksiyon haznesine yerleştirilir. Sistem sızıntı olmayacak şekilde kapatılır. Sıcaklık ve basınç istenen değerde sabitlendikten sonra, sıvı karbondioksit pompa yardımıyla istenen basınca ayarlanarak ekstraktöre beslenir. Cihaz ya ısıtma ceketini ile ısıtılır ya da akışkan sisteme verilirken bir ısı değiştirici plaka vasıtasıyla istenilen çalışma sıcaklığına ulaştırılır. Süperkritik karbondioksit, katı matris ile etkileşime girer. Bu etkileşimde CO₂, sıcaklık ve basınç koşullarında çözebildiği bileşikler çözer ve seperatöre taşır. Daha sonra karbondioksit, basıncın ve sıcaklığın düşürülmesi ile gaz haline döner ve ekstrakttan ayrılır. Süperkritik şartlarda altında CO₂

ve katı matris etkileştiğinde, kütlenin transferi çözünen desorpsiyonu ve çözücü adsorpsiyonu ile difüzyonuna bağlıdır. Etkileşimde meydana gelen olaylar sırasıyla Şekil 2.4.'te verilmiştir [69-71].

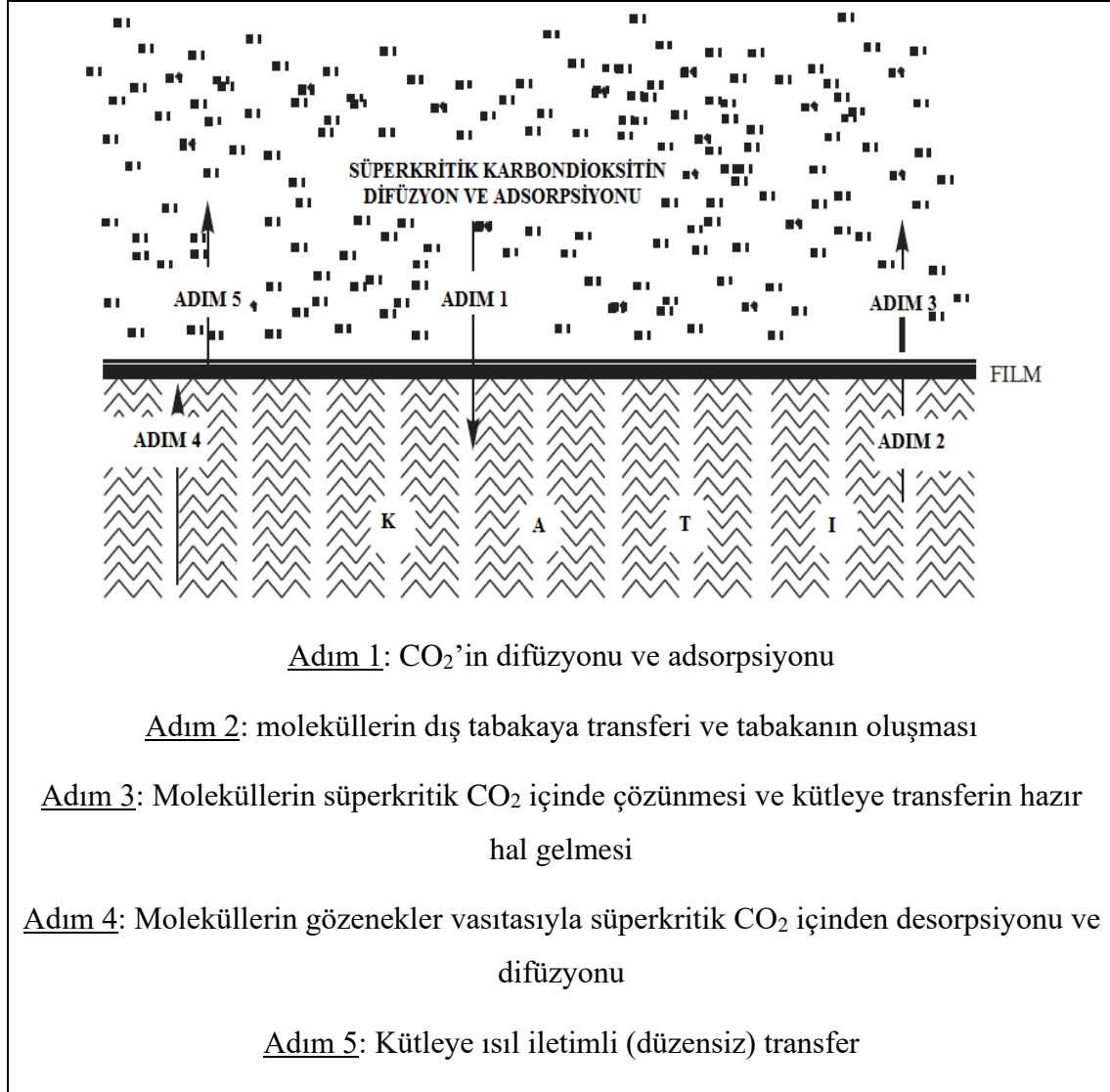


Şekil 2.3. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi [67]

(1:karbondioksit kaynağı, 2:karbondioksit pompası, 3:soğutma ünitesi, 4:yardımcı çözücü haznesi, 5:yardımcı çözücü pompası, 6:fırın, 7:dengeleme bobini, 8:ekstraksiyon haznesi, 9:geri basınç düzenleyici, 10:toplama kabı)

Sc-CO₂ ekstraksiyon sistemi; dinamik ekstraksiyon ve statik ekstraksiyon olmak üzere iki asıl modda gerçekleştirilebilir. Dinamik modda (sürekli) ekstraksiyon haznesi ve toplama kabı arasındaki pompa sürekli açıktır. Süperkritik akışkan, ekstraksiyon haznesinde bileşenleri tutar ve ekstrakt sürekli olarak toplama kabına taşınır. Statik modda (kesikli) ise ekstraksiyon işlemi iki ayrı adımda gerçekleşir. İlk adımda; ekstraksiyon haznesi ve toplama kabı arasındaki pompa kapalıdır iken, numune ve süperkritik akışkan etkileşime girer. İkinci adımda; pompa açılır ve ekstrakte edilen maddeler toplama kabına taşınır. Ekstraksiyon işleminin bir süre statik ve ardından dinamik modda gerçekleştiği kombinasyonları da uygulanır. Bunların yanında; bileşenleri toplama ve tanımlama açısından da off-line ekstraksiyon ve on-line ekstraksiyon olmak üzere iki modda gerçekleştirilebilir. Off-line ekstraksiyonda süperkritik akışkan-ekstrakt birlikte toplama kabına gönderilir, bu noktada süperkritik akışkanın buharlaşarak atmosfere salınması sağlanır ve ekstraktın bileşenleri ayırma cihazında tanımlanır. On-line ekstraksiyonda ise; süperkritik akışkan ekstrakttan

uzaklaştırılmadan, ekstrakt doğrudan bir ayırma cihazına verilir. Ekstra bir müdahale yapılmadığından, on-line ekstraksiyon daha hassastır [72-73].



Şekil 2.4. Ekstraksiyon prosesinde meydana gelen olaylar [57]

2.3.4. Süperkritik Karbondioksit (Sc-CO₂) Ekstraksiyon Sisteminin Verimliliğini Etkileyen Temel Parametreler

Sc-CO₂ ekstraksiyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi için dikkate alınması gereken birçok parametre vardır. Bunlar; örneğin tipi, örnek hazırlama metodu, akışkanın tipi, yardımcı çözücü seçimi, akışkanın sisteme verilmiş metodu ve basınç, sıcaklık, akış hızı, süre gibi ekstraksiyon koşullardır [21]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonlarını

etkileyen değişkenler için optimum değerlerin kullanılması, hedef bileşimin geri kazanımını veya ekstraksiyon verimini önemli ölçüde artırır [74].

2.3.4.1. Sıcaklık ve Basınç

Hedef bileşimin süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğü, ekstraksiyon verimliliğini etkileyen önemli bir faktördür. Süperkritik akışkanın çözünürlüğü, iki temel özelliğine bağlıdır. Bunlardan biri, basınç ve sıcaklık tarafından belirlenen yoğunluk; diğeri ise polaritesidir. Sabit sıcaklıkta, basıncın artırılmasıyla birlikte süperkritik akışkanın yoğunluğu ve çözücü gücü artar. Artan basınç sadece çözünme gücünü arttırmakla kalmaz, aynı zamanda difüzyonunu da kolaylaştırır. Polimerler süperkritik koşullarda CO₂ absorblayarak şişer ve çözünen maddenin difüzyonunu destekler. Bu nedenle, bir polimer matrisinden çözünenin difüzyon hızı, basınç artırılarak artırılabilir. Fiziksel özelliklerinin değiştirilmesiyle çözücü gücünün kolaylıkla artırılabilirdiği tek yöntem Sc-CO₂ ekstraksiyonudur [21,61].

2.3.4.2. Tanecik Boyutu

Sıcaklık ve basıncın yanı sıra, süperkritik ekstraksiyon işleminin etkinliği katı matrisin parçacık boyutu, şekli, yüzey alanı ve gözeneklilik gibi özelliklerine de bağlıdır [75]. Temel fizik kurallarından da bilindiği üzere; partikül boyutu ne kadar küçülürse, akışkanla temas eden yüzey alanı o kadar büyür ve ekstraksiyon oranının artmasına yol açar [76]. Bunun aksine; süperkritik akışkan ekstraksiyonunda partikül büyüklüğünün ekstraksiyon verimi üzerinde etkisinin olmadığını ileri süren çalışmalar da vardır [77].

2.3.4.3. Çözücü Akış Hızı

Ekstraksiyonun çözünürlük kontrollü mü yoksa desorpsiyon kontrollü mü olduğu, çözücü akış hızının ekstraksiyon hızı üzerindeki etkisini belirler. Eğer ekstraksiyon süreci çözünürlük ile kontrol ediliyorsa; çözücü akış hızının artması elde edilen ürün verimi açısından sürece bir etkide bulunmazken ekstraksiyon hızını artırır. Eğer ekstraksiyon süreci desorpsiyon ile kontrol ediliyorsa; ekstraksiyon hızı ya çok az değişiklik gösterir ya da hiç değişiklik göstermez. Akış hızının artması ekstraktör içindeki türbülansları artırır. Böylece kütle transfer direncini azaltarak verimliliği artırırken, öte yandan da

akışkan ile katı matrisin temas süresi kısılacağından, verimliliğin azalmasına neden olur. Yani, katı matrisin yapısı çözücünün akış hızının sürece olan etkisiyle ilişkilidir [78-80].

2.3.4.4. Yardımcı Çözücü

Karbondiyoksit non-polar (apolar) özellikte bir çözücü olduğundan apolar bileşikler kolaylıkla çözmektedir; ancak polar bileşikler çözmeye başarılı değildir. Yardımcı çözücü ile desteklenerek karbondiyoksitin polar bileşiklerdeki çözücü gücünün artırmak mümkündür. Gıda endüstrisinde yardımcı çözücü olarak çoğunlukla etanol kullanılır [78,80]. Farklı etanol konsantrasyonları ile modifikasyonu, CO₂'nin kritik koşullarını etkilemektedir. %10 oranında etanolla modifiye edildiğinde 53.7 °C ve 7.27 MPa olan kritik sıcaklık ve basınç değerleri; %20 oranında etanolla modifiye edildiğinde 76.1 °C ve 7.15 MPa olmaktadır [81].

2.3.4.5. Ekstraksiyon Süresi

Süperkritik akışkan ekstraksiyon verimini artırmak için, çözücü ile numunenin temasının en üst düzeyde olması gerekir. Fakat burada kullanılan matris türü ve üründe elde edilmesi istenilen madde miktarı çok önemlidir. Ekstrakte edilmek istenen madde Sc-CO₂ içinde doygunluğa ulaştıktan sonra süre ne kadar uzarsa uzasın verim üzerinde önemli bir etkisi olmaz [78].

2.3.5. Süperkritik Karbondiyoksit (Sc-CO₂) Ekstraksiyon Yönteminin Avantaj ve Dezavantajları

Endüstriyel uygulamalar ve analitik çalışmalar için büyük öneme sahip olan ekstraksiyon işleminde, elde edilmesi istenilen ürün üzerindeki olumsuz etkileri en aza indirmek için yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla geliştirilen yöntemlerden biri de ScCO₂ ekstraksiyon yöntemidir. ScCO₂ ekstraksiyon yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında birçok avantaja sahiptir [14]. Bunlar:

- Ekstraksiyon sisteminde çözücü akışkan olarak çoğunlukla karbondiyoksit kullanıldığından, son üründe toksik madde ve pestisit bırakmaz, çevre dostudur.
- CO₂ ucuz ve kolay ulaşılabilir bir çözücü olduğundan, yöntem ekonomiktir.

- Kullanılan çözücü miktarı çok azdır.
- Süperkritik akışkanların yüksek difüzyon katsayısı ve düşük viskoziteye sahip olmaları nedeniyle, katıya daha hızlı nüfuz ederler.
- Geleneksel çözücü ekstraksiyonlarında olduğu gibi ısı işlemi gerektirmez. Bu da ısı işleme karşı duyarlı olan bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanımı uygundur.
- Sıcaklık ve basınçta değişiklikler yapılarak, çözücü özellikleri kolaylıkla değiştirilebilir.
- Otomasyona uygun bir sistemdir.
- Ekstraksiyon işlemi sonlandığında basıncın düşürülmesi ile çözücü akışkan kolaylıkla ayrılabilir. Geleneksel yöntemlerde olduğu gibi çözücü ayırmak için ek uygulama gerektirmez.
- Sistem kapalı olduğu için, oksijen bulunmaz. Kullanılan karbondioksit ve azot gibi gazlar da inerttir [14,19,82].

Yöntemin dezavantajlarından bahsedecek olursak;

- Daha önce de belirtildiği gibi $ScCO_2$, yapısı gereği non-polar analitler için mükemmel bir çözücüdür. Fakat polar analitler için iyi bir çözücü değildir. Fakat bu sorun başka bir çözücü seçimi ya da CO_2 'e polar yapıda olan yardımcı bir çözücünün ilave edilip polaritesinin artırılması ile ortadan kalkar. Pratik koşullarda, CO_2 yerine polar bir çözücünün seçilmesi sınırlıdır. Yardımcı çözücü ilave edilmesi ile polaritesinin artırılması daha yüksek çözme gücüne sahip bir akış sağlar. Gıda endüstrisinde yardımcı çözücü olarak genellikle etanol kullanılır.
- Yüksek yatırım maliyeti ve enerji gereksinimine yol açar.
- Matrise bağımlıdır [19,80,82].

2.3.6. Fenolik Bileşiklerin Süperkritik Karbondioksit ($Sc-CO_2$) Ekstraksiyon Yöntemi Kullanılarak Elde Edildiği Çalışmalar

Bernardo-Gil ve arkadaşları [83], öğütülmüş keçiboynuzunu süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte etmiş ve biyoaktif bileşen içeriğini incelemişlerdir. Keçiboynuzu tozuna ilk olarak sulu ekstraksiyon işlemi uygulanmış ve çözünmeden kalan katı kısma $Sc-CO_2$ ekstraksiyonu uygulanmıştır. Ekstraksiyonda ko-solvent olarak etanol-su (80:20, v/v) kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 15-22 MPa basınç aralığında,

40-70 °C sıcaklık aralığında, 0.27-1.07 mm partikül çapı aralığında, %0-12.4 ko-solvent aralığında, 0.28-0.85 kg.h⁻¹ Sc-CO₂ akış hızı aralığında incelenmiştir. En verimli ekstraksiyon koşullarının; 22 MPa basınç, 40 °C sıcaklık, 0.27 mm partikül boyutu, %12.4 ko-solvent ve 0.29 kg/h Sc-CO₂ akış hızı olduğu belirtilmiştir.

Murga ve arkadaşları [84] Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktlarının fenolik bileşik içeriği incelenmiştir. Örnekler; 40°C sıcaklık, 20 MPa ve 30 MPa basınçlarda, farklı konsantrasyonlarda (%2, %5, %10, %15) etanol ve metanolün ko-solvent olarak kullanıldığı Sc-CO₂ ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlardaki fenolik bileşikler kromatografik olarak tanımlanmıştır. Çalışma, Sc-CO₂ ekstraksiyonunun çözücü kapasitesinin basınç ve ko-solvent varlığı ile arttığı sonucuna varmışlardır.

Floch ve arkadaşları [85] tarafından yürütülen bir çalışmada, Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemi kullanılarak zeytin yaprağının fenolik bileşik içeriği incelenmiştir. Çalışmada 30 mg zeytin yaprağı; %10 metanol ile modifiye edilmiş, 334 bar basınç ve 100 °C sıcaklık altında, 2 mL/dk akış hızına sahip CO₂ ile 20 dk ekstrakte edilmiştir. Ekstraktların TFM miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile ölçülmüş ve 4.2 mg kafeik asit/g örnek olarak bulunmuştur.

Vatai ve arkadaşları [86], kaberne üzüm posası, refosko üzüm posası ve mürver ağacı meyvesindeki polar olmayan bileşiklerin ekstraksiyonu için, ön muamele olarak Sc-CO₂ ekstraksiyonunun kullanılmasının toplam antosiyenin ve TFM miktarına etkisini incelemişlerdir. Mürver ağacı meyvesinin %50 etanol ile 60 °C'de geleneksel ekstraksiyonuyla elde edilen ekstraktında TFM miktarı 60.6 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Ön işlem olarak 30 MPa basınç ve 40 °C sıcaklıkta CO₂ uygulamasının ardından %50 etanol ile 60 °C'de geleneksel ekstraksiyonuyla elde edilen toplam ekstraktında TFM miktarı 74.6 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur.

Marques ve arkadaşları [87], guaraná (*Paullinia cupana*) tohumlarının Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemi kullanarak biyoaktif bileşenlerini incelemişlerdir. Ko-solvent

(etanol ve/veya metanol), süre (20, 40, 60 dk), sıcaklık (40, 50, 60 °C) ve basınç (100, 200, 300 bar) değişkenleri incelenmiştir. Polifenollerin içeriği, epikateşin/kateşin miktarı, verim ve işletme maliyeti göz önünde bulundurularak Sc-CO₂ ekstraksiyonu için en iyi koşulların, %40 etanol:metanol ko-solvent varlığında, 40 ° C sıcaklık ve 100 bar basınç altında 40 dk olduğu kanıtlanmıştır. En yüksek verim ve TFM miktarı; %40 etanol:metanol ko-solvent varlığında, 40 °C sıcaklık ve 300 bar basınç altında 40 dk ekstraksiyonla elde edilmiştir. Verim %3.93 ve TFM miktarı 105.76mg pirogallol eşdeğeri /g guaraná tohumu olarak tespit edilmiştir.

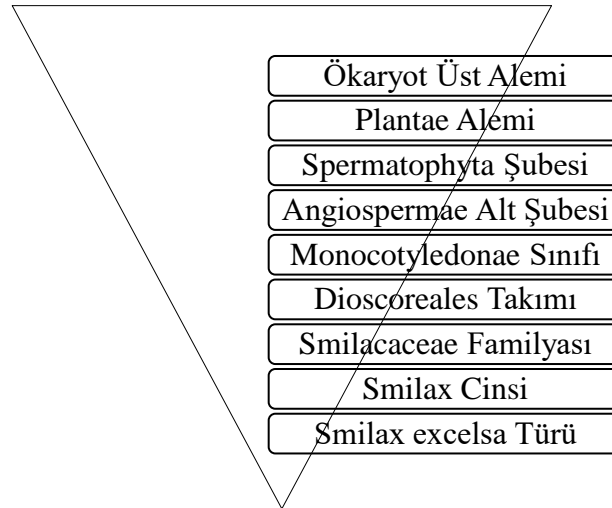
Ghafoor ve arkadaşları [88], üzüm (*Vitis labrusca* B.) kabuğundan değerli bileşiklerin ekstraksiyonu için Sc-CO₂ ekstraksiyon metodunu uygulamışlardır. 45-46 °C sıcaklık, 160-165 kg/cm² basınç, %6-7 etanol konsantrasyonu koşullarında optimum ekstrakt verimi %12.31; optimum TFM miktarı 2.156 mg GAE/100 mL; optimum antioksidan aktivitesi 1.628 mg/mL ve optimum toplam antosiyanin madde miktarı 1.176 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Sc-CO₂ ekstraksiyon yönteminin çevre dostu bir çözücü olan CO₂ kullanımı, düşük sıcaklıkta ekstraksiyona izin vermesi ve elde edilen ekstraktların daha yüksek kalite ve güvenliğe sahip olması; bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için geleneksel yöntemlere alternatif olarak başarılı bir şekilde kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Zulkafli ve arkadaşları [89] tarafından yürütülen bir çalışmada; antioksidan ve antikarsinojen aktiviteleri ile bilinen bambu yapraklarından Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir. Sc-CO₂ ekstraksiyon metodu ile kıyaslamak için örneklerin geleneksel soxhelet ekstraksiyon yöntemi ile de ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. CO₂'e 25:75 (mol:mol) oranındaki etanol-su karışımından %5 (mol) ilave edilmiş, 90 °C sıcaklık ve 20 MPa basınç altında en yüksek polifenol içeriği 7.31 mg kateşin eşdeğeri/g bambu yaprağı olarak; en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivitesi ise 3.65 mg BHA eşdeğeri/ g bambu yaprağı olarak bulunmuştur. 25:75 (mol: mol) etanol-su karışımı ile gerçekleştirilen soxhelet ekstraksiyonu için en yüksek polifenol içeriği 10.85 mg kateşin eşdeğeri/g bambu yaprağı olarak; en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivitesi ise 3.30 mg BHA eşdeğeri/ g bambu yaprağı olarak bulunmuştur.

2.4. *Smilax excelsa* L. (Melocan)

Yaygın olarak sarsaparilla olarak adlandırılan *Smilax*, Smilacaceae familyasının en büyük cinsidir. *Smilax* cinsine ait 350 alt tür bulunur. Bu cinsine ait bitkiler dikenli-gövdeli, çok yıllık ve tırmanıcıdır. Dünya çapında ılıman, tropikal ve yarı tropikal bölgelerde yetişir. Bu türlerin yaklaşık 76'sı Çin, 29'u ise Amerika ve 24'ü Hindistan kökenlidir. Bu cinsin Orta Amerika'da yaygın olarak yetişen türleri: *Smilax ornata*, *Smilax medica*, *Smilax officinalis*, *Smilax utilis*'dir. Ülkemizde ise; *Smilax excelsa* ve *Smilax aspera* olmak üzere iki türü yetişir. Bunlardan biri Kuzey Anadolu'da yayılış gösteren *Smilax excelsa*; diğeri ise Batı ve Güney Anadolu'da yayılış gösteren *Smilax aspera*'dır [90-92].

Smilax cinsinin çeşitli türleri; antimitojenik [93], antioksidan [94], antimikrobiyel [95], antikarsinojen [96], antidiyabetik [97], iltihap önleyici [98] ve ağrı dindirici [99] gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahiptir. Geleneksel olarak; akut basilli dizanteri, frengi, egzama, sistit, dermatit, akut ve kronik nefrit, cıva-gümüş zehirlenmesinde, mide ağrı ve şişkinliğinde, meme kanserinde tedavi amaçlı kullanılırlar [100-101].



Şekil 2.5 *Smilax excelsa* bitkisinin sınıflandırması [102]

Hiyerarşik sınıflandırması Şekil 2.5'te verilen *Smilax excelsa* L.; kışın yapraklarını döken ya da dökmeyen, alt kısımları dikenli ve odunsu gövdesi olan, boylanabilen, tırmanıcı bir bitkidir. Toprak altında bulunan rizom nodyumlarından (düğümlelerinden) kümeler halinde çıkan tırmanıcı gövdeler, diğere ağaç ya da çalılırların üzerine filizleri ile tutunarak 20

metreye kadar boylanabilirler. *Smilax excelsa* L. bitkisinin yaprakları geniş ve yüreğimsi (kordat), meyveleri küremsi şekle sahiptir [91-92,102-103].

Smilax excelsa L. Türkiye'de yaygın olarak Karadeniz Bölgesi'nde, Trakya ve Akdeniz kıyılarında yetişir. Bitki bu bölgelerde; ormanlarda, çalılıklarda ve yol kenarlarında gelişim gösterir. Türkiye'de yetiştiği yöreye göre değişiklik göstermekle beraber “melocan, dikenucu, kırçan, melvocan, saparna, mamula, çıtırğı, melevcen, sıraca” gibi farklı isimlerle bilinir [104]. Karadeniz Bölgesi'nde yetişen melocanın toprak altı (kök, rizom) ve toprak üstü sürgün (gövde, yaprak, meyve) kısımları, bölge halkı tarafından birçok amaçla kullanılır [103]. Bitkinin köklerinin kurutulmak suretiyle öğütülmesiyle çayı tüketilmektedir. *Smilax excelsa* L. dikenli bir bitki olmasına rağmen, bitki ilkbahar aylarında genç sürgünlerini (filiz) vermeye başlar. Filizleri (genç sürgün) taze halde sebze olarak ve kavurması yapılarak tüketildiği gibi dondurarak ya da turşusu yapılarak da tüketilebilir. Meyveleri taze olarak, yaprakları ise sarması yapılarak tüketilir. Şekil 2.6.'da *Smilax excelsa* bitkisinin meyve, yaprak ve filiz görselleri verilmiştir. Ayrıca; tohumundaki zar “gıcır” ismiyle bilinir ve esnekliğini sağlamak amacıyla sakıza ilave edilir. Bitkinin meyveleri *Ruscus aculeatus* bitkisinin dallarına takılarak süs çiçeği olarak “kokina” adıyla piyasaya arz edilir [102,105-107].



Şekil 2.6. *Smilax excelsa* bitki kısımları [102,105]

Ülkemizde melocan, gıda olarak tüketilmesinin yanında, geleneksel tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılır. Bunlardan bazıları; meme kanseri, mide ağrısı ve mide şişkinliğidir [100]. Ayrıca melocan kökünden yapılan çay terletme ve kanı temizleme

özelliğine sahiptir, cilt hastalıklarına faydalıdır ve frengi hastalığının tedavisinde de kullanılır. Sahip olduğu iyileştirici özellikleri; yapısında bulunan biyoaktif bileşenlerden kaynaklanır. *Smilax excelsa* bitkisinin biyoaktif bileşenlerini incelemek adına birçok çalışma yapılmıştır [106].

Ivanova ve arkadaşları [101], Bulgaristan'da Golden Sands, Varna yakınlarında Şubat 2004'te hasat edilen ve oda sıcaklığında kurutup öğüttükleri *Smilax excelsa* rizomlarının biyoaktif bileşenlerini ve sitotoksik aktivitelerini incelemişlerdir. *Smilax excelsa* rizomları oda sıcaklığında üç kez metanol ile ekstrakte edilmiş, ekstrakt konsantre hale getirilmiş, ardından metanol-su ile geri süspansiyon edilmiştir. Süspansiyon; kloroform ve *n*-bütanol ile yeniden ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopisi ile incelenmiş; *trans*-resveratrol, 5-*O*-kafeoilshikimik asit, naringenin, 1-*O*-*trans*-feruloylglycerol, 1,2-*O*-di-*trans*-feruloylglycerol ve 1-*O*-*trans*-*p*-coumaroylglycerol bileşikleri tespit edilmiştir. Ekstraktların sitotoksik aktiviteleri incelendiğinde ise; ekstraktların hepsinin yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu, fakat içlerinden kloroform ve *n*-bütanol ekstraktlarının daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Ivanova ve arkadaşları [108], yaptıkları diğer çalışmada *Smilax excelsa* rizomlarının kloroform ve *n*-bütanol ekstraktlarının daha yüksek olmak üzere, antioksidan aktivite gösterdiği sonucu çıkarılmıştır. Ivanova ve arkadaşları [109]'nın yaptıkları bir başka araştırmada *Smilax excelsa* rizomlarının metanol ekstraktının *n*-bütanolde çözündürülmüş fraksiyonlarında; üç yeni furostanol saponin, üç bilinen steroidal saponin tanımlanmıştır.

Khalig ve arkadaşları [110], Temmuz 2013'te İran'ın Sari, Baladza köyünden hasat ettikleri *Smilax excelsa*'nın kök ve yapraklarını oda koşullarında kurutup, yine oda koşullarında etil asetat ile 24 saat ekstrakte etmişlerdir. Farklı spektroskopik yöntemler kullanarak, ekstraktlardan 5 farklı bileşen elde etmişlerdir. Bu bileşenler; solanesol, *trans*-resveratrol, violasterol A, 6-*O*-caffeoyl- β -*D*-fruktofuranosil- (2-1) - *a*-*D*-glukopiranosid ve 5-*O*-caffeoylshikimik asit'tir. Ayrıca violasterol A ve *trans*-resveratrol bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyal aktivitede olduğu; solanesol ve violasterol A bileşiklerinin ise meme kanseri için umut verici inhibisyon etkisine sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Özsoy ve arkadaşları [111], Temmuz ayında İstanbul'dan topladıkları *Smilax excelsa* yaprak ve sürgünlerini, oda sıcaklığında kurutup kaynar su ile ekstrakte etmişlerdir. Karbon tetraklorür (CCl₄) tarafından oluşturulmuş böbrek hasarı üzerine etkisi ve antioksidan savunma sistemindeki değişikliklerini incelemişlerdir. Çalışmada *S. excelsa*'nın sıçanları böbrek dokusu hasarından, protein ve lipit oksidasyon inhibisyonu ve antioksidan enzim aktivitelerini artırarak koruduğu sonucuna varmışlardır.

Özen [112] tarafından yürütülen bir çalışmada, Giresun'da yaygın olarak tüketilen, içlerinde *Smilax excelsa*'nın da bulunduğu 11 bitki etanol-su karışımı ile ekstrakte edilmiştir. *Smilax excelsa*'ya ait sonuçlar: ekstraksiyon verimi 20.8 ham ekstrakt/kuru bitki; flavonoid miktarı 12.6 mg kuersetin/g kuru ağırlık; antosiyanin miktarı ise 2.5 mg siyanidin-3-glikozit/g kuru ağırlık; TFM miktarı 49.9 mg pirokateşol/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Çalışmada, bitkilerin biyoaktif polifenol kaynağı olarak kullanılabilmesi, yüksek konsantrasyonlarda TFM miktarına sahip olduğu, flavonoidler ve antosiyaninlerin yanı sıra yüksek antioksidan aktiviteleri nedeniyle gıda takviyesi olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Miser-Salihoğlu ve arkadaşları [113] tarafından Düzce ve çevresinde yetişen ve halk ilacı olarak kullanılan bazı bitkilerin antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada; *Smilax excelsa*, *Laurocerasus officinalis*, *Urtica dioica*, *Equisetum telmateia*, *Mespilus germanica* türlerinin TAK değeri üzerine çalışılmıştır. Ayrıca bitkilerin TFM miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile ölçülmüştür. Deneyler sonucunda; *S. excelsa* kök ve filizlerinin metanol, etanol ve sulu ekstraktlarının en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmış ve *S. excelsa*'nın TFM miktarı 645.38 µg GAE/mL olarak bulunmuştur.

Dehghan ve arkadaşları [114], *Smilax excelsa*'yı n-hekzan, etil asetat ve metanol ile ekstrakte etmişlerdir. *Smilax excelsa* köklerinin metanolle ekstraksiyonu sonucunda %41.7; n-hekzan ile ekstraksiyonu sonucunda %43.7; etil asetat ile ekstraksiyonu sonucunda ise %68.3 TAK değerine sahip olduğunu DPPH yöntemiyle tespit ederken TFM miktarlarını sırasıyla 226.7, 7.1 ve 134.1 mg GAE/g kuru madde olarak tespit

etmişlerdir. *Smilax excelsa* yapraklarının metanolle ekstraksiyonu sonucunda %47.1; n-hekzan ile ekstraksiyonu sonucunda %22.1; etil asetat ile ekstraksiyonu sonucunda ise %2.4 TAK değerine sahip olduğunu DPPH yöntemiyle tespit ederek ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yaprakların TFM miktarlarını sırasıyla 239, 19.3 ve 97.9 mg GAE/g kuru madde olarak tespit etmişlerdir.

Yıldız ve arkadaşları [104], Hatay florasında doğal dağılım gösteren, farklı lokasyonlardaki *Smilax excelsa* ve *Smilax aspera* yaprak ve meyvelerinin; fenolik ve morfolojik özelliklerini, antioksidan kapasitesi ve sabit yağ içeriklerini incelemişlerdir. Yaprak ve meyvelerin antioksidan kapasitesi değerlendirildiğinde, tür ve lokasyonlar arasında istatistiki olarak önemli bir farklılık görülmemiştir. Yaprakların antioksidan kapasiteleri 62.28 ile 64.57 mmol.Fe⁺²/kg arasında değişirken meyvelerin antioksidan kapasitelerinin 63.91 ile 66.31 mmol.Fe⁺²/kg arasında değişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışmada, *Smilax* türlerinin yaprak ve meyvelerinin doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirileceği sonucu çıkarılmıştır.

Yeşilada ve arkadaşları [100] araştırmasında, Karadeniz Bölgesi'nde doğal olarak yetişen birçok bitkinin, bölge halkı tarafından geleneksel kullanım alanlarını incelemişlerdir. Çalışmada melocan (*Smilax excelsa*), kaldirik (*Trachystemon orientale*), böğürtlen (*Rubus sanctus*) ve ısırgan (*Urtica dioica*) köklerinin karışımı ile hazırlanmış çayın; meme kanseri, mide ağrısı ve şişkinliği gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanıldığı tespit edilmiştir.

Efe [115] tarafından gerçekleştirilmiş bir çalışmada; *Smilax excelsa* meyvesinden elde edilmiş ekstraktın antioksidan, antimikrobiyal ve antimutajenik etkinlikleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *Smilax excelsa* meyve ekstraktının test edilen mikroorganizma suşlarına karşı inhibisyon zonu oluşturduğunu gözlemlenmiştir. 200 mg/mL konsantrasyonlu meyve ekstraktının 0.7985 mg kuersetin eşdeğeri/100 mL flavanoid içeriğine, 11.9847 mg GAE/100 mL fenolik içeriğine, %55 TAK değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Şahin [106] tarafından yapılan çalışmada *Smilax excelsa* bitkisinin farklı kısımları, üç geleneksel, ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarında TFM miktarı sırasıyla; 55.98; 55.25 ve 37.13 mg GAE/g kuru ağırlık olarak, ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda sırasıyla 57.30; 57.12 ve 38.12 mg GAE/g kuru ağırlık, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda ise sırasıyla 67.27; 66.23 ve 50.35 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarının TAK değerleri sırasıyla, 69.12; 67.62 ve 39.18 mg troloks eşdeğeri (TE)/g kuru ağırlık; ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda sırasıyla 67.01; 80.69 ve 40.10 mg TE/g kuru ağırlık, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda ise sırasıyla 83.82; 76.02 ve 53.90 mg TE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarında KA miktarı sırasıyla 18.71; 5.70 ve 2.72 mg/g kuru ağırlık olarak, ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda sırasıyla 18.61; 5.90 ve 18.29 mg/g kuru ağırlık olarak, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda ise sırasıyla 5.41; 3.96 ve 3.26 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur.

2.5. Bitkisel Ekstraktların Köftede Kullanımı

Özdemir [116] tarafından yürütülen bir çalışmada, buzdolabı koşullarında depolanan köftelerin nar antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri üzerine nar kabuğu ekstraktının etkisi incelenmiştir. Nar kabukları, destile su kullanılarak geleneksel yöntemle ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstrakt köfte bileşimine %0.1, %0.2 ve %0.3 konsantrasyonlarda eklenmiştir. Ekstraktlı köfte grupları, %0.01 BHT içeren ve bileşiminde hiçbir antioksidan barındırmayan kontrol grup ile karşılaştırılmıştır. Duyusal ve mikrobiyolojik özellikleri bakımından kontrol grupta depolamanın 3. gününde üst limiti aşarken; ekstraktlı gruplarda raf ömrü 5. güne kadar uzandığı ileri sürülmüştür. Ayrıca, köftelere ilave edilen ekstraktın konsantrasyonu arttıkça lipid oksidasyonunun önemli düzeyde önlendiği ve ekstraktın BHT'den daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Balıkçı [117] tarafından yürütülen bir çalışmada, kekik (*Thymbra spicata*), fesleğen (*Ocimum basilicum*) ve biberiyeden (*Rosmarinus officinalis*) geleneksel yöntemle üretilen ekstraktların %0.05 konsantrasyonunda uskumru köftesine ilave edilmiştir. Üretilen köfteler -18 °C'de dondurularak ve +4 °C'de buzdolabında vakum ambalajlı depolanmıştır. Depolama boyunca; bitkisel ekstraktların köfteye ilave edilmesinin kalite üzerindeki etkileri incelenmiştir. Dondurarak depolanmış çiğ uskumru köftelerinde raf ömrü kontrol grup ve fesleğen ekstraktı eklenmiş gruplar için 8 ay; kekik ve biberiye ekstraktı ilave edilmiş gruplar için ise 10 ay olarak belirtilmiştir. Soğukta depolama sonucunda çiğ ve pişmiş kontrol ve fesleğen ekstraktı eklenmiş gruplar için 25 gün; kekik ve biberiye ekstraktı eklenmiş gruplar için ise 28 günlük raf ömrü tespit edilmiştir.

Kim ve arkadaşları [9], fenolik maddece zengin yapraklı sebzelerin antioksidan ve antibakteriyal etkisini inceledikleri bir çalışmada; geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemi ile (%70 etanol) ekstrakte etmişlerdir. Chamnamul (*Pimpinella brachycarpa*) ve fatsia (*Aralia elata*) ekstraktlarının olağanüstü antioksidan ve antimikrobiyal özellikler sergilediğini gözlemlemişlerdir. Elde edilen ekstraktlar ve pozitif kontrol olarak BHT, %0.1 and %0.5 (w/w) konsantrasyonlarda sığır eti köftelerine ilave edilmiş, 4 °C'de 12 gün depolanmıştır. Bitkisel ekstrakt ve BHT ilave edilmesinin, lipid oksidasyonunu geciktirdiği, sığır eti köftesinin mikroorganizma sayısında konsantrasyona bağlı olarak azalmaya ve renk stabilitesinde artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada; özellikle fatsia olmak üzere, yeşil yapraklı sebze ekstraktlarının, et ürünleri için doğal koruyucu olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaya [118] tarafından bir çalışmada; yaban mersini ekstraktının aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) etinden yapılan balık köftelerine %1 ve %2 oranında ilavesi ve hazırlanan köftelerin 4°C'de depolama süresince duyusal, mikrobiyolojik ve kimyasal değişimleri incelenmiştir. Balık köftelerinin raf ömrünün kontrol köfte grubunda 9 gün, %1 ve %2 oranında yaban mersini ekstraktı ilaveli gruplarda 12 gün olarak belirlendiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, balık köftelerine ilave edilen yaban mersini ekstraktlarının raf ömrü üzerinde olumlu etki gösterdiği kanaatine varılmıştır.

Işıklı [119] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada; maviyemiş ekstraktının soğukta ve dondurularak depolanan köfte etlerde antioksidan ve antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Maviyemiş ekstraktının TFM miktarının 22.92 mg GAE/g kuru ağırlık olarak; TAK değerinin ise 3048.4 mM TE/g ekstrakt olarak bulunduğu bildirilmiştir. Maviyemiş ekstraktın köfte formülasyonuna %0.5 ve %1 düzeylerinde ilave edilmiştir. Soğukta depolanan köftelerin kalite parametreleri %0.01 BHT içeren ve hiçbir antioksidan kaynağı içermeyen kontrol gruplar ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda maviyemiş ekstraktının *Escherichia coli O157*, *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis* ve *Pseudomonas Fluorescens*'e karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği; *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, ve bazı laktik asit bakterilerine karşı etki göstermediği; TMAB, toplam aerobik psikrofilik bakteri ve Enterobacteriaceae sayılarını önemli düzeyde baskıladığı gözlemlenmiştir. Köftelerde birincil oksidasyon ürünü olan peroksitlerin oluşumu %0.01 BHT ilaveli, %0.5 maviyemiş ekstraktı ilaveli ve %1 maviyemiş ekstraktı ilaveli köfte gruplarında aynı düzeyde gecikirken; ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunun en iyi önlendiği köfte grubu BHT ilaveli grup olduğu bildirilmiştir. Ekstrakt ilavesinin ransit koku oluşumunu geciktirdiği de gözlemlenmiştir.

Tirali Çelik [120] tarafından yürütülen bir çalışmada; %0.5; %1; %1.5 ve %2 oranlarında enginar yaprağı ekstraktı, sardalya balığından üretilen kadınbudu köftelere ilave edilmiş ve ekstrakt içermeyen kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Çalışmada; yüksek düzeyde fenolik madde içerdiği bilinen enginar yaprağı ekstraktının bazı mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkisinin olduğu ve ekstrakt konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyel etkinin arttığı bildirilmiştir. Ekstrakt ilave edilen örneklerin TBARs sonuçlarının kontrol gruptan daha düşük bulunduğu ve kontrol grubun %2 oranında ekstrakt ilave edilmiş köfte grubuna kıyasla 6 gün daha az raf ömrüne sahip olduğu bildirilmiştir. Raf ömrünü arttırması ve duyusal parametrelere olan katkısı nedeniyle %1.5 oranında enginar yaprağı ekstraktının gıda katkısı olarak kullanılma potansiyelinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Özen [121] tarafından gerçekleştirilen çalışmada çiğ Tekirdağ köftesinin antimikrobiyal özellikleri üzerine biberiye, kekik, limon ve sarımsak ekstraktlarının etkisi araştırılmıştır. Buzdolabı koşullarında depolanan köftelere %0.1 oranında ekstrakt ilavesinin mikrobiyal gelişimi yavaşlattığı bildirilmiştir.

Özvural ve Vural [122] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada sosislerde üzüm çekirdeği ekstraktının kullanımı incelenmiştir. Sosisler, üzüm çekirdeğinden elde edilmiş ekstraktın farklı konsantrasyonlarda (%0.01, %0.03, %0.05, %0.1, %0.3, %0.5) eklenmesiyle üretilmiş ve ekstrakt eklenmeyen kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Kontrol grubu sosislerde 90 gün soğukta depolama sonucunda TBARs miktarı 0.71 mg malonaldehit (MA)/kg örnek olarak bulunmuştur. Belirtilen konsantrasyonlarda ekstrakt ilave edilmiş örneklerde sırası ile 0.64; 0.63; 0.59; 0.59; 0.60 ve 0.58 mg MA/kg örnek olarak bulunmuştur. TBARs miktarındaki azalmanın üzüm çekirdeğinin yüksek antioksidan içeriği nedeniyle olduğu ileri sürülmektedir.

Nowak ve arkadaşları [123] tarafından yürütülen bir çalışmada kiraz ve frenk üzümü yapraklarından elde edilen ekstraktların domuz sosisinde doğal antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılma olasılığı incelenmiştir. Kiraz yaprağı ekstraktının TFM miktarı, frenk üzümü yaprağı ekstraktının TFM miktarından 1.5 kat daha yüksek bulunmuştur. Ekstrakt ilavesinin 14 ve 28 günlük soğukta depolanması sonucunda; sosislerin lipid oksidasyonunu önlemede etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca vişne yaprağı ekstraktının sosislerin mikrobiyolojik özelliklerini iyileştirdiği bildirilmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Mevcut çalışma, en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi ve en uygun koşullarda üretilmiş melocan ekstraktının sığır eti köftesinin bazı özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi olmak üzere iki basamaktan oluşmaktadır.

3.1. En Uygun Ekstraksiyon Koşulunun Seçilmesi

3.1.1. Materyal

Ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için gerçekleştirilecek ekstraksiyonlarda kullanılacak olan melocan (*Smilax excelsa* L.) meyvesi 2018 yılı Ekim ayında, filiz ve yaprakları ise 2018 yılı Mayıs ayında Tokat-Niksar ve Ordu-Ünye'den temin edilmiştir. Yaprak, meyve ve filiz oda sıcaklığında kurutulmuş, kurutulan örnekler ambalajlanarak deney yapılına kadar muhafaza edilmiştir. Örnekler ekstraksiyonda kullanılmadan önce öğütülerek, 2 mm'lik elekten geçirilmiş ve elek altındaki kısım ekstraksiyonda kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.1.1. Melocan Kısımlarının (Filiz, Meyve, Yaprak) Süperkritik Karbondioksit Ekstraktörü ile Ekstraksiyonu

Melocanın farklı kısımları, süperkritik karbondioksit ekstraktörü (SFE-100-2-FMC10, Thar Instruments, PA, USA) kullanılarak, iki farklı basınç (250 ve 350 bar), iki farklı ko-solvent konsantrasyonu (%10 ve %20'lik etanol); ve iki farklı sıcaklık (30 °C ve 50 °C) ve iki farklı sürede (60 ve 90 dk) ekstrakte edilmiştir. Kurutulup öğütülmüş örnekler 20 g tartılıp ekstraktöre yerleştirilerek ve CO₂ akış hızı 5 g/dk'da sabit tutularak ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Analiz Yöntemleri

3.1.2.1. Melocan Kısımlarının Nem Miktarı

Melocan kısımlarının nem içeriği gravimetrik olarak belirlenmiştir [124].

3.1.2.2. Melocan Kısımlarının Kül Miktarı

Melocan kısımlarının kül içeriği gravimetrik olarak belirlenmiştir [124].

3.1.2.3. Ekstraktların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı

Ekstraktların TFM miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir [125]. 0.5 mL etanol ile 5 kat seyreltilmiş ekstrakt kapaklı cam tüplere alınmış, üzerine 2.5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi (suda hazırlanmış) eklenmiş ve 5 saniye (sn) vorteks ile karıştırılmıştır. Beş dk karanlıkta bekletildikten sonra 2 mL %7.5'lük sodyum karbonat çözeltisi (Na_2CO_3 , suda hazırlanmış) eklenmiştir. 5 saniye vorteksle karıştırılmasının ardından, oda sıcaklığında bir saat dolana kadar karanlıkta bekletilmiştir. Şahit numune olarak 2.5 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 mL Na_2CO_3 çözeltisi karıştırılmış, örneklerle aynı koşullarda bekletilmiştir. Süre sonunda, 760 nm'de UV/Vis spektrofotometre (G10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific) ile absorbans ölçülmüştür. Ekstraktların TFM miktarı gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılarak kuru yaprak üzerinden gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g kuru yaprak) olarak hesaplanmıştır ($y=0.0096x-0.052$, $R^2=0.9957$) (Ek-1, Şekil-1).

3.1.2.4. Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Ekstraktların TAK değerleri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile ölçülmüştür [126]. 0.1 mL metanol ile 20 kat seyreltilmiş ekstrakt kapaklı cam tüplere alınmış, üzerine 3.9 mL 25 ppm DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. 5 sn vortexlendikten sonra oda sıcaklığında bir saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 517 nm'de UV/Vis spektrofotometre (G10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific) ile absorbans ölçülmüştür. Ölçümlerde şahit olarak saf metanol kullanılmıştır. DPPH çözeltisinin başlangıç anındaki absorbansını ölçmek için 0.1 mL saf metanol cam kapaklı tüpe alınmış ve 3.9 mL 25 ppm DPPH çözeltisi ile karıştırılmış, 5 sn vortexlendikten sonra 517 nm'de köre karşı absorbansı ölçülmüştür. Ekstraktların TAK değerleri troloks standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılarak, kuru yaprak ağırlığı üzerinden troloks eşdeğeri (mg TE/g kuru yaprak) olarak hesaplanmıştır ($y=0.0019x+0.0116$, $R^2=0.9903$) (Ek-1, Şekil-2).

3.1.2.5. Ekstraktların Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi'nde (HPLC) Tanımlanması

Ekstraktlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizleri Agilent 1100 Series HPLC ve VW dedektör (Agilent 1100 series) kullanılarak gerçekleştirilmiştir [127]. Fenolik bileşiklerin ayrılma işlemi Brisa LC2, C18 (250 x 4.6 mm x5 µm) (Teknokroma, Barcelona, Spain) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. A fazı (asetonitril) ve B fazı (su ve %0.1 asetik asit, v/v) olmak üzere ikili mobil faz sistemi kullanılmıştır. İkili gradient faz; başlangıçta %90 B, 25. dk'da lineer akışla %40 B, 26. dk'da %20 B, 30. dk'da %20 B, 35. dk'da %90 B ve 5 dk daha %90 B başlangıç koşulunda tutularak toplamda 40 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C, akış hızı 0.5 mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL ve kromatogramların kaydedildiği dalga boyu 291 nm'dir.

-18 °C'de depolanan melocan ekstraktları oda sıcaklığına getirildikten sonra berrak kısmı kullanılmak üzere 10000 rpm ve 25 °C'de 10 dk boyunca santrifüjlenmiştir (Sigma 3-30K). Berrak kısım 2 kat seyreltilerek amber viallere alınmış ve HPLC'ye enjekte edilmiştir. HPLC saflıkta standart maddeler kullanılarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak ekstraktlarda tespit edilen fenolik bileşiklerin kantitatif analizi yapılmıştır. Tanımlamada standart madde olarak gallik asit, klorojenik asit (KA), kaempferol, epikateşin, kuersetin, kaempferol-7-o-β-D-glukopiranozit, resveratrol ve izoramnetin kullanılmış fakat ekstraktlarda yalnızca KA varlığı ve miktarı tespit edilmiştir (Ek-1, Şekil-3).

3.2. Seçilmiş Koşullarda Üretilmiş Melocan Yaprağı Ekstraktının Sığır Eti Köftesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

3.2.1. Materyal

3.2.1.1. Seçilmiş Koşullarda Melocan Yaprağı Ekstraktı Eldesi

Köfte bileşimine dahil edilen melocan yaprağı (*Smilax excelsa* L.) ekstraktı için gerekli melocan yaprakları; Tokat-Niksar ve Ordu-Ünye'den, 2019 ve 2020 yılı Haziran-Temmuz aylarında toplanmıştır. Toplanan ve dikenli gövdesinden ayrılan melocan yaprakları, oda sıcaklığında 7 gün %6.82±0.04 nem içeriğine kadar kurutulmuştur.

Kurutulan örnekler ekstraksiyon süresine kadar plastik torbalarda oda sıcaklığında depolanmıştır. Melocan yaprakları ekstraksiyonda kullanılmadan önce öğütülerek, 2 mm'lik elekten geçirilmiş ve elek altındaki kısım ekstraksiyonda kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Melocan yapraklarının, süperkritik karbondioksit ekstraktörü (SFE-100-2-FMC10, Thar Instruments, PA, USA) kullanılarak, en uygun koşullar olarak belirlenen 350 bar basınç ve 50 °C'de Sc-CO₂'in %20 etanol ile modifiye edilmesi ile 90 dk seri ekstraksiyonları yapılmıştır. Kullanılan ekstraktöre ait görsel Şekil 3.1.'de verilmiştir. Bu amaçla kurutulup öğütülmüş melocan yaprakları 20 g olacak şekilde ekstraktöre yerleştirilmiş, ekstraksiyon boyunca karbondioksit akış hızı 5 g/dk olacak şekilde sabit tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlar, köfte üretiminde kullanılabilecek -18 °C'de depolanmıştır. Ekstrakt, rotary evaporatörde (Buchi Rotavapor R-210) 45 °C ve 80 mbar basınçta etanolü uzaklaştırıldıktan sonra köfte üretiminde kullanılmıştır. Ekstraktan etanolün uzaklaştırılması işlemine ait görsel Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Süperkritik karbondioksit ekstraktörü



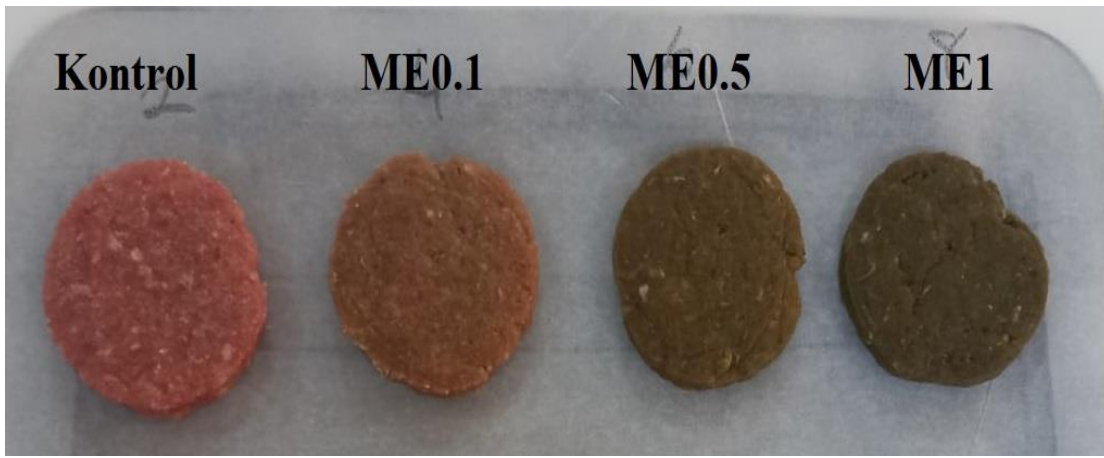
Şekil 3.2. Melocan ekstraktından etanolün uçurulması

3.2.1.2. Köfte Üretimi

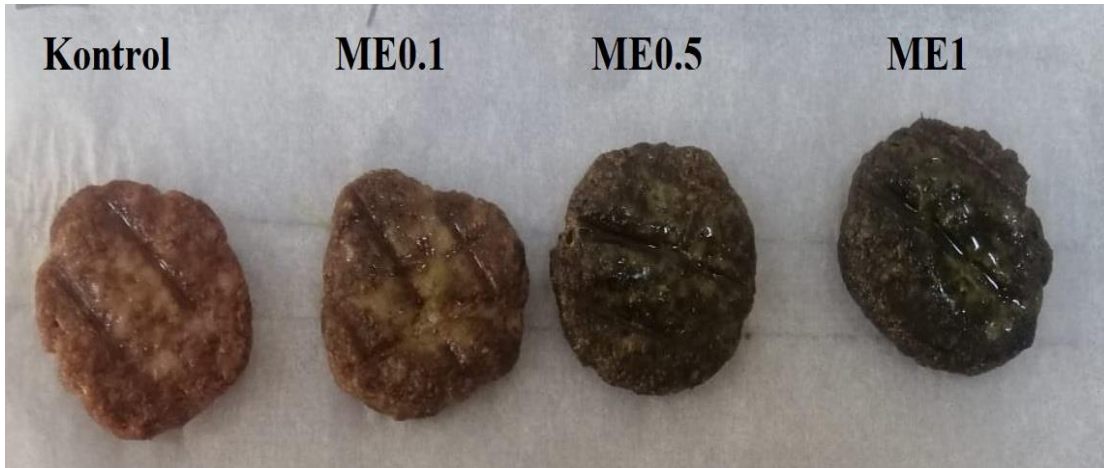
Çalışma kapsamında kullanılan dana eti ve yağı yerel kasaptan temin edilmiştir. Hayvanın kesiminden 24 saat sonra karkasından alınmış ve laboratuvara getirilmiştir. Et ve yağ materyali 3 mm'lik aynadan çekilerek köfte üretiminde kullanılmıştır. Köfte üretiminde kullanılan diğer bileşenler olan galeta unu (Bağdat), tuz (Billur Tuz) ve su (Abant) yerel marketlerden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere dört grup köfte üretilmiştir. Üretilen köfte gruplarının çiğ ve pişmiş haldeki görüntüsü Şekil 3.3.'te verilmiştir. Dört grubun da köfte formülasyonu %87.8 dana kıyma (%20 yağlı), %6 galeta unu, %1.2 tuz ve %1 sudan oluşmaktadır. Grublardan birine ekstrakt ilave edilmeden yoğrulmuş ve kontrol grup olarak kullanılmıştır. Diğer üç gruba hamur ağırlığının %0.1'i (ME0.1); %0.5'i (ME0.5) ve %1 (ME1)'i olacak şekilde ekstrakt ilave edilerek yoğrulmuştur. Köfte bileşimi detaylı bir şekilde Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Her grup 20 ± 0.5 g ağırlığında tartılmış, köfte presi ile yuvarlak (6 cm çap) şekillendirilerek plastik kaplara yerleştirilmiş ve $+4 \pm 1$ °C'de depolanmıştır.

Çizelge 3.1. Köfte formülasyonu

Bileşen	Kontrol	ME0.1	ME0.5	ME1
Kıyma (%20 yağlı)	%87.8	%87.8	%87.8	%87.8
Galet Unu	%6	%6	%6	%6
Tuz	%1.2	%1.2	%1.2	%1.2
Su	%5	%5	%5	%5
Ekstrakt	-	%0.1	%0.5	%1



(a)



(b)

Şekil 3.3. Üretilen köftelerin çiğ (a) ve pişmiş (b) görüntüsü

3.2.2. Analiz Yöntemleri

3.2.2.1. Ekstraktta Yapılan Analizler

3.2.2.1.1. Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı

Ekstraktların TFM miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle bazı modifikasyonlar yapılarak 3.1.2.3.'teki gibi belirlenmiştir [125]. Bu amaçla ekstrakt saf etanol ile 20 kat seyreltilmiştir. Ekstraktların TFM miktarı gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılarak kuru yaprak üzerinden gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g kuru yaprak) olarak hesaplanmıştır ($y=0.0093x-0.0205$ ve, $R^2=0.9997$) (Ek-1, Şekil-4).

3.2.2.1.2. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Ekstraktların TAK değerleri DPPH yöntemi ile 3.1.2.4.'teki gibi ölçülmüştür [126]. Bu amaçla ekstrakt saf metanol ile 20 kat seyreltilmiştir. Ekstraktların TAK değerleri troloks standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılarak, kuru yaprak ağırlığı üzerinden troloks eşdeğeri (mg TE/g kuru yaprak) olarak hesaplanmıştır ($y=0.0024x+0.005$, $R^2=0.9993$) (Ek-1, Şekil-5).

3.2.2.2. Köftede Yapılan Analizler

3.2.2.2.1. Nem Miktarı

105°C'de 24 saat bekletilerek sabit tartıma getirilen ve darası alınan petrilere 5 g civarında homojen köfte örneğinden tartılmıştır. Örnek sabit ağırlığa ulaşınca kadar 105°C'de etüvde (Nüve FN 120) nemi uçurulmuş ve tartımlar arası farktan örnekteğin nem içeriği, % olarak hesaplanmıştır [128].

3.2.2.2.2. Kül Miktarı

550 °C'de kül fırınında (Nüve MF 120) 24 saat bekletilerek sabit tartıma getirilmiş ve darası alınmış porselen krozelere 3 g civarında homojen köfte örneğinden tartılmıştır. Örnekler önce 105 °C'de etüvde 2 saat kurutulmuş, ardından 550 °C'de gri-beyaz kül rengi oluşana dek yakılmıştır. Porselen krozeler soğutulduktan sonra tartılmış ve ağırlık farkından örneklerin % kül içeriği hesaplanmıştır [128].

3.2.2.2.3. Yağ Miktarı Analizi

Köftelerin yağ miktarları Soxhelet ekstraksiyon yöntemi ile gravimetrik olarak belirlenmiştir [128].

3.2.2.2.4. Protein Miktarı

Köfte örneklerinin protein içeriğinin belirlenmesi için Kjeldahl metodu kullanılmıştır. Yaklaşık 1 g köfte örneği tartılmış, katalizör karışımı ve derişik sülfirik asitle yakılması suretiyle öncelikle örneklerin %azot miktarları, ardından 6.25 faktörü ile çarpılarak protein miktarları % olarak hesaplanmıştır [128].

3.2.2.2.5. pH Değeri

Homojen köfte örneğinden 10 g tartılmış, üzerine 100 mL saf su ilave edilmiştir. Karışım ultra turrax homojenizatör (JSR, JSHR-270 D) kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Önceden pH 4.0 ve 7.1 tamponları ile kalibre edilmiş, pH metre (Hanna Edge HI2020-01) ile oda sıcaklığında pH değerleri ölçülmüştür [129].

3.2.2.2.6. Pişme Verimi

Köfteler pişme verimlerinin hesaplanabilmesi için, önceden ısıtılmış elektrikli ızgarada (Taner, tnrız1705) merkez sıcaklığı 72 °C'de olana kadar (3 dk ön yüz, 4 dk arka yüz) pişirilmiştir. Pişirilmeden önce ağırlıkları belirlenen köftelerin, pişirilme işleminden sonra 15 dk soğumasını beklemek sureti ile tekrar ağırlıkları belirlenmiştir. Ağırlıkların oranı ile %pişme verimi hesaplanmıştır [130].

3.2.2.2.7. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARs) Miktarı

Köftelerin lipit oksidasyonu düzeyini belirlemek için tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARs) analizi yapılmıştır. Bu amaçla, homojen hale getirilmiş 10 g köfte örneği 30 ml %7.5'luk triklor asetik asit (TCA) çözeltilisi ile ultra turrax homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizat, 4100 rpm'de 5 dk boyunca, +4 °C'de santrifüjlendikten (Nuve NF 800R) sonra Whatman No:40 filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntüden 5 mL vidalı kapaklı test tüplerine aktarılmış ve üzerine 5 mL 0.02 mol/L

derişiminde hazırlanmış TBA (2-thiobarbituric acid) çözeltilisinden ilave edilmiştir. Kör olarak süzüntü yerine saf su kullanılmıştır. Karışım 5 sn vortexlendikten sonra ve 35 dk boyunca 100°C'taki su banyosunda bekletilmiş, ardından soğuk su banyosunda 10 dk hızla soğutulmuştur. Sürenin sonunda UV/Vis spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı okuma yapılmıştır. Örneklerdeki TBARs miktarı, standart olarak 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP) ayıracıyla çizilen kalibrasyon kurvesi yardımı ile mg malondialdehit (MA)/kg et olarak hesaplanmıştır. TEP standardı ile çizilen kalibrasyon kurvesinden elde edilen denklem $y=0.7222x+0.0012$ ve $R^2=1$ olarak bulunmuştur (Ek-1, Şekil-6) [131].

3.2.2.2.8. Renk Analizi

L^* , a^* , b^* renk ölçümü tüm gruplarda porsiyonlanmış köfteler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir tekerrür üç farklı köftenin, beş farklı noktasından ölçüm alınmıştır. Ölçüm, öncesinde kalibre edilmiş (CHN CS 410 Spectrocolorimeter) renk cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Alınan ölçümler neticesinde köftelerin kroma (renk doygunluğu, C) ve ton açısı (h°) değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır [132].

$$\text{Kroma (C)} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

$$\text{Ton açısı (h}^\circ\text{)} = \arctan (b^*/a^a)$$

3.2.2.2.9. Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFM)

Köftelerin TFM miktarlarının belirlenmesi için öncelikle Ergezer ve Serdaroğlu [133]'nun uyguladığı ekstraksiyon metodu modifiye edilerek köfteden fenolik maddeler ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla 0.5 g köfte 2.5 mL saf etanol içerisinde bir gece buzdolabında bekletilmiş, süre sonunda 0.45 µm çaplı filtreden geçirilmiş ve berrak kısım analizde kullanılmıştır. Elde edilen ekstrakta Folin-Ciocalteu metodu ile 3.1.2.3.'teki gibi TFM tayini yapılmıştır. Köftelerin TFM miktarı gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılarak, mg GAE/kg köfte olarak hesaplanmıştır ($y=0.0093x-0.0205$ ve, $R^2=0.9997$) (Ek-1, Şekil-4).

3.2.2.2.10. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Köftelerin TAK değerleri Ergezer ve Serdaroğlu [133]'nun uyguladığı ekstraksiyon metoduna bazı modifikasyonlar uygulanarak tespit edilmiştir. Bunun için 0.5 g köfte 2.5 mL saf metanol içerisinde bir gece buzdolabında bekletilmiş, süre sonunda 0.45 µm çaplı filtreden geçirilmiş ve berrak kısım analizde kullanılmıştır. Elde edilen ekstrakta DPPH yöntemi ile 3.1.2.4.'teki gibi TAK tayini yapılmıştır. Sonuçlar mg TE/kg köfte ve % inhibisyon değeri olarak verilmiştir. Sonuçların mg TE/kg köfte olarak verilmesi için troloks standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi kullanılmıştır ($y=0.0024x+0.005$, $R^2=0.9993$) (Ek-1, Şekil-5). Köftelerin % inhibisyon değeri ise $(ABS_{DPPH}-ABS_{Örnek})/ABS_{DPPH} * 100$ formülü ile hesaplanmıştır [134].

3.2.2.2.11. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı

10 g köfte steril koşullarda stomacher torbasına tartılmış ve üzerine 90 mL steril %0.85'lik sodyum klorür (NaCl) ilave edilmiştir. Stomacher (Mayo HG 400 VW) kullanılarak 30 sn süreyle homojenize edilmiştir. Seri dilüsyonlar 1:9 oranında steril %0.85'lik NaCl ile hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1 mL örnek alınarak içerisinde plate count agar (PCA) besiyeri bulunan disposable steril petrilere yayma kültürel yöntemle ekim yapılmıştır. Petrilere 37°C'de 48 saat inübasyona bırakılmış ve oluşan koloniler sayılarak, sonuç kob/g olarak verilmiştir [135].

3.2.2.2.12. Toplam Maya-Küf (TMK) Sayımı

10 g köfteden 3.2.2.2.11.'de belirtildiği gibi dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1 mL örnek alınarak içerisinde potato dextrose agar (PDA) besiyeri bulunan disposable steril petrilere yayma kültürel yöntemle ekim yapılmıştır. Petrilere 28 °C'de 4-5 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan koloniler sayılarak, sonuç kob/g olarak verilmiştir [135].

3.2.2.2.13. Duyusal Analiz

Farklı ekstrakt konsantrasyonları ile hazırlanmış köftelerden her üretim gününde duyusal analizler yapılmıştır. Her bir duyusal panel oturumunda önceden eğitim verilmiş 8 panelist görev almıştır. Duyusal analizde tadıma sunulacak olan köfteler elektrikli

ızgarada merkez sıcaklığı 72 °C olana kadar pişirilmiştir. Panelistler köfteleri; görünüş, renk, koku, lezzet, yapı/tekstür ve genel beğeni açısından 9'lu hedonik skala kullanılarak değerlendirmişlerdir [136]. Köftelerin duyuşal değeriendirilmesinde kullanılan form Ek-1'de verilmiştir.

3.2.2.2.14. İstatistiksel Analiz

Deneme 3 tekerrürlü yürütülmüş ve sonuçlar ortalama±standart hata olacak şekilde verilmiştir. Gruplar ve günler arasında incelenen özellikler bakımından fark olup olmadığı iki yönlü varyans analizi (two way ANOVA) testi kullanılarak belirlenmiş ve farklılık ($\alpha=0.05$) Tukey's çoklu karşılaştırma testi kullanılarak ölçülmüştür. İstatistik analizler MİNİTAB 21 istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. En Uygun Ekstraksiyon Koşulunun Seçilmesi

4.1.1. Melocan Kısımlarının Kuru Madde ve Kül Miktarları

Melocan yaprağı kurutulduktan sonra 93.1 ± 0.19 kuru madde ve 6.68 ± 0.04 kül, filiz kısmı kurutulduktan sonra 93.8 ± 0.01 kuru madde ve 7.85 ± 0.04 kül, melocan meyvesi ise kurutulduktan sonra 94.5 ± 0.07 kuru madde ve 4.36 ± 0.03 kül içeriğine sahiptir.

4.1.2. Ekstraktların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı, Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK) ve Toplam Klorojenik Asit Miktarı (TKM)

Çizelge 4.1.'de farklı koşullarda süperkritik karbondioksit ile elde edilmiş melocan ekstraksiyonlarının TFM, TAK ve TKM değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Melocanın farklı kısımlarının TFM, TAK ve TKM değerleri

Kod	Kısım	P (bar)	T (°C)	t (dk)	Etanol (%)	TFM (mg GAE/kg kuru örnek)	TAK (mg TE/kg kuru örnek)	TKM (mg KA/kg kuru örnek)
F01	Filiz	250	30	60	10	229.37±9.65	782.9±15.0	7.13
F02	Filiz	250	30	90	10	380.4±17.80	727.5±22.5	13.38
F03	Filiz	250	30	60	20	238.89±4.43	1724.6±29.8	15.96
F04	Filiz	250	30	90	20	522.31±8.90	1901.4±45.0	26.95
F05	Filiz	250	50	60	10	256.66±0.74	910.2±15.0	7.09
F06	Filiz	250	50	90	10	367.81±13.34	1235.8±22.5	10.75
F07	Filiz	250	50	60	20	445.6±28.20	1817.9±30.0	15.36
F08	Filiz	250	50	90	20	490.1±17.90	2550.0±45.2	14.10
F09	Filiz	350	30	60	10	281.9±28.90	464.6±15.0	7.05
F10	Filiz	350	30	90	10	333.2±33.30	521.0±44.9	8.52
F11	Filiz	350	30	60	20	435.07±4.45	822.1±59.9	30.63
F12	Filiz	350	30	90	20	657.74±4.47	1016.2±45.2	46.29
F13	Filiz	350	50	60	10	464.00±28.20	485.8±105.0	10.88
F14	Filiz	350	50	90	10	483.30±32.20	600.4±67.4	11.45
F15	Filiz	350	50	60	20	528.91±8.94	847.5±30.1	36.84

Çizelge 4.1.'in devamı

F16	Filiz	350	50	90	20	670.20±8.90	1329.1±45.0	35.17
M01	Meyve	250	30	60	10	317.8±16.20	808.7±89.3	20.38
M02	Meyve	250	30	90	10	454.02±11.03	1069.0±66.9	18.20
M03	Meyve	250	30	60	20	425.57±13.18	1084.0±29.6	7.54
M04	Meyve	250	30	90	20	618.4±22.10	1761.1±44.6	18.48
M05	Meyve	250	50	60	10	385.01±0.74	882.4±14.9	15.71
M06	Meyve	250	50	90	10	872.94±5.52	1037.4±22.3	21.26
M07	Meyve	250	50	60	20	1274.7±13.20	1573.1±59.5	45.31
M08	Meyve	250	50	90	20	1102.5±48.60	2076.7±44.6	48.57
M09	Meyve	350	30	60	10	541.30±8.10	966.6±14.9	20.45
M10	Meyve	350	30	90	10	492.25±9.93	1100.5±22.3	18.89
M11	Meyve	350	30	60	20	671.2±45.6	1383.8±89.2	25.31
M12	Meyve	350	30	90	20	671.5±26.5	1824.2±44.6	28.65
M13	Meyve	350	50	60	10	420.96±4.42	7445.5±29.8	18.49
M14	Meyve	350	50	90	10	726.3±14.30	1258.2±22.3	23.04
M15	Meyve	350	50	60	20	1079.1±22.10	1657.2±59.5	41.84
M16	Meyve	350	50	90	20	1378.9±28.70	2076.7±44.6	43.79
Y01	Yaprak	250	30	60	10	277.6±18.90	217.4±59.6	7.69
Y02	Yaprak	250	30	90	10	534.5±34.70	364.9±45.3	15.68
Y03	Yaprak	250	30	60	20	1068.9±2.99	977.7±30.2	75.05
Y04	Yaprak	250	30	90	20	939.9±15.70	1178.9±90.6	34.90
Y05	Yaprak	250	50	60	10	701.5±42.40	1189.3±41.1	14.04
Y06	Yaprak	250	50	90	10	722.2±44.80	508.9±22.6	11.16
Y07	Yaprak	250	50	60	20	1483.0±14.90	828.3±60.4	70.87
Y08	Yaprak	250	50	90	20	883.60±11.10	1674.8±89.7	57.87
Y09	Yaprak	350	30	60	10	625.6±44.10	810.1±15.01	12.43
Y10	Yaprak	350	30	90	10	648.45±1.11	761.2±22.5	14.43
Y11	Yaprak	350	30	60	20	618.00±11.89	760.4±90.1	44.36
Y12	Yaprak	350	30	90	20	1012.9±51.60	2139.9±90.6	23.56
Y13	Yaprak	350	50	60	10	980.31±12.65	604.1±90.2	15.09
Y14	Yaprak	350	50	90	10	746.9±42.30	777.1±45.0	14.03
Y15	Yaprak	350	50	60	20	985.2±41.40	629.9±89.7	70.58
Y16	Yaprak	350	50	90	20	2265.1±2.24*	2876.7±45.3*	133.76*

Ortalama±standart sapma

Ekstraktların TFM, TAK ve TKM değerleri incelendiğinde; en yüksek içeriğe 350 bar ve 50 °C'de Sc-CO₂ ile %20 etanol varlığında 90 dk ekstrakte edilen melocan yaprağı sahip

olduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmanın ileriki kısmında sığır eti köftesine ilave edilecek bitki kısmı yaprak, Sc-CO₂ ekstraksiyon koşulları ise 350 bar, 50 °C, 90 dk ve %20 etanol olarak belirlenmiştir.

4.2. En Uygun Koşullarda Üretilmiş Melocan Ekstraktının Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı ve Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)

Köfte üretiminde kullanılan ve en uygun koşullarda Sc-CO₂ ekstraksiyon metodu ile elde edilen melocan yaprağı ekstraktının TFM miktarı 2.06±0.06 mg GAE/g kuru yaprak ve TAK değeri 1.75±0.18 mg TE/g kuru yaprak olarak bulunmuştur.

Deghan ve arkadaşları [114], melocan yapraklarını üç farklı çözügen kullanarak çözügen ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte ettikleri çalışmada TFM miktarlarını ve TAK değerlerini tespit etmişlerdir. Etil asetat kullanarak ekstrakte ettikleri melocan yapraklarında TFM miktarını 97.9 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunurken; n-hekzan ve metanol kullanarak ekstrakte ettikleri melocan yapraklarının TFM miktarını sırası ile 19.3 ve 239 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada melocan yapraklarının TAK değeri EC₅₀ (DPPH radikalinin %50'sinin inhibisyonuna neden olan etkin konsantrasyon) değeri olarak belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesini etil asetat, n-hexan ve metanol kullanarak ekstrakte ettikleri melocan yapraklarında sırasıyla %22.4, 22.1 ve 47.1 olarak bulmuşlardır.

Yıldız ve arkadaşları [104], Hatay bölgesinde farklı lokasyonlarda yetişen melocan yapraklarından antioksidan aktivitelerini ferrik demir indirgeme metodu (FRAP) ile ölçmüşlerdir. Farklı lokasyonlardan toplayıp kuruttukları melocan yapraklarında antioksidan kapasitenin 62.28-64.07 mmol.Fe⁺²/kg arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Özsoy ve arkadaşları [137], farklı çözücüler kullanarak uyguladıkları ekstraksiyon işlemi sonucunda melocan yapraklarında antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarı tayini yapmışlardır. Melocan yapraklarının etanollü ekstraktında TFM miktarını 30.1 mg GAE/g kuru ağırlık; antioksidan kapasitesini ise EC₅₀ değeri olarak 1.49 mg/mL olarak belirlemişlerdir.

Salihoğlu ve arkadaşları [113], yapmış oldukları çalışmada melocan yapraklarındaki TFM miktarını incelemişlerdir. İnceleme sonucunda melocan yapraklarındaki TFM miktarını 645,38 μg GAE/mL ekstrakt olarak saptamışlardır.

şahin [106], melocan yapraklarını farklı çözgen ve metotlarla ekstrakte ettiği çalışmasında yaprakların TFM miktarı ve TAK analizleri gerçekleştirmiştir. Analiz sonuçlarına göre; geleneksel ekstraksiyon metodu ile ekstrakte ettiği melocan yaprağında TFM miktarı 55.98 mg GAE/g kuru ağırlık iken; ultrason destekli ekstraksiyonla elde ettiği sonuç 57.30 mg GAE/g kuru ağırlık, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde ettiği sonuç ise 67.27 mg GAE/g kuru ağırlık'tır. Aynı çalışmada geleneksel ekstraksiyon metodu ile ekstrakte ettiği melocan yaprağında TAK değeri 69.12 mg TE/g kuru ağırlık iken; ultrason destekli ekstraksiyonla elde ettiği değer 67.01 mg TE/g kuru ağırlık, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde ettiği değer ise 83.82 mg TE/g kuru ağırlık'tır.

4.3. Köftede Yapılan Analiz Sonuçları

4.3.1. Köftelerin Nem, Yağ, Kül ve Protein Miktarları

Kontrol, ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplarının her tekerrürün üretim gününde gerçekleştirilen nem, yağ, kül ve protein analizi sonuçları izelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Köftelerin %nem, %yağ, %kl ve %protein değerleri

	%Nem	%Kl	%Protein	%Yağ
Kontrol	60.45 \pm 0.90	2.01 \pm 0.07	15.70 \pm 0.60	18.57 \pm 1.30
ME0.1	60.16 \pm 0.66	2.04 \pm 0.07	15.45 \pm 0.56	18.52 \pm 0.59
ME0.5	60.77 \pm 1.05	2.02 \pm 0.08	15.61 \pm 0.52	17.36 \pm 1.71
ME1	60.42 \pm 0.58	1.98 \pm 0.10	15.68 \pm 0.51	17.74 \pm 0.90

Ortalama \pm standart sapma

Çizelgeden görüldüğü gibi, köftelerin nem içeriği %60.16-60.77 arasında değişiklik gösterirken; kl içeriği %1.98-2.04; protein içeriği %15.45-15.70; yağ içeriği ise %17.36-18.57 arasında değişiklik göstermiştir. Farklı grup grupların nem, yağ, kül ve protein içeriklerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Özdemir [116], nar kabuğu ekstraktının köftenin bazı özellikleri üzerine etkisini incelediği çalışmada, farklı köfte gruplarının nem, kül, protein ve yağ içeriklerinin sırası ile %60.23-61.25, %2.21-2.40, %18.21-19.99 ve %11.89-12.95 arasında değiştiğini bulmuştur. Işıkcı [119] ise soğukta ve dondurularak depolanan köftelere maviyemiş ekstraktın etkisini incelediği çalışmada, köftelerin kimyasal bileşimini incelemiştir. Köfte örneklerinde depolama başlangıcında %nem, protein, yağ ve kül miktarlarının sırasıyla %62.09-62.60, %15.45-16.12, %12.44-13.95 ve %2.39-2.87 arasında değişiklik gösterdiğini ileri sürmüştür. Öz [138] ise çalışmada köfte hamuruna 250 ve 500 ppm ısırgan otu ilave ettiği çalışmada köfte gruplarının nem, yağ, protein ve kül değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığını ifade etmiştir.

Nem, protein, yağ ve kül değerlerinin hammaddeden kaynaklandığı, kullanılan ekstrakt veya diğer bileşenlerin bu temel kriterleri çok etkilemediği göz önüne alındığında, köftede kullanılan et ve yağ belirleyici olmaktadır.

4.3.2. pH Değeri

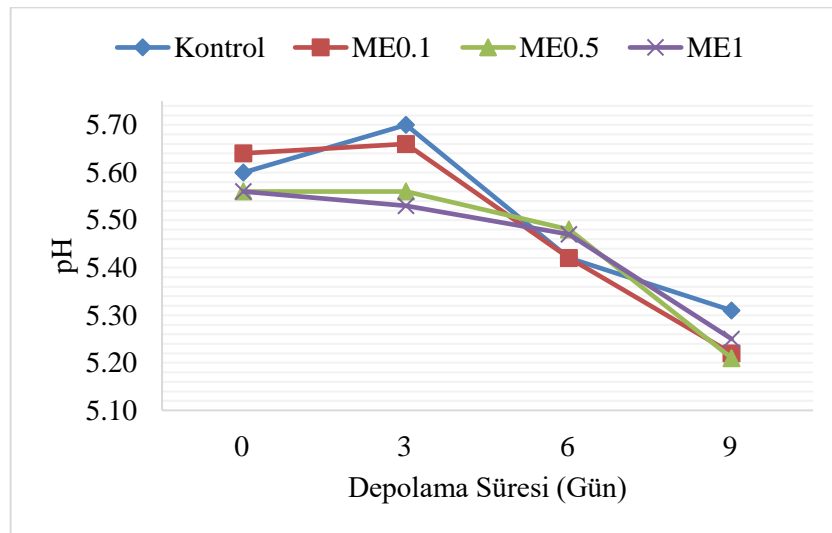
Köftelerin pH değerleri Çizelge 4.3.'te, depolama süresince pH değerlerindeki değişim ise Şekil 4.1.'de verilmiştir. Köfte gruplarının pH değerlerinde her analiz gününde farklılıklar tespit edilmiş fakat bu farklılık istatistiki değerlendirmede önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Depolama başlangıcında 5.56-5.64 aralığında değişiklik gösteren pH değerleri, depolamanın sonunda 5.22-5.31 aralığında düşerek düşüş göstermiştir. Depolama boyunca pH değerindeki bu düşüş istatistiki değerlendirmede anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Ayrıca bu düşüşün düşüşün köftelerde mikrobiyal gelişimden kaynaklığı düşünülmektedir.

Sojic ve arkadaşları [139], Sc-AE yöntemi ile yaban kekiği atığı ekstraktı elde etmişler ve ekstraksiyon parametreleri ile ekstrakt oranının domuz köftesinin bazı kalite parametreleri üzerine etkisi araştırmışlardır. Depolama başlangıcında köfte gruplarının pH değeri 5.65-5.78 arasında değişiklik göstermiş ve 3 günlük depolama sonucunda tüm köfte gruplarının pH değerinde düşüş meydana gelmiştir.

Çizelge 4.3. Köftelerin pH değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	5.60±0.16	5.70±0.10	5.42±0.28	5.31±0.48
ME0.1	5.64±0.11	5.66±0.04	5.42±0.27	5.22±0.37
ME0.5	5.56±0.14	5.56±0.03	5.48±0.13	5.24±0.28
ME1	5.56±0.09	5.53±0.12	5.47±0.06	5.25±0.26

Ortalama±standart sapma



Şekil 4.1. Köftelerin pH değerindeki değişimler

Tombuloğlu [140], farklı yöntemlerle ekstrakte ettiği siyah pirinç ekstraktını %7.5 oranında köftelere eklemiş ve pH değişimlerini incelemiştir. Çalışmada, kontrol grupta pH değerleri, depolama periyodunun 0. 3. ve 6. günü istatistiksel olarak birbirinden farksız bulunurken; 9. gün pH değeri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Sıcak ekstraksiyon yöntemi ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde ettiği siyah pirinç ekstraktı ile üretilmiş grupların 0. 3. 6. ve 9. günü pH değerleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmamıştır. Fakat soğuk ekstraksiyon yöntemiyle elde ettiği siyah pirinç ekstraktı köftelerin pH değerinde günler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Öz [138], ısırgan otu ekstraktının köftenin pH değeri üzerine etkisini incelemiştir. 250 ppm ve 500 ppm ısırgan otu ekstraktı ilave ettiği köftelerde pH değerini 5.83 olarak tespit

etmiş ve kontrol grup ile farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmiştir. Aynı çalışmada depolama boyunca pH değerleri arasında farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu da ifade edilmiştir.

Karpińska-Tymoszczyk [141], çalışmasında kontrol grubu hindi köftesinde pH değerinin 6.38-6.50 arasında değişiklik gösterdiğini belirtirken; biberiye ekstraktı içeren grupta 6.33-6.42 arasında değişiklik gösterdiğini ileri sürmüştür. Kontrol grup ile biberiye ekstraktı içeren grup arasında 0. 3. ve 6. günler istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken; 9 12. ve 15. günler aralarında farklılığın istatistiksel olarak anlamsız bulunduğunu da ifade etmiştir. Kontrol grupta pH değerinin depolama periyodu boyunca düşüş gösterdiği de çalışmadan çıkarılan bir diğer sonuçtur.

Heck ve arkadaşları [142] tarafından yapılan çalışmada, jaboticaba kabuğu ekstraktı mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiş ve sığır eti köftesine ilave edilmiştir. 120 günlük donmuş depolama sırasında çiğ köftelerinin pH değerinin 5.62-5.96 aralığında değiştiği belirtilmiştir. Depolama süresince örneklerin pH değerlerinde istatistiksel olarak önemli olmayan küçük değişimler meydana gelmiştir.

Falowo [143], *Moringa oleifera* L. ve *Bidens pilosa* L. yaprak ekstraktı ile üretilmiş sığır eti köftelerinin pH değerlerinin depolama başlangıcında 5.18-5.37 arasında değiştiğini ileri sürmüştür. Çalışmada, 6 günlük soğukta depolama sonucunda köftelerin pH değerlerinde bir miktar artış meydana geldiği belirtilmiştir. Farklı oranda ilave edilen bu ekstraktlar köftelerin pH değeri üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

4.3.3. Pişme Verimi

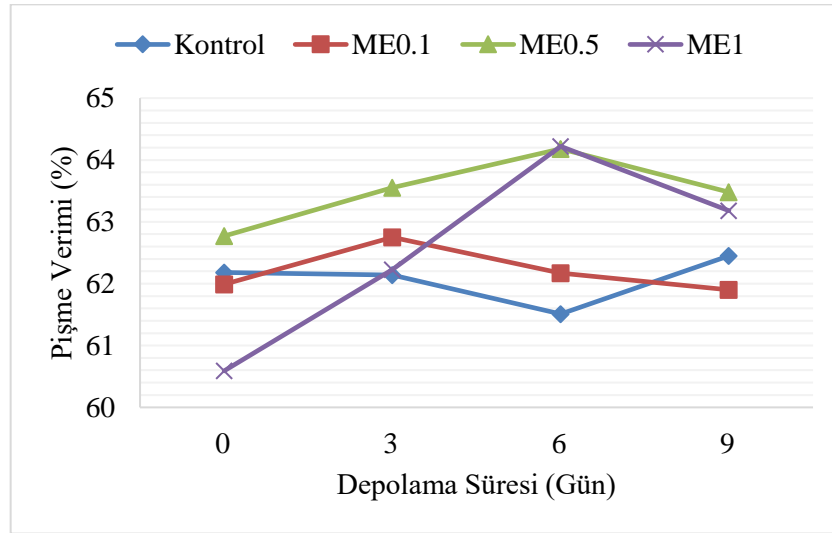
Köftelerin pişme verimi sonuçları Çizelge 4.4.'te, pişme verimlerindeki değişim ise Şekil 4.2.'de verilmiştir. Çalışma kapsamında üretilmiş kontrol grubun pişme verimi depolama süresi boyunca %61.51-62.45 arasında; ME0.1 grubun %61.90-62.75 arasında; ME0.5 grubun %62.77-63.55; ME1 grubun pişme verimi ise %60.59-64.22 arasında değişiklik göstermiştir. Gerek köfte hamurlarına melocan ekstraktı ilavesinin gerekse soğukta

depolamanın pişme verimine etkisi istatistiki değerlendirmede anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.4. Köftelerin pişme verimi (%) değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	62.18±0.79	62.14±4.08	61.51±3.05	62.45±2.36
ME0.1	61.99±1.22	62.75±5.77	62.17±3.13	61.90±2.60
ME0.5	62.77±1.62	63.55±4.63	64.18±3.22	63.48±2.66
ME1	60.59±1.10	62.23±3.54	64.22±2.04	63.18±2.77

Ortalama±standart sapma



Şekil 4.2. Köftelerin pişme verimi (%) değerindeki değişimler

Saba ve arkadaşları [144], su kabağı yaprağı ekstraktının sığır eti köftesinin bazı özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, ekstrakt oranı arttıkça ve depolama süresi boyunca pişme veriminin arttığını ileri sürmüşlerdir. Kontrol grubunun pişme veriminin depolama süresi boyunca %73.27'den %77.68'e artış gösterdiğini belirtirken; %3 ekstrakt içeren grubun %74.05 pişme veriminden %78.02'ye yükseldiğini belirtmişlerdir.

Jahan ve arkadaşları [145], sığır eti köftesine nar ekstraktı ilavesinin pişme kaybı üzerine etkisini incelemişlerdir. Kontrol grubun depolama süresi boyunca pişme kaybı %21-

27.38 arasında değişiklik gösterirken; ekstrakt oranı arttıkça pişme kaybı azalmış, dolayısıyla pişme verimi artış göstermiştir. Köftelerin pişme verimindeki değişim istatistiki değerlendirmede önemli görülmüştür ($p<0.05$). Ayrıca tüm köfte gruplarında depolama süresi boyunca pişme verimi artış göstermiştir.

Yin ve arkadaşları [146], %70 etanolle ve reflux yöntemiyle elde ettikleri biberiye ekstraktının domuz eti köftesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Soğukta depolamanın ilk gününde %93.37 olan kontrol grubun pişme veriminin; depolamanın 7. günü %90.22'ye azalırken, 10. gününde %93.14'e artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer durumun ekstraktlı köfteler için de gözlemlendiği belirtilmiştir. Depolamanın ilk 7 günü pişme verimleri azalmış, 10. günü artış göstermiştir. Depolamanın 1, 4 ve 7. günü en yüksek pişme verimine (%96.03) sahip grup 0.3 g/kg oranında biberiye ekstraktı ilave edilen köfte grubu iken; 10. gün 0.02 g/kg oranında ekstrakt ilave edilmiş köfte grubunun en yüksek pişme verimine (%93.90) sahip olduğu bildirilmiştir.

4.3.4. Tiyoobarbitürik Asit Reaktif Madde (TBARs) Miktarı

Lipid oksidasyonu et ve et ürünlerinde meydana gelen en temel bozulma mekanizmalarından biridir. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin oksijen varlığında oksidatif bozulması olarak tanımlanmaktadır. Lipid oksidasyonunda, ilk olarak birincil bozulma ürünleri olan hidroperoksitler; ardından da kararlı yapıda olan aldehit, keton, alkol ve çeşitli karbonil grupları ikincil bozulma ürünleri olarak oluşur. Oluşan oksidatif bozulma ürünleri et ve et ürünlerinde kalite kaybına, ransit tat, kötü koku ve renk değişikliği gibi istenmeyen duyuşal özelliklere sahip olmasına ve besin değerinde düşüşe neden olmaktadır [8,147-148]. Et ve kanatlı etlerinin lipid oksidasyon düzeyinin ölçülmesinde yaygın olarak kullanılan yöntem TBARs yöntemidir [149]. TBA çözeltisi, çoklu doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu oluşan malonaldehitlerle renk oluşumuna neden olarak oksidasyon düzeyinin spektrofotometrik olarak tespit edilmesini sağlar [150]. ME kullanılarak üretilmiş köftelerin 9 günlük depolanması sonucu TBARs miktarları Çizelge 4.5.'te; TBARs miktarlarındaki değişimi gösteren grafik ise Şekil 4.3.'te verilmiştir.

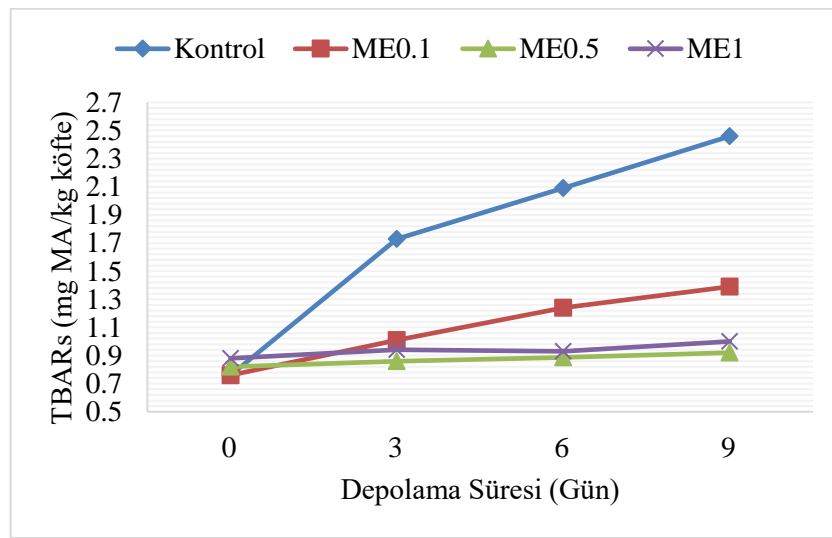
Çizelge 4.5. Köftelerin TBARs miktarları

	0	3	6	9
Kontrol	0.76±0.07 ^{aC}	1.73±0.20 ^{aB}	2.09±0.78 ^{aA}	2.46±0.81 ^{aA}
ME0.1	0.76±0.06 ^{aA}	1.01±0.01 ^{bA}	1.24±0.24 ^{bA}	1.39±0.22 ^{bA}
ME0.5	0.82±0.07 ^{aA}	0.86±0.10 ^{bA}	0.87±0.14 ^{bA}	0.92±0.18 ^{bA}
ME1	0.88±0.05 ^{aA}	0.94±0.05 ^{bA}	0.93±0.1 ^{bA}	1.00±0.26 ^{bA}

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

(a-b): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.3. Köftelerin TBARs miktarındaki değişimler

Kontrol grubun TBARs miktarı depolamanın ilk günü 0.76 mg MA/kg köfte olarak bulunurken; ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplarının depolamanın ilk günü TBARs miktarı sırasıyla 0.76, 0.82 ve 0.88 mg MA/kg köfte olarak bulunmuştur. Köftelerin TBARs miktarları arasındaki bu farklılıklar depolamanın ilk günü istatistiki değerlendirmede önem arz etmemiştir (p>0.05). Depolamanın 3.günü kontrol grup 1.78 mg MA/kg köfte TBARs içeriğine ulaşırken; ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplar sırasıyla 1.01, 0.86 ve 0.94 mg MA/kg köfte TBARs içeriğine ulaşmıştır. Depolamanın 3.gününde kontrol ile ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplar arasındaki farklılık istatistiki önem taşırken (p<0.05); ekstraktlı köftelerin birbirleri arasındaki farklılık istatistiki yönden önemli görülmemiştir (p>0.05). Depolamanın 6 ve 9. günlerinde de benzer şekilde kontrol grup ile ekstraktlı köfte grupları arasındaki fark anlamlı (p<0.05), fakat ekstraktlı köftelerin birbirleri arasındaki fark

istatistiki değerlendirme yönünden anlamlı görülmemiştir ($p>0.05$). Depolamanın 6. gününde tüm köfte gruplarının TBARs miktarları artış gösterirken; ME1 grubun TBARs miktarı düşmüş ama istatistiki yönden önemli görülmemiştir ($p>0.05$). Depolamanın sonunda kontrol grubun TBARs miktarı 2.46 mg MA/kg köfte olurken ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplarının TBARs miktarları sırasıyla 1.39, 0.92 ve 1.00 mg MA/kg köfte'ye ulaşmıştır. Depolamanın 3, 6 ve 9. günlerinde ekstraktlı gruplardaki TBARs yükselişi en az ME0.5 grupta meydana gelmiştir.

Turgut ve arkadaşları [151], nar kabuğu ekstraktının sığır eti köftesinin lipid oksidasyonu üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, 8 günlük soğukta depolama süresi boyunca en yüksek TBARs miktarına kontrol grup örneğin sahip olduğunu belirtmişlerdir. Depolama süresi boyunca en düşük TBARs miktarına ise %1 ekstrakt ile üretilmiş köftenin sahip olduğunu bildirmişlerdir. Kontrol grubun depolama sonunda TBARs miktarı 1.19 mg MA/kg'a ulaşırken; %1 ekstrakt ile üretilmiş grubun TBARs miktarının yalnızca 0.56 mg MA/kg'a ulaştığı belirtilmiştir.

Tombuloğlu [140], siyah pirinç ekstraktının sığır eti köftesinin bazı özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada kontrol grup köftenin TBARs miktarının 0.87-2.11 mg MA/kg arasında değiştiğini ve depolama süresince devamlı arttığını belirtmiştir. Depolamanın ilk ve son günü en düşük TBARs miktarına %7.5'luk sıcak ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş siyah pirinç ekstraktıyla üretilen köfte grubunun (0.54 mg MA/kg) olduğunu bildirmiştir.

Özdemir ve arkadaşları [152], nar kabuğu ekstraktının köfte kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Kontrol grubun başlangıç TBARs miktarı 1.02 mg MA/kg iken; nar kabuğu ekstraktı içeren grupların TBARs miktarları 0.66-0.76 mg MA/kg'a arasında değişiklik göstermiştir. Depolamanın 6. gününde kontrol grup köftenin TBARs miktarı 1.34 mg MA/kg'a ulaşırken; %0.3 konsantrasyonunda nar kabuğu ekstraktı içeren köfte grubunun TBARs miktarı yalnızca 0.75 mg/kg'a ulaştığı belirtilmiştir.

Turan ve Şimşek [153], farklı oranlarda kara dut ekstraktının (%0.1, %0.2, %0.4) ve farklı ambalajlamanın (aerobik ve vakum) sığır eti köftesinin kalite parametreleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Her iki ambalajlama yönteminde de depolamanın her gününde kontrol grup köfte en yüksek TBARs miktarına sahip bulunmuştur. Ayrıca depolama süresi boyunca her iki ambalajlama yönteminde de tüm köfte gruplarının TBARs miktarı artış göstermiştir. Her iki ambalajlama yönteminde de en düşük TBARs miktarına %0.4 kara dut ekstraktı ile üretilmiş köftenin olduğu belirtilmiştir.

Rodríguez-Carpena ve arkadaşları [154], domuz eti köftesine iki farklı tür avokado çekirdeği ve kabuğu ekstraktının etkisini incelemişlerdir. Çalışmadan elde edilen verilere göre her iki tür avokado çekirdeği ve kabuğu ekstraktı da, yüksek fenolik madde içeriği nedeniyle, köftenin TBARs miktarında önemli bir düşüşe neden olmuştur.

Sadeghinejad ve arkadaşları [155], Antep fıstığı kabuğu (yeşil) ekstraktının sığır eti köftesinin lipid oksidasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. 8 günlük soğukta depolama süresince en yüksek TBARs miktarına (1.7 mg MA/kg) kontrol grup köfte sahip olmuştur. Depolamanın 2.gününde kontrol grup ve 500 ppm askorbik asitle üretilmiş pozitif kontrol grup köftenin; ekstrakt ilaveli köfte gruplarından daha yüksek TBARs miktarına sahip olduğu belirtilmiştir. 4 günlük depolama sonunda en düşük TBARs miktarına 500 ppm askorbik asitle üretilmiş köfte sahipken; bunu 1000 ppm ekstrakt ile üretilmiş köfte takip etmektedir. Depolamanın 6 ve 8. günlerinde 500 ppm askorbik asit ilave edilmiş köfteden sonra en düşük TBARs miktarına 750 ppm ekstrakt ile üretilmiş köftenin sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ekstraktın lipid oksidasyonunu önlemede yapay antioksidanlara alternatif olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Zhang ve arkadaşları [156], karnabahar yaprağı ekstraktının domuz eti köftesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, 9 günlük soğukta depolama sırasında en yüksek TBARs miktarına kontrol grubunun sahip olduğunu belirtmişlerdir. Depolama süresi boyunca kontrol grup köftenin TBARs miktarının 0.52-1.36 mg MA/kg arasında değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir. Depolamanın sonunda kontrol grup köftenin TBARs miktarının 1.36 mg MA/kg olduğu belirtilirken; 0.2 g/kg BHA, 2.5, 5 ve 10 g/kg

karnabahar ekstraktı ile üretilen köftelerin TBARs miktarlarının sırasıyla 0.95, 0.96, 0.81 ve 0.73 mg MA/kg olduğu belirtilmiştir.

Gök ve Bor [157], üç farklı ekstraktın (zeytin yaprağı, hünnap ve yabanmersini ekstraktı) farklı konsantrasyonlarının (500 ve 1000 ppm) sığır eti köftesinin lipid oksidasyon düzeyi üzerine etkisini incelemişlerdir. Depolama başlangıcında en yüksek TBARs miktarına sahip grup kontrol grup iken, 500 ve 1000 ppm düzeylerinde zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmiş köftede TBARs miktarları 0.30 ve 0.28; 500 ve 1000 ppm düzeylerinde hünnap ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftede TBARs miktarları 0.30 ve 0.29; 500 ve 1000 ppm düzeylerinde yabanmersini ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftede ise 0.28 ve 0.28 mg MA/kg köfte olarak bulunmuştur. 10 günlük soğukta depolama sonunda kontrol grup köftenin TBARs miktarı en yüksek iken, 500 ve 1000 ppm düzeylerinde zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilmiş köftede TBARs miktarları 0.77 ve 0.65'e; 500 ve 1000 ppm düzeylerinde hünnap ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftede TBARs miktarları 0.92 ve 0.81'e; 500 ve 1000 ppm düzeylerinde yabanmersini ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftede ise 0.83 ve 0.71 mg MA/kg köfte'ye yükselmiştir. Lipid oksidasyonuna karşı en iyi önleyici etkiyi zeytin yaprağı ekstraktının gösterdiğini ve bunu sırasıyla yabanmersini ekstraktı ve hünnap ekstraktının takip ettiğini belirtmişlerdir. Çalışmadan çıkarılan bir diğer önemli sonuç ise; ekstrakt oranı arttıkça her üç üretimde de lipid oksidasyonunu önleme düzeyinin arttığıdır.

Bañón ve arkadaşları [158], sığır eti köftesine yeşil çay ekstraktı ve üzüm çekirdeği ekstraktının köftenin kalite parametreleri üzerine etkisini incelemişlerdir. 9 günlük depolama sonunda kontrol grup köftenin TBARs miktarı 0.83'ten 3.86 mg MA/kg köfteye ulaşırken; yalnızca sülfite ilave edilen köfte grubunda bu değer 0.78'den 3.31 mg MA/kg köfteye ulaşmıştır. Sülfitle birlikte üzüm çekirdeği ekstraktı ilave edilen köftelerde depolama sonunda TBARs miktarı 0.45'ten yalnızca 0.47 mg MA/kg köfte'ye; yeşil çay ekstraktı ilave edilen köftede ise 0.51'den 0.60 mg MA/kg köfte'ye ulaşmıştır.

Çalışmamızda kullanılan melocan ekstraktının içerdiği fenolik maddeler ve antioksidan aktivite nedeniyle, sığır eti köftesindeki lipid oksidasyonunun önemli düzeyde önlediği görülmektedir.

4.3.5. Renk Değerleri

Gıdaların rengi, tüketici beğenisini ilk olarak etkileyen kalite parametresidir. Gıdayı yemeden önce, tüketip tüketmeyeceğimize ilk olarak rengine bakarak karar veririz [159]. Gıdaların renginin sübjektif olarak gözle değerlendirilmesinin yanı sıra, objektif olarak da değerlendirilmesi mümkündür [160]. Birçok farklı renk uzayı olmasına rağmen, gıda söz konusu olduğunda, tek tip renk dağılımı ve renk algısının insan gözüne yakın olması nedeniyle en sık kullanılanı CIE (Commission Internationale de L'Eclairage-Uluslararası Aydınlatma Kurumu) tarafından tanımlanmış, $L^*a^*b^*$ renk uzayıdır [159]. L^* , a^* ve b^* renk değerleri, C.I.E. renklerin objektif ifade edilmesini sağlayan ifadelerdir [161]. L^* , açıkla (100) koyu (0) arasındaki farkı; a^* , kırmızı (+) ve yeşil (-) arasındaki farkı; b^* ise sarılık (+) ve mavilik (-) arasındaki farkı temsil etmektedir [162]. Değişim daha iyi gözlemlenmesi adına kroma (C) ve ton açısı (h°) değerleri de hesaplanmıştır.

Rengin doygunluğu ve yoğunluğuyla ilgili olan C değeri, yükseldikçe rengin yoğunluğu da artmaktadır. h° ise aynı parlaklık derecesinde gri renk baz alındığında, griden ne kadar farklı olduğunu ifade etmede kullanılır. 0° veya 360° kırmızı renk olarak algılanırken, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi renkleri ifade etmektedir. Yüksek ton açısı, düşük sarılığı ifade etmektedir [163].

Farklı oranlarda melocan ekstraktı ilavesi yapılmış köftelerin L^* değerleri Çizelge 4.6.'da L^* değerlerindeki değişim ise Şekil 4.4.'te verilmiştir. Çizelge 4.6.'da görüldüğü gibi köftelerin L^* değerleri depolamanın ilk günü 32.11-47.05 arasında değişiklik göstermiş ve bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir ($p<0.05$). Depolamanın 3. gününde köftelerin L^* değeri 34.15-47.72 arasında; 6. gün L^* değeri 34.44-48.67 arasında; 9. gün L^* değeri ise 35.53-48.48 arasında değişiklik göstermiştir.

Tüm depolama günlerinde, grupların birbirleri ile farklılığı istatistiki yönden anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grup köftenin L^* değeri depolama başlangıcında 47.05 ölçülürken; 3. gün 47.72, 6. gün 48.67 ve 9. gün 48.48 olarak ölçülmüştür. ME0.1 grubun L^* değeri depolama başlangıcında 43.41 ölçülürken; 3. gün 44.43, 6. gün 45.59 ve 9. gün 45.82 olarak ölçülmüştür. ME0.5 grubun da sırayla depolama günlerinde L^* değerleri 36.34, 37.34, 38.03 ve 39.51 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde ME1 grupta da L^* değeri

depolama süresi boyunca artış göstermiş ve sırasıyla 32.11, 34.15, 34.44 ve 35.53 olarak ölçülmüştür.

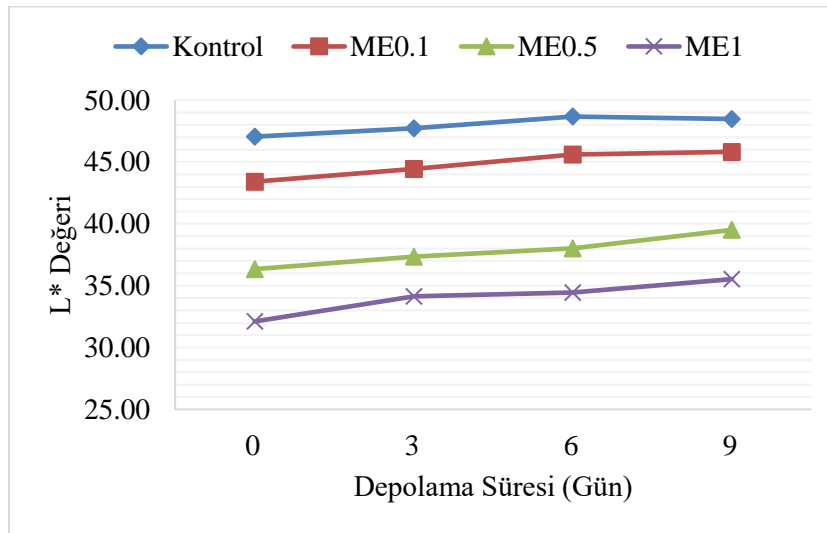
Çizelge 4.6. Köftelerin L* değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	47.05±1.29 ^{aB}	47.72±0.98 ^{aAB}	48.67±1.14 ^{aA}	48.48±2.04 ^{aA}
ME0.1	43.41±1.18 ^{bC}	44.43±1.44 ^{bB}	45.59±1.16 ^{bA}	45.82±2.25 ^{bA}
ME0.5	36.34±0.98 ^{cC}	37.34±1.06 ^{cB}	38.03±0.94 ^{cB}	39.51±1.39 ^{cA}
ME1	32.11±1.06 ^{dC}	34.15±1.22 ^{dB}	34.44±1.61 ^{dB}	35.53±1.43 ^{dA}

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

(a-d): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.4. Köftelerin L* değerindeki değişimler

Köftelerin a* değerleri ve değişimleri Çizelge 4.7. ve Şekil 4.5.'te verilmiştir. Kontrol grubun a* değeri depolamanın 0. günü 16.46 iken; depolamanın 3.günü 10.36'ya; depolamanın 6. günü ise 6.85'e düşüş göstermiştir. 0, 3 ve 6. günler arasındaki düşüş istatistiki önem taşımamıştır (p<0.05). Kontrol grubun a* değeri 9. gün 6.36'ya düşmüş fakat 6 ve 9. günlerdeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir (p>0.05). ME0.1 grubun a* değeri de depolama boyunca düşüş göstermiştir. Depolama başlangıcında 10.60 olan a* değeri; 3, 6 ve 9. günler sırasıyla 6.88, 4.31 ve 3.59'a düşmüştür. ME0.1 grubun a* değerinin depolama periyodu boyunca düşüşü her analiz

günü için istatistiksel olarak önemli görülmüştür ($p<0.05$). ME0.5 ve ME1 gruplarında da benzer şekilde a^* değeri depolama süresi boyunca düşüş göstermiştir. ME0.5 grubun a^* değerinde 0, 3 ve 6. günlerdeki değişimler istatistiki açıdan önemli bulunurken ($p<0.05$); 6. ve 9. Günlerdeki a^* değeri farklılığı istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). ME1 grupta 0 ve 3. gün a^* değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunurken; 3, 6 ve 9. günler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. a^* değerlerindeki düşüş oransal olarak en az ME1 grupta meydana gelmiştir.

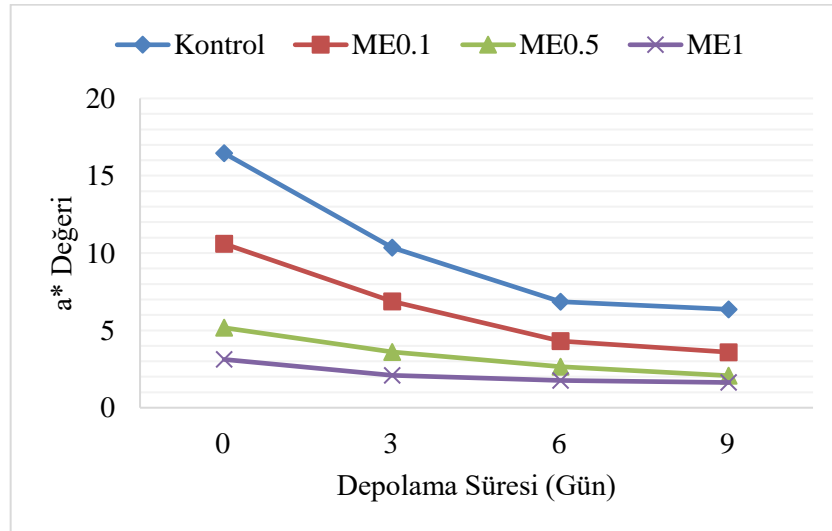
Çizelge 4.7. Köftelerin a^* değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	16.46±1.54 ^{aA}	10.36±0.72 ^{aB}	6.85±0.42 ^{aC}	6.36±1.31 ^{aC}
ME0.1	10.60±1.73 ^{bA}	6.88±1.00 ^{bB}	4.31±0.47 ^{bC}	3.59±1.03 ^{bD}
ME0.5	5.17±1.14 ^{cA}	3.60±0.68 ^{cB}	2.66±0.42 ^{cC}	2.07±0.42 ^{cC}
ME1	3.12±0.70 ^{dA}	2.09±0.62 ^{dB}	1.76±0.54 ^{dB}	1.63±0.46 ^{cB}

Ortalama±standart sapma

(A-D): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

(a-d): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.5. Köftelerin a^* değerindeki değişimler

Et ve et ürünlerinde oksidasyon sonucu metmiyogloblin oluşumu dolayısıyla a^* değerinde düşüş meydana gelmektedir. Melocan ekstraktının oksidasyonu belli düzeyde

engelleme, yüksek ekstrakt konsantrasyonunda üretilmiş ME1 grubun a* değerindeki düşüşün az olmasını sağlamıştır.

Aynı depolama süresinde gruplar arasındaki farkı inceleyecek olursak; ekstrakt oranı arttıkça köftelerin a* değerinde ciddi bir düşüş meydana gelmiştir. Tüm günlerde köfte grupları arası farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmediğinde önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Köftelerin b* değerleri Çizelge 4.8.'de ve Şekil 4.6.'da verilmiştir. Köftelerin b* değerleri depolamanın başlangıç gününde 14.12-20.87 arasında değişirken; depolamanın son günü 16.23-19.37 arasında değişiklik göstermiştir. Depolamanın ilk günü b* değerleri açısından kontrol grup ve ME0.1 grup arasında önemli farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Depolamanın sonunda ise kontrol grup ile ME1 grup arasında ve ME0.1 ile ME0.5 grupları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık tespit edilmiştir ($p > 0.05$).

Depolamanın başlangıcında en yüksek b* değerine ME0.1 grubu sahipken bunu kontrol grup, ME0.5 ve ME1 grupları takip etmektedir. ME0.1 grup ve kontrol grup arasındaki fark ise anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Soğukta depolama sonucunda ise en yüksek b* değerine ME0.1 grubu sahiptir ve ME0.5 grubu ile aralarında istatistiksel olarak değerlendirilmediğinde önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

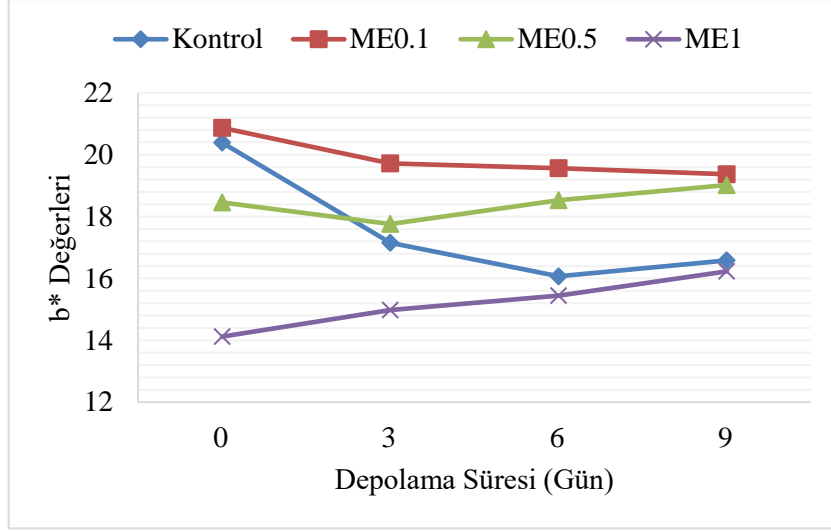
Çizelge 4.8. Köftelerin b* değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	20.39±0.83 ^{aA}	17.15±0.58 ^{bB}	16.07±0.54 ^{cC}	16.58±0.77 ^{bBC}
ME0.1	20.87±0.83 ^{aA}	19.72±1.09 ^{aB}	19.56±1.14 ^{aB}	19.37±1.32 ^{aB}
ME0.5	18.46±1.04 ^{bAB}	17.76±1.64 ^{bB}	18.53±0.91 ^{bAB}	19.02±1.24 ^{aA}
ME1	14.12±1.13 ^{cC}	14.98±1.04 ^{cB}	15.45±1.39 ^{dB}	16.23±1.45 ^{bA}

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

(a-d): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.6. Köftelerin b* değerindeki değişimler

Köftelerin C değerleri Çizelge 4.9.'da verilmiştir. Depolamanın başlangıcında köftelerin C değerleri 14.49-26.23 arasında değişmiştir. Ekstrakt oranı arttıkça C değerinde düşüş meydana gelmiştir. 3.gün en yüksek C değerine sahip grup ME0.1 iken; en düşük C değerine sahip grup 15.14 ile ME1'dir. 6 ve 9.günlerde de benzer şekilde en yüksek C değerine sahip grup ME0.1 iken; en düşük C değeri ME1 grubunda görülmüştür. Her depolama gününde gruplar birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Köftelerin C değerlerindeki değişim Şekil 4.7.'de görülmektedir.

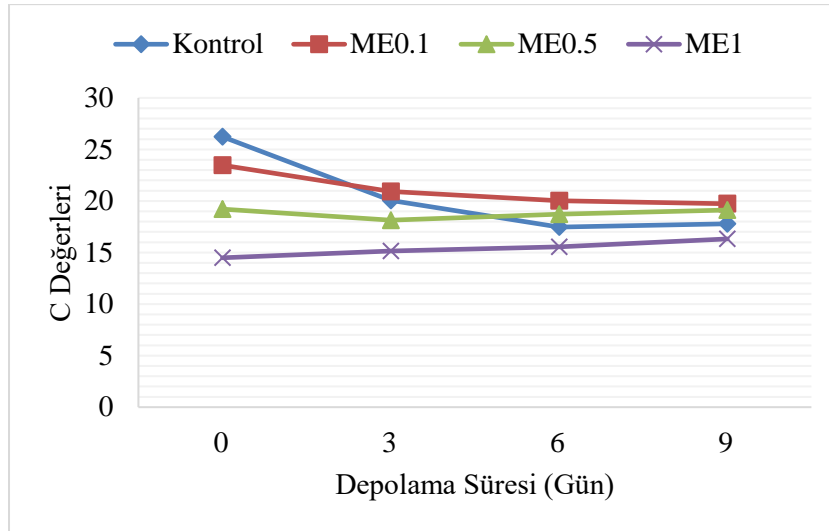
Çizelge 4.9. Köftelerin C değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	26.23±1.44 ^{aA}	20.04±0.77 ^{bB}	17.47±0.60 ^{cC}	17.78±1.09 ^{bC}
ME0.1	23.47±0.88 ^{bA}	20.92±0.77 ^{aB}	20.03±1.10 ^{aC}	19.73±1.20 ^{aC}
ME0.5	19.21±0.94 ^{cA}	18.14±1.58 ^{cB}	18.73±0.86 ^{bAB}	19.13±1.20 ^{aA}
ME1	14.49±1.00 ^{dB}	15.14±0.98 ^{dAB}	15.56±1.35 ^{dA}	16.32±1.43 ^{cA}

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

(a-d): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.7. Köftelerin C değerindeki değişimler

Köftelerin h° değerleri Çizelge 4.10.'da verilmiştir. Köftelerin soğukta depolanma süresi boyunca h° değeri sürekli olarak artış göstermiştir. Kontrol grubu için bu artış her depolama gününde önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). ME0.1 ve ME0.5 grupları için bu artış 0, 3 ve 6. günlerde istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0.05$); 9. gün gösterdiği artış önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). Ekstraktı oranı arttıkça h° değeri yükselmiştir. Kontrol, ME0.1 ve ME0.5 grupları her depolama gününde istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunurken; ME1 grubu, 6 ve 9.günlerde ME0.5 grubundan farklı bulunmamıştır. Köftelerin h° değerlerindeki değişim Şekil 4.8.'de görülmektedir.

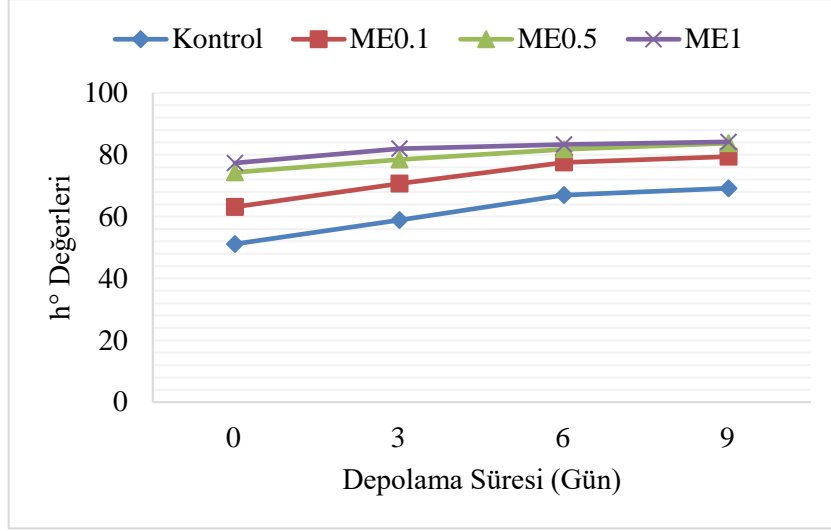
Çizelge 4.10. Köftelerin h° değerleri

	0	3	6	9
Kontrol	51.16±2.23 ^{dD}	58.90±1.45 ^{dC}	66.93±1.09 ^{cB}	69.17±3.36 ^{cA}
ME0.1	63.13±4.14 ^{cC}	70.68±3.47 ^{cB}	77.51±1.64 ^{bA}	79.40±3.43 ^{bA}
ME0.5	74.31±3.68 ^{bC}	78.40±2.66 ^{bB}	81.78±1.58 ^{aA}	83.72±1.63 ^{aA}
ME1	77.34±3.49 ^{aC}	81.96±2.70 ^{aB}	83.34±2.36 ^{aAB}	84.17±1.84 ^{aA}

Ortalama±standart sapma

(A-D): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

(a-d): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.8. Köftelerin h° değerindeki değişimler

Elde edilen bulgular incelendiğinde; ekstrakt oranı arttıkça köftelerin L^* , a^* ve C değerinde azalma, h° değerinde ise artma görülmüştür. Yani melocan ekstraktı köftelerin daha koyu, daha az kırmızı ve daha yeşil renkli olmasına sebep olmuştur. Depolama süresi boyunca tüm grupların L^* ve a^* değerinde azalma, h° değerinde ise artma görülmüştür. Soğukta depolama süresince kontrol grup ve ME0.1 grup köftelerin b^* ve C değeri azalırken, ME0.5 ve ME1 gruplarının b^* ve C değeri artış göstermiştir.

Gök ve Bor [157], farklı oranlarda ilave ettiği ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde ettiği zeytin yaprağı ekstraktından üretilmiş sığır eti köftelerinin 10 günlük depolama süresi boyunca renk değerlerindeki değişimi incelemişlerdir. Kontrol grup köftenin başlangıç L^* değeri 44.35 iken, depolamanın son günü 34.28'e düşmüştür. Ayrıca ekstrakt konsantrasyonu arttıkça da L^* değerinde artış meydana gelmiştir. Depolama süresince zamana bağlı olarak köftelerin a^* değerinde düşüş görülürken, ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak a^* değerinde artış görülmüştür. 500 ppm ekstrakt ile hazırlanmış köfte, başlangıç hariç, depolama süresince en yüksek b^* değerine sahip olmuştur. Aynı çalışmada; hünap ekstraktı ve yaban mersini ekstraktı ilave edilmiş köftelerin renk değerleri incelenmiş, L^* , a^* ve b^* değerlerinin ekstrakt oranı arttıkça arttığı fakat depolama süresi boyunca azaldığı sonucuna varılmıştır.

Fernandez-Lopez ve arkadaşları [164], biberiye, sarımsak, limon ve portakal ekstraktların sığır eti köftelerinin antioksidan ve antibakteriyel özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; tüm köfte gruplarında 12 günlük soğukta depolama süresince L* ve b* değerinin artışı; a* değerinin ise düşüş gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda elde edilen renk değerleri ile mevcut çalışmada elde edilen ekstrakt ilaveli köftelerin renk değerlerinin benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

4.3.6. Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı

Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TFM miktarları Çizelge 4.11.'de ve Şekil 4.9.'da verilmiştir. Depolamanın başlangıcında kontrol grup, ME0.1, ME0.5 ve ME1 grupların TFM miktarları sırasıyla 109.23, 120.53, 163.97 ve 216.85 mg GAE/kg köfte olarak bulunmuştur. Kontrol ve ME0.1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p>0.05$); ME0.5 ve ME1 gruplarının TFM analizleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer depolama günlerinde de kontrol grup ve ME0.1 grupları arasında İstatistiksel önem bulunmazken ($p>0.05$); ME0.5 ve ME1 grupları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Depolama süresince tüm köfte gruplarında başlangıç TFM miktarı 3. gün artış göstermiştir. Depolama başlangıcında 109.23 mg GAE/kg köfte olan kontrol grup TFM miktarı, depolama sonunda 172.73 mg GAE/kg köfte'ye ulaşmıştır. ME0.1 grubunda bu artış 120.53'ten 185.47'ye; ME0.5 grubunda 163.97'den 224.26'ya; ME1 grubunda ise 216.85'ten 269.00 mg GAE/kg köfte'ye ulaşmıştır.

Ergezer ve Serdaroğlu [133], enginar atığı ekstraktının sığır eti köftesinin bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, depolama başlangıcında kontrol grup köftenin TFM miktarını 29.93 mg GAE/100 g köfte olarak bulduklarını belirtmişlerdir. 27.3 mg ekstrakt/100g köfte konsantrasyonunda hazırladıkları köftenin başlangıç TFM miktarını 51.02; 10 mg BHT/100 g köfte konsantrasyonunda ürettikleri köftenin TFM miktarını ise 40.08 mg GAE/100 g köfte olarak bulduklarını bildirmişlerdir. 7 günlük

soğukta depolama sonucunda da benzer şekilde en yüksek TFM içeriğe sahip köfte grubu ekstraktlı köfte grubu iken; BHT ilaveli köftenin TFM değeri daha düşük bulunmuştur. Çalışmada enginar atığı ekstraktının yapay antioksidanlara alternatif olabileceği belirtilmiştir.

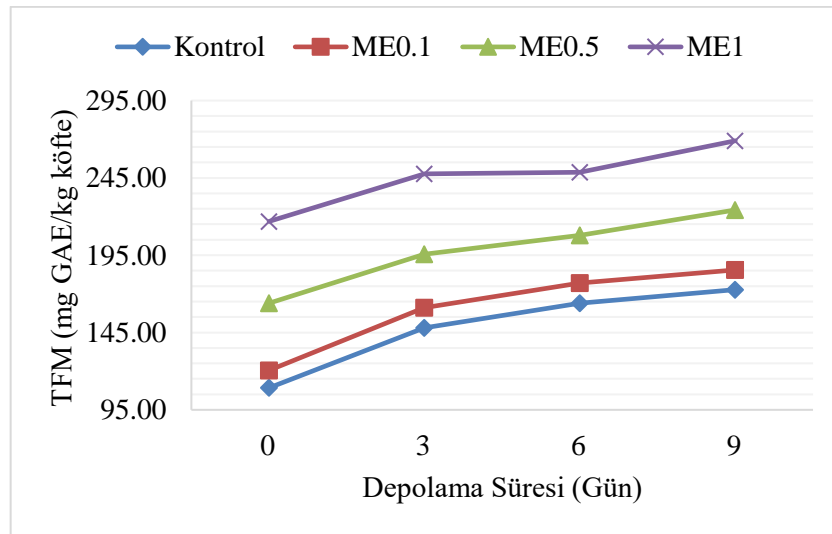
Çizelge 4.11. Köftelerin TFM miktarları

	0	3	6	9
Kontrol	109.23±10.61 ^{cB}	148.01±4.55 ^{cA}	163.95±5.05 ^{cA}	172.73±8.70 ^{cA}
ME0.1	120.53±9.02 ^{cB}	161.07±14.30 ^{cA}	177.02±11.86 ^{cA}	185.47±11.77 ^{cA}
ME0.5	163.97±12.10 ^{bB}	195.56±15.17 ^{bA}	207.90±5.49 ^{bA}	224.26±19.59 ^{bA}
ME1	216.85±15.82 ^{aB}	247.50±25.1 ^{aA}	248.68±9.32 ^{aA}	269.00±26.2 ^{aA}

Ortalama±standart sapma

(A-B): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

(a-c): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.9. Köftelerin TFM miktarındaki değişimler

Arslan [165], hayıt tohumu tozu ilave ederek ürettiği köftelerin TFM miktarlarını incelediği çalışmasında; kontrol grup köftenin 0.42 mg GAE/g TFM miktarına sahipken, ekstrakt oranı arttıkça bu değer de düzenli olarak artış gösterdiğini belirtmiştir. Hayıt tohumu tozunun %10 oranında ilave edildiği köfte grupları, kontrol gruba kıyasla yaklaşık 5.5 kat daha fazla TFM miktarına sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Çevik Özkır [166], propolis ekstraktının sığır eti köftesinin kalite parametreleri üzerine etkisini incelediği çalışmada, %0.1, %0.3, %0.5 ve %1 oranında propolis ekstraktı ilave ederek kontrol dahil 5 grup köfte üretmiştir. Başlangıçta TFM miktarı 630.44 mg GAE/kg olan kontrol köftenin, depolama boyunca TFM miktarında düşüş meydana geldiği ve 9.gün 387.8 mg GAE/kg'a ulaştığı belirtilmiştir. Ekstrakt ilaveli tüm grupların TFM miktarının 3. günde artış gösterdiği fakat 6 ve 9. günlerde düşüş gösterdiği de çalışmadan elde edilen diğer bir sonuçtur. İlaveten çalışmada, %1 propolis ekstraktı içeren köftenin başlangıç TFM değerinin 756.9 mg GAE/kg iken 3. Gün 789.3 mg GAE/kg'a yükseldiği; 6. ve 9. Günlerde ise 683.3 ve 639.9 mg GAE/kg'a düştüğü bildirilmiştir.

Al-Juhaimi ve arkadaşları [167], farklı oranlarda (%5, %10 ve %20) argel yaprağı ekstraktı kullanarak ürettikleri tavuk eti köftelerinin 20 günlük depolama süresi boyunca TFM içeriklerindeki değişimi incelemişlerdir. Depolama süresi boyunca tüm köfte gruplarının TFM miktarında düşüş gözlenmiştir. Depolama başlangıcında kontrol grup köftenin TFM miktarı 177.08 mg GAE/100g köfte olarak bulunurken; 5 günde bir yeniden TFM miktarı belirlenmiş ve sırasıyla 170.23, 161.13, 155.34 ve 153.36 mg GAE/100 g köfte olarak bulunduğu belirtilmiştir. En yüksek TFM miktarın sahip grubun %20 argel yaprağı ekstraktı ile üretilmiş köfte olduğu belirtilirken; depolama süresi boyunca 370.79-427.50 mg GAE/100 g köfte arasında değiştiği belirtilmiştir.

Zhang ve arkadaşları [156], farklı konsantrasyonlarda (2.5, 5 ve 10 g/kg) karnabahar ekstraktı ve 0.2 g/kg BHT ilave ederek ürettiği domuz eti köftelerinde TFM miktarı tayini yapmışlardır. Çalışmada kontrol grubun başlangıç TFM değerinin 19.15 mg GAE/100 g olduğu belirtilirken; 0.2 g/kg BHT içeren köftenin TFM miktarının 18.18; %2.5, %5 ve %10 ekstrakt içeren köftelerinin TFM miktarının sırasıyla 71.92, 129.11 ve 180.04 mg GAE/100 g olduğu belirtilmiştir. Depolama süresi boyunca tüm köfte gruplarının TFM içeriklerinde düşüş meydana geldiği belirtilmiştir. Depolamanın son gününde kontrol grup köftenin TFM miktarının 10.77 olduğu bildirilirken, %10 ekstrakt içeren köftenin TFM miktarının 132.70 mg GAE/100 g köfte olduğu bildirilmiştir.

4.3.7. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Köftelerin TAK değeri DPPH yöntemi ile ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları Çizelge 4.12.'de verilmiştir. Sonuçların depolama süresince değişimini gösteren grafik ise Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.12. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TAK değerleri

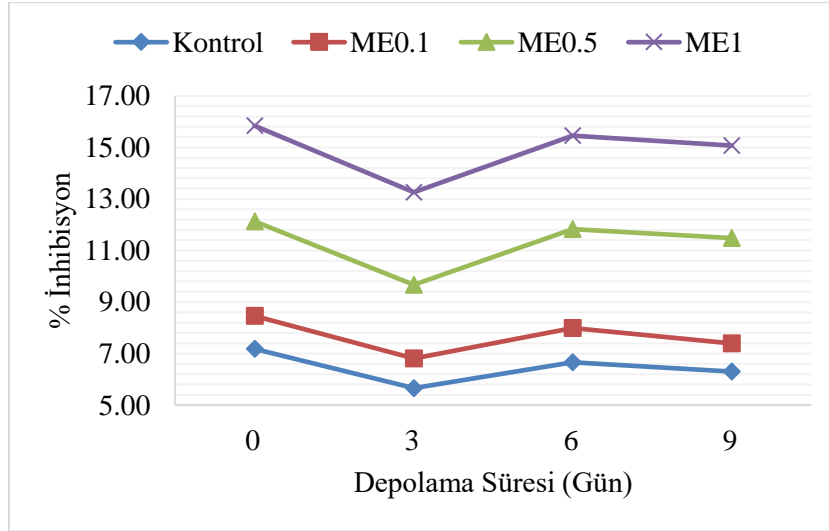
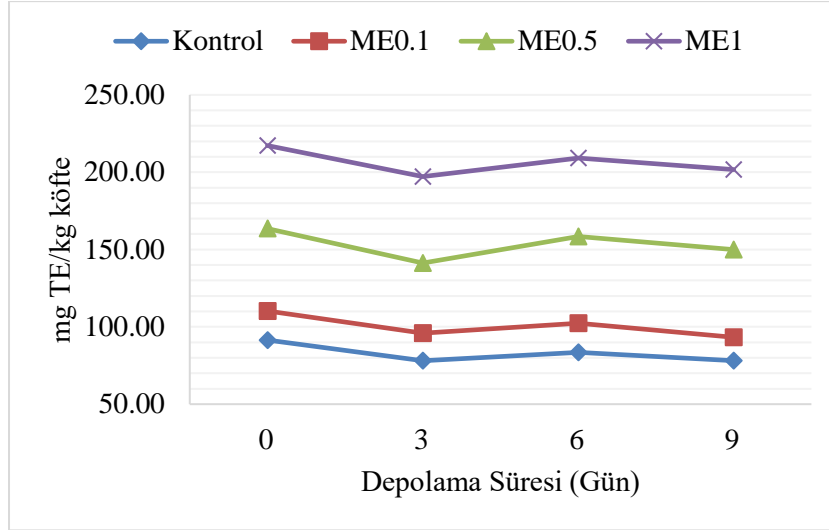
		Kontrol	ME0.1	ME0.5	ME1
TAK (mg TE/kg köfte)	0	91.45±6.91 ^C	110.25±5.41 ^C	163.53±10.71 ^B	217.24±15.42 ^A
	3	78.08±5.49 ^C	96.01±6.55 ^C	141.28±9.44 ^B	197.17±4.54 ^A
	6	83.43±4.66 ^C	102.33±2.21 ^C	158.52±12.80 ^B	209.21±22.10 ^A
	9	78.09±17.08 ^C	93.24±17.85 ^C	149.96±17.86 ^B	201.7±28.10 ^A
TAK (%İnhibisyon)	0	7.18±0.38 ^{aC}	8.46±0.34 ^{aC}	12.13±0.63 ^{aB}	15.84±1.35 ^{aA}
	3	5.66±0.79 ^{aC}	6.81±1.18 ^{aC}	9.67±0.91 ^{bB}	13.26±1.50 ^{bA}
	6	6.66±0.82 ^{aC}	7.99±0.57 ^{aC}	11.83±0.90 ^{aB}	15.45±0.82 ^{aA}
	9	6.30±1.10 ^{aC}	7.40±1.18 ^{aC}	11.48±1.03 ^{abB}	15.07±1.74 ^{abA}

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

(a-b): Aynı sütundaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Köftelerin antioksidan kapasitelerine ekstrakt konsantrasyonunun etkisi istatistiki değerlendirmede önemli bulunmuştur (p<0.05). Her depolama gününde ME0.1 ve kontrol grupları birbirleri ile benzer bulunurken (p>0.05); ME0.5 ve ME1 grupların antioksidan kapasiteleri birbirlerinden ve ME0.1 grup ile kontrol gruptan farkı anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Depolama başlangıcında en yüksek antioksidan kapasiteye 217.24 mg TE/kg köfte ile ME1 grubu bulunmuştur. ME1 grubun antioksidan kapasitesi depolamanın 3. gününde 197.17'ye azalış gösterirken; 6. gününde 209.21'e artış; 9.gününde ise 201.7 mg TE/kg köfte'ye yeniden azalış göstermiştir. Kontrol köftede 0, 3, 6 ve 9. günlerdeki antioksidan kapasite sırasıyla 91.45, 78.08, 83.43 ve 78.09 mg TE/kg köfte olarak bulunmuştur. ME0.1 grup köftede depolama süresi boyunca TAK değerleri 93.24-110.25 mg TE/kg köfte arasında bulunurken; ME0.5 grup köftede TAK değerleri 141.28-163.53 mg TE/kg köfte arasında değişiklik göstermiştir. Fakat tüm köfte gruplarındaki günler arası anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05). Tüm köfte grupları, en yüksek TAK değerini depolamanın başlangıcında göstermişlerdir.



Şekil 4.10. Köftelerin TAK değerindeki değişimler

% inhibisyon değerleri üzerinden köftelerin TAK değerlerini ele alacak olursak; depolama süresi boyunca ekstrakt oranı arttıkça köftelerin TAK değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Aynı depolama gününde kontrol ve ME0.1 grubun TAK değerleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0.05$); ME0.5 ve ME1 grupları birbirleri ve kontrol ile ME0.1 gruptan önemli düzeyde farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm köfte gruplarının antioksidan kapasitesi en yüksek değerine depolama başlangıcında sahipken; depolama süresinin 3. günü antioksidan aktivite azalış; depolamanın 6. günü antioksidan aktivite artış göstermiş ve 9. gün antioksidan aktivite yeniden düşüş göstermiştir. Bu değişim kontrol ve ME0.1 gruplarında istatistiksel olarak önemsiz bulunurken ($p>0.05$); ME0.5 ve ME1 gruplarının TAK değerlerinde depolama

süresince meydana gelen değişim anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). ME0.5 grup köftenin antioksidan kapasitesi depolamanın başlangıcında %12.13 iken; depolamanın 3. günü %9.67'ye düşüş; 6.günü %11.83'e yükseliş ve 9.gün %11.48'e düşüş göstermiştir. Depolama süresi boyunca hep en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ME1 grup köftenin antioksidan kapasitesindeki değişim %13.26-15.84 arasında bulunmuştur.

Al-Juhaimi ve arkadaşları [167], farklı konsantrasyonlarda (%5, 10 ve 20) Argel yaprağı ekstraktı ilavesinin tavuk eti köftelerinin antioksidan kapasitesi üzerine etkisini inceledikleri (DPPH yöntemi ile) çalışmada ekstrakt konsantrasyonu arttıkça antioksidan kapasitenin arttığını bildirmişlerdir. Soğukta 20 gün depolama süresince tüm köftelerin antioksidan kapasitesi depolama boyunca azalmıştır. Depolama süresi boyunca kontrol grubu TAK değerinin %8.82-10.89 arasında değişiklik gösterdiği bildirilirken, %5 ekstraktlı köftenin TAK değerinin %10.85-14.21; %10 ekstraktlı köftenin TAK değerinin %14.28-18.28; %20 ekstraktlı köftenin TAK değerinin %19.71-32.35 arasındaki değişikliği gösterdiği bildirilmiştir.

Zhang ve arkadaşları [156], karnabahar kabuğu ekstraktı ilave edilmiş domuz eti köftesinin antioksidan kapasitesini DPPH yöntemi ile incelemiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre 10 g/kg oranında karnabahar yaprağı ekstraktı kullanılan domuz eti köftesinin depolamanın her gününde en yüksek değere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu grubu 5g/kg ekstraktlı köfte takip ederken; ardından 0.02 g/kg BHA ile üretilen köfte; daha sonra 2.5 g/kg konsantrasyonunda ekstrakt ile üretilmiş köftenin takip ettiği bildirilmiştir. Depolamanın ilk gününde köftelerin TAK değerlerinin %32.32 ile 63.89 arasında değiştiği bildirilmiştir. Depolama sonunda ise bu değerlerin %21.22 ile 48.74 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Ergezer ve Serdaroğlu [133], sığır eti köftesine 27.3 mg/100 g et konsantrasyonunda enginar atığı ekstraktı ekleyerek bir grup köfte üretmişler ve TAK değerinin depolama başlangıcında %84.63 olduğunu bildirmişlerdir. Depolamanın başlangıcında kontrol grup köftenin TAK değerinin %53.54 olduğu belirtilirken; 10 mg BHT/100 g et konsantrasyonunda yapay antioksidan ilave edilerek üretilen sığır eti köftesinin TAK değerinin %62.60 olarak bulunduğu da bildirilmiştir. Depolama sonunda ise köftelerin

antioksidan kapasitesi düşüş göstermiş fakat depolamanın her gününde en yüksek antioksidan kapasiteye sahip grup enginar atığı ekstraktlı köfte grubu olarak bulunmuştur.

Çevik Özkır [166], farklı oranlarda (%0.1, 0.3, 0.5 ve 1) propolis ekstraktı ilave ettikleri sığır eti köftelerinin depolamanın her gününde kontrol grup köfteden daha yüksek TAK değerinde olduğunu bildirmiştir. Tüm köfte gruplarının TAK değerlerinin depolamanın 3. ve 9. günlerinde düştüğünü fakat 6. gününde arttığını bildirmiştir. Kontrol grup köftenin TAK değerinin depolama boyunca 73.92-116.33 $\mu\text{M TE/kg}$ arasında değiştiği; en yüksek ekstrakt konsantrasyonuna (%1) sahip köfte grubunun TAK değerinin ise 197.19-532.46 $\mu\text{M TE/kg}$ arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir.

Keşkekoğlu ve Üren [168], sığır ve tavuk eti köftelerine üzüm çekirdeği ekstraktının ve farklı pişirme yöntemlerinin (fırında, tavada, kömür ateşinde ızgara ve derin yağda pişirme) etkisini incelemişlerdir. TAK tayini için DPPH metodunu kullanmışlardır. Kontrol grup sığır eti köftesinin TAK değerinin %16.95-23.99 arasında değiştiğini belirtirken; %0.5 oranında üzüm çekirdeği ekstraktı ile üretilmiş sığır eti köftesinin TAK değerinin %34.40-37.20 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Kontrol tavuk eti köftesinde TAK değerinin %24.95-36.83 arasında değiştiği belirtilirken; %0.5 oranında üzüm çekirdeği ekstraktı ile üretilmiş tavuk eti köftesinde TAK değerinin %40.88-50.11 arasında değiştiği bildirilmiştir.

4.3.8. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayısı

Melocan ekstraktının sığır eti köftesinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisini belirlemek için TMAB analizi yapılmıştır. Sonuçlar log kob/g olarak Çizelge 4.13.'te verilmiştir.

Çizelge 4.13.'te görüldüğü gibi köfte gruplarının TMAB sayıları depolama başlangıcında 4.50 log kob/g ile 4.61 log kob/g arasında değişiklik göstermiş fakat bu değişiklik istatistiksel değerlendirmede önemli görülmemiştir ($p>0.05$). Depolamanın 3. gününde ise köfte gruplarının TMAB sayıları 4.30-5.00 log kob/g arasında değişiklik göstermiş,

depolamanın sonunda köfte gruplarının TMAB sayıları 6.86 ile 7.63 log kob/g arasında değişmiştir. Köfte gruplarının TMAB sayılarındaki değişim Şekil 4.11.'de verilmiştir.

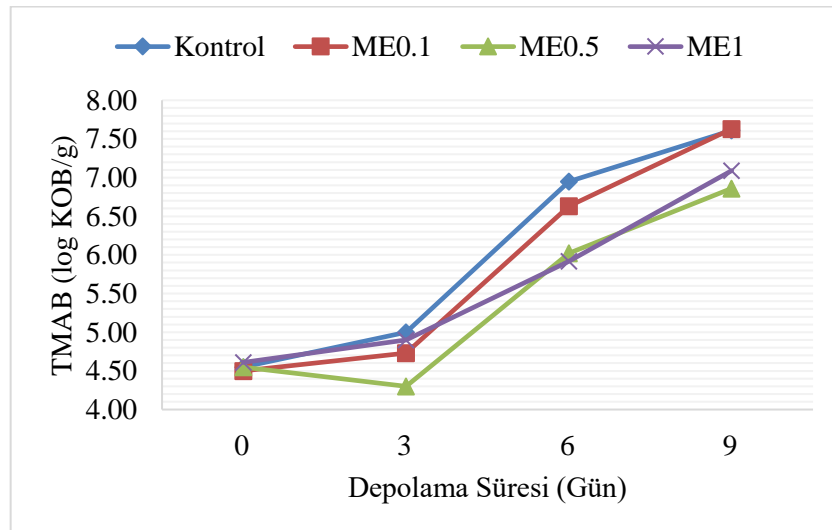
Çizelge 4.13. Köftelerin TMAB sayıları

	0	3	6	9
Kontrol	4.55±0.90 ^B	5.00±0.38 ^B	6.95±0.66 ^{AB}	7.61±0.88 ^A
ME0.1	4.50±0.88 ^B	4.73±0.64 ^B	6.63±0.70 ^{AB}	7.63±1.03 ^A
ME0.5	4.55±0.87 ^B	4.30±0.59 ^B	6.02±0.54 ^{AB}	6.86±0.55 ^A
ME1	4.61±0.89 ^B	4.90±0.98 ^B	5.92±0.67 ^{AB}	7.09±0.85 ^A

Ortalama±standart sapma

(A-B): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Turhan ve arkadaşları [169], farklı konsantrasyonlarda (kontrol, %1.5, %3, %4.5 ve %6) arı poleni ilave ettikleri sığır eti köftelerinin TMAB sayılarını depolamanın başlangıcında 6.26-6.45 log kob/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Depolamanın sonunda bu değerler 7.94-819 log kob/g arasında değişiklik gösterirken; kontrol grup ve %1.5 arı polenli köftenin TMAB sayısı, %3, %4.5 ve %6 polenli köftelerin TMAB sayılarında fazla bulunmuş ve bu fazlalık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).



Şekil 4.11. Köftelerin TMAB sayısındaki değişimler

Ibrahim ve arkadaşları [170], kuzu eti köftesine farklı bitki ekstraktı ilavesinin (%0.1 jojoba ekstraktı, %0.1 jatropha ekstraktı,%0.25 ginseng ekstraktı ve %0.25 zencefil ekstraktı) köftenin mikrobiyolojik özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Kontrol grup köftenin toplam aerobik bakteri sayısının, 9 günlük depolama süresince 4.06'den 7.57 log kob/g'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Ekstraktlı köftelerin depolama başlangıcında toplam aerobik bakteri sayısı 4.06-4.33 log kob/g arasında değişirken; depolama sonunda 4.82-4.96 log kob/g arasında değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tombuloğlu [140], sığır eti köftesine %7.5 oranında farklı yöntemlerle elde ettiği siyah pirinç ekstraktını eklemiş ve mikrobiyolojik kalitesindeki değişimi gözlemlemiştir. Kontrol olarak ekstrakt içermeyen köfte ve pozitif kontrol olarak da %0.01 BHT içeren köfte analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda elde ettiği verilere göre; köftelerin başlangıç TMAB sayısının 5.02-5.57 log kob/g arasında değişiklik gösterdiğini ve gruplar arası farklılığın önemli bulunmadığını ($p>0.05$) bildirmiştir. Depolamanın 12. gününde de tüm köfte gruplarının 7.13-8.11 log kob/g arasında değişen TMAB sayıları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamsız bulunduğunu bildirirken; depolamanın 3, 6 ve 9. günlerinde gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Depolamanın 3, 6, 9 ve 12. günlerinde en düşük TMAB sayısına ultrason destekli ekstraksiyonla elde edilmiş siyah pirinç ekstraktı ilave edilmiş sığır eti köftesinin sahip olduğu bildirilmiştir.

Gök ve Bor [157], üç farklı ekstraktın (zeytin yaprağı, hünnap ve yabanmersini ekstraktı) farklı konsantrasyonlarının (500 ve 1000 ppm) sığır eti mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Depolama başlangıcında köftelerin TMAB sayısının 4.13-4.38 log kob/g arasında değişti bildirilmiştir. Depolama sonunda kontrol grup köftenin TMAB sayısının 8.09 log kob/g'a ulaşırken; en düşük TMAB sayısına 5.61 log kob/g ile 1000 ppm konsantrasyonunda hünnap ekstraktı ilave edilmiş sığır eti köftesinin sahip olduğu da belirtilmiştir.

Fruet ve arkadaşları [171], kontrol grup, %0.3 biberiye ekstraktı ilaveli, %0.25 acerola (Barbaros kirazı) ekstraktlı ve %0.6 sitrus ekstraktlı sığır eti köftelerinin mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir. 6 günlük depolama süresi boyunca, %0.3 biberiye ve %0.25

acerola ekstraktı ilaveli köftelerin TMAB sayısı kontrol grup ile istatistiksel olarak benzer bulunduğu bildirilirken; %0.6 sitrus ekstraktı ilaveli köftelerin TMAB sayısı kontrol grup köfteninkinden düşük bulunduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak önemli bulunduğu bildirilmiştir.

Yer fıstığı kabuğu (YFK) ekstraktının koyun eti köftesinin mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; kontrol grup köfte, 50 ppm BHT ilaveli grup ve 1000 ppm YFK ekstraktı ilaveli grup olmak üzere üç grup köfte üretilmiştir. 20 günlük depolama süresi boyunca toplam canlı mikroorganizma sayısında artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Depolamanın sonunda 500 ppm BHT ilaveli ve 1000 ppm YFK ile üretilmiş köftenin toplam canlı mikroorganizma sayısının kontrol grup köfteden az olduğu bildirilmiştir [172].

Turan ve Şimşek [153], farklı oranlarda (%0.1, %0.2, %0.4) kara dut ekstraktı kullanarak ürettikleri ve farklı yöntemlerle paketlenerek 15 gün depoladıkları sığır eti köftelerinin mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir. Aerobik paketlenerek depolanmış köftelerin TMAB sayılarının depolama başlangıcında 3.43-3.71 log kob/g arasında değiştiğini bildirirken; depolama sonunda bu değerlerin 7.77-8.39 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Depolama sonunda %0.2 ve %0.4 oranında ekstrakt ilave edilerek üretilmiş köftelerin TMAB sayısının; kontrol grup ve %0.1 ekstraktlı köftelerin TMAB sayısından düşük olduğu bildirilmiştir.

4.3.9. Toplam Maya-Küf (TMK) Sayısı

Mevcut çalışmada üretilen ve 9 gün soğukta depolanan köftelerin TMK sayımı sonuçları Çizelge 4.14.'te sunulduğu gibidir. Elde edilen veriler incelendiğinde farklı oranlarda ekstrakt ilave edilerek üretilmiş sığır eti köftelerinin TMK sayıları, depolamanın her gününde, istatistiksel olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kontrol grup köftenin TMK sayısı depolama başlangıcında 3.18 log kob/g olarak bulunurken; depolamanın 3. gününde bu değer 4.75 log kob/g'a; 6. gününde 6.23 log kob/g'a ve 9. gününde 7.20 log kob/g'a yükselmiştir. ME0.1 grubun depolama süresi

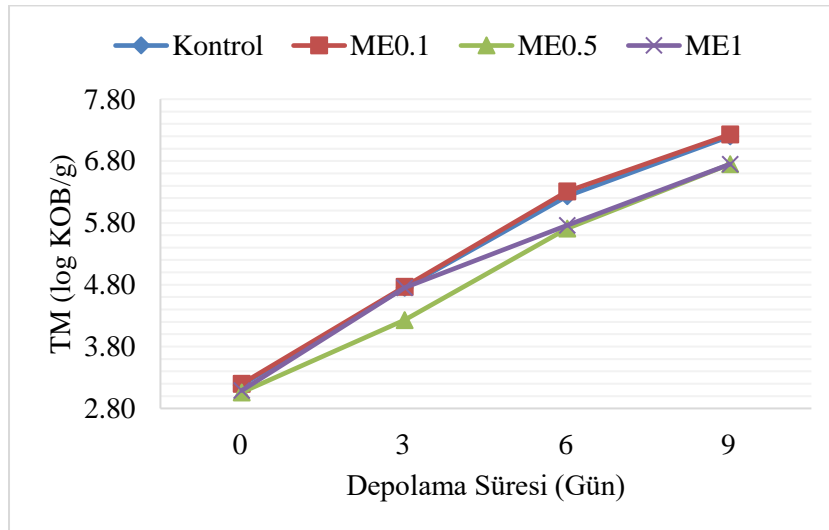
boyunca TMK sayıları 3.20-7.23 log kob/g arasında değişiklik gösterirken; ME0.5 grubun TMK sayılarının 3.06-6.75 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği; ME1 grup köftenin TMK sayısının ise 3.09-6.75 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği görülmektedir. Tüm köfte gruplarında TMK sayısı depolama süresi boyunca sürekli olarak artış göstermiştir. Bu artış tüm köfte gruplarında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama sonunda ME0.5 ve ME1 grup köftelerin TMK sayısı kontrol ve ME0.1 grubu köftelerin TMK sayısından düşük bulunmuştur. Fakat daha önce de belirtildiği gibi istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TMK sayılarındaki değişim Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin TMK sayıları

	0	3	6	9
Kontrol	3.18±0.34 ^D	4.75±0.49 ^C	6.23±0.22 ^B	7.20±0.19 ^A
ME0.1	3.20±0.41 ^D	4.77±0.39 ^C	6.31±0.28 ^B	7.23±0.07 ^A
ME0.5	3.06±0.34 ^D	4.23±0.38 ^C	5.71±0.37 ^B	6.75±0.27 ^A
ME1	3.09±0.32 ^D	4.75±0.38 ^C	5.76±0.32 ^B	6.75±0.34 ^A

Ortalama±standart sapma

(A-D): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.12. Köftelerin TMK sayısındaki değişimler

Sadeghinejad ve arkadaşları [155], sığır eti köftelerine farklı oranlarda (250, 500, 750 ve 1000 ppm) antep fıstığı kabuğu (yeşil) ekstraktı ilave etmişler ve 8 günlük soğukta depolama süresince bazı mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Depolama başlangıcında kontrol grup köfte de dahil tüm ekstraktlı köftelerin TMK sayılarının 2.67-2.77 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Depolamanın ilk iki günü köftelerin TMK sayısı arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz bulunduğu bildirilmiştir. Depolama süresi boyunca tüm gruplarının TMK sayısının sürekli olarak arttığı bildirilmiştir. Depolama sonunda en düşük TMK sayısına 4.02 log kob/g ile 1000 ppm konsantrasyonunda ekstrakt içeren köfte grubu olduğu bildirilmiştir. Ekstrakt ilavesinin köftelerin TMK sayısı üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ileri sürülmüştür.

Özkır Çevik [166], çalışmasında kontrol grup köftenin TMK sayısının 4.93-6.23 log kob/g arasında değişiklik gösterdiğini bildirilirken; %1 propolis ekstraktı içeren köftenin TMK sayısının 4.65-6.16 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Depolama başlangıcında tüm köfte gruplarının en düşük TMK sayısına sahip olduğu bildirilirken; depolama süresince TMK sayısının arttığı ve depolamanın son gününde en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmiştir. Farklı oranlarda propolis ekstraktı ilavesinin köftelerin TMK değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir.

Rubel ve arkadaşları [173], koyun eti köftesine farklı oranlarda ilave ettiği zeytin yaprağı ekstraktının ve depolama süresinin etkisini inceledikleri çalışmasında; ekstrakt konsantrasyonunun ve depolama süresinin TMK sayısı üzerinde istatistiksel olarak önemli etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Başlangıçta tüm köfte gruplarının TMK sayısının 1.77-1.97 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği bildirilirken; 10 günlük depolama sonunda 1.71-2.13 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir.

4.3.10. Duyusal Analiz

Köftelerin duyusal değerlendirilmesine ait sonuçlar Çizelge 4.15.'te verilmiştir. Köftelerin görünüş puanlarını ele alacak olursak; kontrol grubu köfte 7.16 puan alırken, ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplar sırası ile 6.60, 4.68, 3.88 puan almışlardır. Köfteye ekstrakt ilave edilmesi, görünüşte olumsuz etkiye sahip olmuştur. ME0.1 ile kontrol grubun görünüş puanları birbirleri ile istatistiki değerlendirmede benzer bulunurken ($p>0.05$), kontrol

grup ile ME0.5 ve ME1 gruplarının görünüş puanları birbirlerinden farklı bulunmuştur ($p<0.05$). ME0.5 ve ME1 grupları ise görünüş yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.15. Melocan ekstraktı ilave edilerek üretilmiş köftelerin duyusal analiz sonuçları

	Görünüş	Renk	Koku	Lezzet	Yapı (Tekstür)	Genel Beğeni
Kontrol	7.16±1.60 ^A	7.28±1.21 ^A	6.64±1.89 ^A	7.00±1.78 ^A	7.00±1.85 ^A	7.28±1.67 ^A
ME0.1	6.60±1.58 ^A	6.64±1.68 ^A	5.44±1.98 ^A	5.84±1.82 ^A	6.32±2.06 ^{AB}	5.88±1.90 ^B
ME0.5	4.68±1.97 ^B	4.80±1.85 ^B	3.80±1.85 ^B	3.56±1.71 ^B	4.72±2.19 ^{BC}	4.04±1.62 ^C
ME1	3.88±1.56 ^B	3.96±1.70 ^B	3.44±1.68 ^B	3.36±1.66 ^B	4.84±2.21 ^C	3.72±1.65 ^C

Ortalama±standart sapma

(A-C): Aynı satırdaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Görünüş puanları gibi renk değerlendirmesinde de en yüksek puanı 7.28 ile kontrol grup köfte almış ve bunu sırasıyla 6.64 puan ile ME0.1 grubu, 4.80 puan ile ME0.5 ve 3.96 puan ile ME1 grupları takip etmiştir. Kontrol ve ME0.1 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0.05$), kontrol ile ME0.5 ve ME1 grupları birbirlerinden farklı bulunmuştur ($p<0.05$). ME0.5 ve ME1 grupları ise birbirleri ile benzer bulunmuştur ($p>0.05$).

Tombuloğlu [140], siyah pirinç ekstraktı ilavesinin köfte kalite parametreleri üzerine etkisini incelemiştir. İnceleme sonucunda köfte formülasyonuna %5, 7.5 ve 10 oranlarında ekstrakt ilave edilmesinin köftelerin görünüş ve renk puanlarını etkilemediğini ileri sürmüştür. Çalışmada incelenen kontrol grubu köftenin renk ve görünüş puanı 7.67 iken; farklı yöntemlerle elde edilen ve farklı oranlarda ilave edilmiş siyah pirinç ekstraktlı köftelerin renk ve görünüş puanı 7.40-8.13 arasında değişiklik göstermiştir.

İlhan [174], dana kırıntı etini farklı oranlarda kullanarak ürettiği hamburger köftelere, %1.5 oranında ilave ettiği biberiye ekstraktının etkisini incelemiştir. Köftelerin görünüş

ve renk değerleri panelistler tarafından ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Görünüş puanları 7.06-7.26 arasında değişiklik gösterirken; renk puanları ise 6.96-7.43 arasında değişiklik göstermiştir.

Al-Juhaimi ve arkadaşları [167], farklı oranlarda argel yaprağı ekstraktının tavuk köfte üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmadan elde edilen verilere göre, depolamanın ilk gününde kontrol köftenin renk değeri 6.4 iken; %5 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede 7.0; %10 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede 6.9; %20 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede ise 7.7 olarak belirtilmiştir. Mevcut çalışmanın aksine; kullanılan argel yaprağı ekstraktı tavuk köftelerin rengini olumlu yönde etkilemiştir.

Bizim alışmamızda incelenen ekstraktlı köftelerin görünüş ve renk puanlarının kontrol grubuna göre düşük olduğu görülmektedir. Melocan ekstraktının köfteye vermiş olduğu görüntü ve renk panelist beğenisini olumsuz etkilemiştir. Özellikle ekstrakt oranı arttıkça bu olumsuzluğun da arttığı net bir Şekilde görülmektedir. Olumsuzluğun temel nedeninin ekstraktın yoğun yeşil renge sahip olması, dolayısıyla pişirildiğinde yanmış köfte görüntüsünü andıracak koyu yeşil renk almasıdır Fakat ME0.1 grubun kontrol grup ile istatistiksel olarak farkının bulunmaması, renginin ve görünüşünün kabul edilebilir olduğunu kanıtlamaktadır.

Mevcut çalışmada üretilen köftelerin koku puanları sırasıyla 6.64, 5.44, 3.80 ve 3.44 olarak belirlenmiştir. En yüksek puanı alan kontrol grup iken, ekstrakt oranı arttıkça koku puanında azalma meydana gelmiştir. İstatistiksel olarak kontrol grup ve ME0.1 grubu arasındaki fark önemsiz bulunurken ($p>0.05$); kontrol grup ile ME0.5 ve ME1 grupları arasında önemli farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). ME0.5 ve ME1 grupları ise birbirinden farksız bulunmuştur. Koku puanları göz önünde bulundurulduğunda, kontrol gruba en yakın puanı alan ME0.1 grubun kabul edilebilir olduğu açıkça görülmektedir.

Zahid ve arkadaşları [175], sığır eti köftesine doğal ve yapay antioksidan ilave ettikleri çalışmada kontrol grup köfte, %0.02 BHT ilaveli köfte, %0.05 askorbik asit ilaveli köfte ve %0.1 karanfil ekstraktı ilaveli köftede koku puanlarının sırası ile 1.00, 1.11, 1.18 ve

1.15 olduğunu belirtmiştir. Bu verilerle kıyaslandığında mevcut çalışmadan elde edilen koku puanlarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Tüketici beğenisini en çok etkileyen parametrelerden biri olan lezzet puanları incelendiğinde yine en yüksek puanı 7.00 ile kontrol grup köftenin aldığı, bunu 5.84 ile ME0.1 grubun takip ettiği görülmektedir. ME0.5 ve ME1 gruplara ait lezzet puanları ise sırasıyla 3.56 ve 3.36'dır. Ekstrakt oranı arttıkça köftelerin lezzet değerlerindeki düşüş dikkat çekmektedir. Kontrol ve ME0.1 grupların lezzet puanları arasındaki farkın önemli olmadığı bulunurken ($p>0.05$); kontrol grup ile ME0.5 ve ME1 grupları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı zamanda ME0.5 ve ME1 grupları da istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Turhan ve arkadaşları [169], farklı oranlarda arı poleni ilave köftelerde duyuşal değerlendirme yapmışlardır. Arı poleni içermeyen kontrol grup köftede lezzet puanı 7.55 iken; polen oranı arttıkça puanlar 6.10, 5.56, 4.44 ve 3.04 olmuştur. Mevcut çalışma ile benzer şekilde köfte formülasyonuna eklenen bileşenin oranı arttıkça lezzet puanında düşüş meydana gelmiştir.

Al-Juhaimi ve arkadaşları [167], depolamanın ilk gününde kontrol grup köftenin lezzet değeri 6.6 iken; %5 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede bu değerin 7.2; %10 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede 6.9; %20 argel yaprağı ekstraktı içeren köftede ise 6.7 olduğunu belirtmiştir. Mevcut çalışmanın aksine; kullanılan argel yaprağı ekstraktı tavuk köftelerin lezzetini olumlu yönde etkilemiştir.

Köfte örneklerinin tekstür puanları incelendiğinde en yüksek puanı ekstrakt içermeyen grubun aldığı, bunu sırasıyla ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplarının takip ettiği görülmektedir. Kontrol grup ile ME0.1 ve ME0.5 grupları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmazken ($p>0.05$); kontrol grup ile ME0.5 ve ME1 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Tekstür puanı açısından kontrol ile benzer özellik gösteren gruplar ME0.5 ve ME1'dir.

Panelistlerden bütün duyusal özellikleri dikkate alarak köftelere genel beğeni puanı vermeleri istenmiştir. Panelistlerin vermiş oldukları genel beğeni puanları kontrol grup, ME0.1, ME0.5 ve ME1 grupları için sırasıyla 7.28, 5.88, 4.04 ve 3.72'dir. Kontrol grup ve ME0.1 grubu birbirlerinden farklı bulunmazken ($p>0.05$); kontrol grup ile ME0.5 ve ME1 grupları birbirlerinden önemli düzeyde farklı bulunmuştur ($p<0.05$). ME0.5 ve ME1 gruplarının birbirlerinden farkı da istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Genel beğeni değerlendirme sonuçları ele alındığında kontrol gruba en yakın puanı alan grubun yine ME0.1 olduğu görülmektedir.

5. YORUM

Çalışma kapsamında; melocan (*Smilax excelsa* L.) bitkisinin farklı kısımları, Sc-CO₂ ile farklı koşullar denenerek ekstrakte edilmiş ve fenolik bileşik içeriği ile antioksidan kapasitesi incelenmiştir. En yüksek fenolik bileşik içeriği ve antioksidan kapasiteye sahip bitki kısmı, en verimli ekstraksiyon koşullarında ekstrakte edilerek sığır eti köftesine farklı konsantrasyonlar ilave edilmiş ve 4 °C'de depolama süresince köftelerin kalite karakteristikleri üzerine ekstraktın etkileri araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen önemli sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

- ✓ Melocan filizi, meyvesi ve yaprağı farklı koşullarda Sc-CO₂ ile ekstrakte edilmiştir. TFM, TAK ve TKM değeri yönünden en zengin bitki kısmı yaprak; ekstraksiyon koşulları ise 350 bar basınç ve 50 °C sıcaklık, %20 etanol konsantrasyonu ve 90 dk olarak belirlenmiştir. Belirtilen koşullarda üretilen melocan yaprağının TFM miktarı 2265.1 mg GAE/kg kuru örnek, TAK değeri 2876 mg TE/kg kuru örnek ve TKM değeri 133.76 mg KA/kg kuru örnek olarak tespit edilmiştir.
- ✓ Köfteye ilave edilmek üzere melocan yaprağının belirlenen koşullarda Sc-CO₂ ile seri ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktın TFM miktarı 2.06 mg GAE/g kuru örnek ve TAK değeri 1.75 mg TE/g kuru örnek olarak tespit edilmiştir.
- ✓ Ekstrakt kullanılarak üretilen köfte gruplarının ve kontrol grup köftenin nem, yağ, kül ve protein içeriği tespit edilmiş, kimyasal bileşimleri birbirlerinden önemli düzeyde farklı bulunmamıştır (p>0.05).
- ✓ Ekstrakt oranının ve sürenin köftelerin pH değerlerine etkisi istatistiki değerlendirmede önemli görülmemiştir (p>0.05).

- ✓ Ekstrakt oranının ve depolama süresinin sığır eti köftelerinin pişme verimine etkisi istatistiki değerdendirmed önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).
- ✓ Ekstrakt kullanımı soğukta depolama süresince köftelerin lipid oksidasyonunu geciktirmiştir. Depolamanın 3, 6 ve 9. günlerinde ME0.1, ME0.5 ve ME1 gruplarının TBARs miktarları kontrol gruptan istatistiksel olarak farklı bulunurken ($p<0.05$); birbirleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. 9 günlük soğukta depolama boyunca kontrol grup köftenin TBARs miktarı 2.46 MA/kg köfte'ye ulaşırken; ME0.1 grubun TBARs miktarı 1.39'a; ME0.5 grubun TBARs miktarı 0.92'ye ve ME1 grubun TBARs miktarı ise 1.00 mg MA/kg köfte'ye ulaşmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda; melocan ekstraktının ilave edilen her konsantrasyonda köftelerin lipid oksidasyonunu önemli düzeyde önlediği sonucuna varılmıştır.
- ✓ L^* , a^* , b^* , C ve h° renk değeri bakımından sığır eti köfteleri üzerine depolama süresinin ve ekstrakt konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ekstraktı konsantrasyonu arttıkça, köftelerin L^* , a^* ve C değerinde azalma, h° değerinde ise artma görülmüştür. Yani melocan ekstraktı köftelerin daha koyu, daha az kırmızı ve daha yeşil renkli olmasına sebep olmuştur. Depolama süresi boyunca ise; L^* ve a^* değerinde azalma, h° değerinde artma görülmüştür.
- ✓ Köftelerin TFM miktarı depolama süresi boyunca ve ekstrakt konsantrasyonu arttıkça artış göstermiştir. Köftelerin depolamanın 3, 6 ve 9. günlerindeki TFM değerlerinin birbirleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$); başlangıç TFM değeri ile aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı zamanda kontrol grup ve ME0.1 grubun TFM değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmazken; ME0.5 ve ME1 gruplarının birbirleri ve diğer köfte grupları ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

- ✓ Ekstrakt oranı arttıkça köftelerin TAK değerinde artış gözlemlenmiştir. Kontrol grup ve ME0.1 grubun farklılığı önemsiz bulunurken ($p>0.05$); ME0.5 ve ME1 gruplarının birbirleri ve diğer gruplar ile arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama süresi boyunca (depolamanın 6. günü hariç) köftelerin TAK değerlerinde düşüş meydana gelmiştir.
- ✓ Tüm köfte gruplarının TMAB sayılarında depolama süresi boyunca artış meydana gelmiştir. Depolamanın sonunda en düşük TMAB sayısına ME0.5 sahip iken; diğer gruplardan farkı anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).
- ✓ Tüm köfte gruplarının TMK sayılarına ekstrakt oranının etkisi önemsiz bulunurken ($p>0.05$); depolama süresinin etkisi istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).
- ✓ Duyusal özellikler bakımından üretilen köfte grupları arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Tüm duyusal özellikler bakımından en yüksek puanları kontrol grup köfte almıştır. Ekstrakt oranı arttıkça köfteler daha düşük puanlar almışlardır. Tüm duyusal özellikler değerlendirildiğinde, kontrol grup köfte ve ME0.1 grubu benzer bulunurken; ME0.5 ile ME1 grupları da birbirleri ile benzer bulunmuştur.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde; melocan bitkisinin en yüksek antioksidan kapasiteye ve fenolik bileşik içeriğine sahip ekstraktı 350 bar, 50 C, %20 etanol konsantrasyonu ve 90 dk koşullarında Sc-CO₂ ekstraksiyon yöntemiyle üretilen yaprak ekstraktıdır. Belirtilen koşullarda elde edilmiş melocan yaprağı ekstraktının sığır eti köftelerinde lipid oksidasyonunu önemli düzeyde önlediği ve antioksidan kapasiteyi artırdığı, dolayısıyla yapay antioksidanlara alternatif olabileceği de çıkarılan bir diğer önemli sonuçtur. Çalışmada en düşük ekstrakt konsantrasyonu olarak %0.1 belirlenmiş ve bu konsantrasyonda üretilen köftelerin hem duyusal özellikler yönünden kontrol gruba en yakın puanları alması hem de lipid oksidasyonunu bu konsantrasyonda dahi önemli ölçüde önlemesi nedeniyle %0.1 melocan yaprağı ekstraktının sığır eti köftelerinde kullanımı önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- [1] A. Öztan, Et Bilimi ve Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası, Ankara, **2017**.
- [2] H.-K. Biesalski, Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?, *Meat Science*, 70 (**2005**) 509-524.
- [3] D. Pighin, A. Pazos, V. Chamorro, F. Paschetta, S. Cunzolo, F. Godoy, V. Messina, A. Pordomingo, G. Grigioni, A Contribution of Beef to Human Health: A Review of the Role of the Animal Production Systems, *The Scientific World Journal*, (**2016**) 8681491.
- [4] D. Dave, A. E. Ghaly, Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6 (**2011**) 486-510.
- [5] J. M. Fernández-Ginés, J. Fernández-López, E. Sayas-Barberá, J. A. Pérez-Alvarez, Meat Products as Functional Foods: A Review, *Journal of Food Science*, 70 (**2005**) 37-43.
- [6] J. M. Lorenzo, P. E. Munekata, A. S. Sant'Ana, R. Baptista, F. J. Barba, F. Toldrá, L. Mora, M. A. Trindade, Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products, *Trends in Food Science & Technology*, 77 (**2018**) 1-10.
- [7] R. P. P. Fernandes, M. A. Trindade, F. G. Tonin, S. M. P. Pugine, C. G. Lima, J. M. Lorenzo, M. P. d. Melo, Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract, *Food Chemistry*, 233 (**2017**) 101-109.
- [8] Y. Kumar, D. N. Yadav, T. Ahmad, K. Narsaiah, Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (**2015**) 796-812.
- [9] S.-J. Kim, A. R. Cho, J. Han, Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation, *Food Control*, 29 (**2013**) 112-120.
- [10] M. Alía, C. Horcajo, L. Bravo, L. Goya, Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats, *Nutrition Research*, 23 (**2003**) 1251-1267.
- [11] P. E. S. Munekata, G. Rocchetti, M. Pateiro, L. Lucini, R. Domínguez, J. M. Lorenzo, Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: an overview, *Current Opinion in Food Science*, 31 (**2020**) 81-87.

- [12] I. Ignat, I. Volf, V. I. Popa, A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables, *Food Chemistry*, 126 (2011) 1821-1835.
- [13] A. Khoddami, M. A. Wilkes, T. H. Roberts, Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds, *Molecules*, 18 (2013) 2328-2375.
- [14] N. Kutlu, G. Yeşilören, A. İsci, Ö. Şakıyan, Konvansiyonel Ekstraksiyona Alternatif: Yeşil Teknolojiler, *Gıda*, 42 (2017) 514-526.
- [15] M. D. L. d. Castro, F. Priego-Capote, Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 2383–2389.
- [16] S. G. Jahromi, Extraction Techniques of Phenolic Compounds from Plants, *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*, IntechOpen, IntechOpen, 2019.
- [17] M. McHugh, V. Krukoniš, *Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice*, 2 ed., Butterworth-Heinemann, United States of America, 1994.
- [18] A. Sür, Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Ekstrakte Edilen Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Ektraktının ve Yağının İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, 2017.
- [19] N. Çolak, Y. Tülek, Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, *Gıda*, 28 (2003) 313-320.
- [20] M. D. L. d. Castro, M. V. Alcarcel, M. T. Tena, *Analytical Supercritical Fluid Extraction*, Springer, Spain, 1994.
- [21] Q. Lang, C. M. Wai, Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review, *Talanta*, 53 (2001) 771-782.
- [22] A. Şimşek, B. Kılıç, Et Ürünlerinde Kullanılan Fosfatların Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri, *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5 (2017) 299-307.
- [23] L. Ekici, İ. Öztürk, O. Sağdıç, H. Yetim, Et ve Et Ürünlerinde Baharatların Doğal Antioksidan ve Antimikrobiyel Olarak Kullanımı, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30 (2014) 66-72.
- [24] R. Yavaşer, Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans, Adnan Menderes Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Aydın, 2011.
- [25] İ. Saldamlı, Ü. Uygun, Gıda Katkı Maddeleri, in: İ. Saldamlı (Ed.) *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 625-671, 2017.
- [26] H. P. V. Rupasinghe, S. V.G.Nair, R. A. Robinson, Chemopreventive Properties of Fruit Phenolic Compounds and Their Possible Mode of Actions, *Studies in Natural Products Chemistry*, 229-266, 2014.

- [27] M. M. Vuolo, V. S. Lima, M. R. M. Junior, Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, in: M.R.S. Campos (Ed.) *Bioactive Compounds Health Benefits and Potential Applications*, Elsevier, Cambridge, MA, USA, 33-52, **2019**.
- [28] W. Vermerris, R. Nicholson, *Families of Phenolic Compounds and Means of Classification*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, **2006**.
- [29] J. Acar, V. Gökmen, Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri, in: İ. Saldamlı (Ed.) *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları 6. Baskı, Ankara, 557-590, **2017**.
- [30] B. Cemeroglu, A. Yemenicioğlu, M. Özkan, Meyve ve Sebzenin Bileşimi, in: B. Cemeroglu (Ed.) *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Başkent Klîşe Matbaacılık*, Ankara, **2004**.
- [31] T. Albishi, J. A. John, A. S. Al-Khalifa, F. Shahidi, Antioxidant, Anti-inflammatory and DNA Scission Inhibitory Activities of Phenolic Compounds in Selected Onion and Potato Varieties, *Journal of Functional Foods*, 5 (**2013**) 930-939.
- [32] E.-S. Park, W.-S. Moon, M.-J. Song, M.-N. Kim, K.-H. Chung, J.-S. Yoon, Antimicrobial Activity of Phenol and Benzoic Acid Derivatives, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47 (**2001**) 209-214.
- [33] J. N. Kabera, E. Semana, A. R. Mussa, X. He, Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Classification, Function and Pharmacological Properties, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 (**2014**) 377-392.
- [34] R. P. F. Guiné, *Bioactive Phenolic Compounds: Extraction Procedures and Methods of Analysis*, in: T. Garde-Cerdán, A. Gonzalo-Diago, E.P. Pérez-Álvarez (Eds.) *Analytical Chemistry and Microchemistry: Phenolic Compounds Types, Effects and Research*, Nova Science Publishers, USA, 57-89, **2017**.
- [35] X. Han, T. Shen, H. Lou, Dietary Polyphenols and Their Biological Significance, *International Journal of Molecular Sciences*, 8 (**2007**) 950-988.
- [36] I. Garaguso, M. Nardini, Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines, *Food Chemistry*, 179 (**2015**) 336-342.
- [37] M. D. Pandareesh, R. B. Mythri, M. M. S. Bharath, Bioavailability of Dietary Polyphenols: Factors Contributing to their Clinical Application in CNS Diseases, *Neurochemistry International*, 89 (**2015**) 198-208.
- [38] T. Swain, E. C. Bate-Smith, Flavonoid compounds, in: M. Florkin, H.S. Mason (Eds.) *Comparative Biochemistry*, Academic Press, New York, 755-809, **1962**.

- [39] J. B. Harborne, N. W. Simmonds, *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London, **1964**.
- [40] P. Ribéreau-Gayon, *Plant Phenolics*, Oliver and Boyd, Edinburgh, **1972**.
- [41] J. Acar, Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri, in: İ. Saldamlı (Ed.) *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 435-449, **1998**.
- [42] B. Cemeroglu, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, **2004**.
- [43] H. D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, *Food Chemistry*, Springer Science & Business Media, **2009**.
- [44] J. B. Harborne, C. A. Williams, *Advances in flavonoid research since 1992*, *Phytochemistry*, 55 (2000) 481-504.
- [45] M. D'Archivio, C. Filesi, R. D. Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, R. Masella, *Polyphenols, dietary sources and bioavailability*, *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 43 (2007) 348-361.
- [46] E. Atak, M. E. Uslu, Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri, *MCBÜ Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 27 (2018) 39-48.
- [47] S. Karakaya, S. N. El, Flavonoidler Ve Sağlık, *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 26 (1997) 54-60.
- [48] M. B. Y. Çimen, Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19 (1999) 296-304.
- [49] N. M. Nizamlioglu, S. Nas, Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5 (2010) 20-35.
- [50] Ö. A. Cavuldak, N. Vural, R. E. Anlı, Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu, *Gıda*, 41 (2016) 53-60.
- [51] B. K. Tiwari, *Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology*, *Trends in Analytical Chemistry*, 71 (2015) 100-109.
- [52] M. K. Khan, M. Abert-Vian, A.-S. Fabiano-Tixier, O. Dangles, F. Chemat, *Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols (Flavanone Glycosides) from Orange (Citrus sinensis L.) Peel*, *Food Chemistry*, 119 (2010) 851-858.
- [53] C. Y. Cheok, N. L. Chin, Y. A. Yusof, R. A. Talib, C. L. Law, *Optimization of Total Monomeric Anthocyanin (TMA) and Total Phenolic Content (TPC) Extractions from Mangosteen (Garcinia mangostana Linn.) Hull using Ultrasonic Treatments*, *Industrial Crops and Products*, 50 (2013) 1-7.

- [54] P. Özer, A. Görgüç, F. M. Yılmaz, Mikrodalga Teknolojisinin Bitkisel Dokulardan Makro ve Mikro Bileşenlerin Özütlemeinde Kullanımı, *Gıda*, 43 (2018) 765-775.
- [55] E. Nkhili, V. Tomao, F. Chemat, O. Dangles, H. E. Hajji, Microwave-assisted Water Extraction of Green Tea Polyphenols, *Phytochemical Analysis*, 20 (2009) 408-415.
- [56] L. M. Miller, J. D. Pinkston, L. T. Taylor, *Modern Supercritical Fluid Chromatography*, Wiley, United States of America, 2020.
- [57] M. Mukhopadhyay, *Natural Extract Using Supercritical carbon dioxide*, CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA, 2000.
- [58] L. Nuralın, Yağlı Tohumlardan Süperkritik Karbondioksit Yöntemiyle İlaç Etken Bileşenlerinin Özütlemei, *Gazi Üniversitesi, Kimya Mühendisliği*, Ankara, 2018.
- [59] M. L. Lee, K. E. Markides, *Chromatography with Supercritical Fluids*, Science, 235 (1987) 1342-1347.
- [60] S. Şahin, Zeytin Ağacı Yapraklarından Süperkritik-CO₂ ile Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropein Miktarının İncelenmesi, *İstanbul Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, Temel İşlemler ve Termodinamik Programı*, İstanbul, 2011.
- [61] M. D. L. d. Castro, M. Valcarcel, M. T. Tena, *Analytical Supercritical Fluid Extraction*, Springer, 1994.
- [62] J. M. Bayona, Off-line supercritical fluid extraction for solid matrices, in: E.D. Ramsey (Ed.) *Analytical Supercritical Fluid Extraction Techniques*, Springer, UK, 72-108, 1998.
- [63] M. S. Uddin, M. Z. I. Sarker, S. Ferdosh, M. J. H. Akanda, M. S. Easmin, S. H. B. Shamsudin, K. B. Yunus, Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (2015) 1385–1394.
- [64] W. K. Modey, D. A. Mulholland, M. W. Raynor, *Analytical Supercritical Fluid Extraction of Natural Products*, *Phytochemical Analysis*, 7 (1996) 1-15.
- [65] S. Dinçer, N. B. Acaralı, İ. N. Uzun, S. Deniz, A Second Option In Special Separation Operations: Supercritical Fluid Processes, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 25 (2007) 106-128.
- [66] M. A. M. Ariff, A. M. Yusri, N. A. A. Razak, J. Jaapar, Effect of CO₂ flow rate, co-solvent and pressure behavior to yield by supercritical CO₂ extraction of Mariposa Christia Vespertilionis leaves, 4th Electronic and Green Materials International Conference 2018, *AIP Conference Proceedings*, (2018) 1-7.

- [67] A. A. Clifford, J. R. Williams, Introduction to Supercritical Fluids and Their Applications, in: A.A. Clifford, J.R. Williams (Eds.), Humana Press, Totowa, New Jersey, 1-17, **2000**.
- [68] J. L. Martínez, S. W. Vance, Supercritical Extraction Plants: Equipment, Process, and Costs, in: J.L. Martínez (Ed.) Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds, CRC Press United States of America, 25-50, **2008**.
- [69] T. Ahmad, F. A. Masoodi, S. A. Rather, S. M. Wani, A. Gull, Supercritical Fluid Extraction: A Review, Journal of Biological and Chemical Chronicles, 5 (**2019**) 114-122.
- [70] G. Brunner, Supercritical Fluids: Technology and Application to Food Processing, Journal of Food Engineering, 67 (**2005**) 21-33.
- [71] M. Mukhopadhyay, Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide, CRC Press LLC, **2000**.
- [72] S. R. Sargenti, F. M. Lanzas, Influence of Extraction Mode and Temperature in the Supercritical Fluid Extraction of Citrus sinensis (Osbec), Journal of Chromatographic Science, 36 (**1998**) 169-174.
- [73] Anonim,
[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_\(Barron\)/03%3A_Principles_of_Gas_Chromatography/3.03%3A_Basic_Principles_of_Supercritical_Fluid_Chromatography_and_Supercritical_Fluid_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/03%3A_Principles_of_Gas_Chromatography/3.03%3A_Basic_Principles_of_Supercritical_Fluid_Chromatography_and_Supercritical_Fluid_Extraction) (Erişim Tarihi: **5 Nisan 2020**).
- [74] L. Xu, X. Zhan, Z. Zeng, R. Chen, H. Li, T. Xie, S. Wang, Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5 (**2011**) 1196-1211.
- [75] S. M. Pourmortazavi, S. S. Hajimirsadeghi, Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis Journal of Chromatography A, 1163 (**2007**) 2-24.
- [76] V. Louli, G. Folas, E. Voutsas, K. Magoulas, Extraction of parsley seed oil by supercritical CO₂, Journal of Supercritical Fluids, 30 (**2004**) 163-174.
- [77] I. Zizovic, M. Stamenić, A. Orlović, D. Skala, Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: Mathematical modelling on the micro-scale, Journal of Supercritical Fluids 39 (2007) 338–346, 39 (**2007**) 338-346.
- [78] M. Ergüt, Portakal ve Limon Posasındaki Fenolik Maddelerin Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, Mersin Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Mersin, **2015**.

- [79] S. B. Hawthorne, A. B. Galy, V. O. Schmitt, D. J. Miller, Effect of SFE Flow Rate on Extraction Rates: Classifying Sample Extraction Behavior, *Analytic Chemistry* 67 (1995) 2723-2732.
- [80] A. Çalıklı, *Susam Yağının Süperkritik Akışkanlar ile Ekstraksiyonu ve Matematik Modelleme*, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara, 2007.
- [81] İ. H. Adil, H. İ. Çetin, M. E. Yener, A. Bayındırlı, Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts, *Journal of Supercritical Fluids*, 43 (2007) 55-63.
- [82] E. Büyüktuncel, Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32 (2012) 209-242.
- [83] M. G. Bernardo-Gil, R. Roque, L. B. Roseiro, L. C. Duarte, F. Gírio, P. Esteves, Supercritical extraction of carob kibbles (*Ceratonia siliqua* L.), *The Journal of Supercritical Fluids*, 59 (2011) 36-42.
- [84] R. Murga, R. o. Ruiz, S. Beltra'n, J. L. Cabezas, Extraction of Natural Complex Phenols and Tannins from Grape Seeds by Using Supercritical Mixtures of Carbon Dioxide and Alcohol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (2000) 3408–3412.
- [85] F. L. Floch, M. T. Tena, A. Rı'os, M. Valca'reel, Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves, *Talanta*, 46 (1998) 1123-1130.
- [86] T. Vatai, M. Škerget, Z. e. Knez, Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide, *Journal of Food Engineering*, 90 (2009) 246-254.
- [87] L. L. M. Marques, G. P. Panizzon, B. A. A. Aguiar, A. S. Simionato, L. Cardozo-Filho, G. Andrade, A. G. d. Oliveira, T. A. GuedeS, J. C. P. d. Mello, Guaraná (*Paullinia cupana*) seeds: Selective supercritical extraction of phenolic compounds, *Food Chemistry*, 212 (2016) 703-711.
- [88] K. Ghafoor, J. Park, Y.-H. Choi, Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 (2010) 485-490.
- [89] Z. D. Zulkafli, H. Wang, F. Miyashita, N. Utsumi, K. Tamura, Cosolvent-modified supercritical carbon dioxide extraction of phenolic compounds from bamboo leaves (*Sasa palmata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 94 (2014) 123-129.
- [90] S.-C. Raúl, H.-C. Beatriz, L.-G. Joseoziel, S.-S. N. Francenia, Phenolic Compounds in Genus Smilax (Sarsaparilla), in: M. Soto-Hernández, M.P.

- Tenango,R. García-Mateos (Eds.) Phenolic Compounds: Natural Sources, Importance and Applications, Intech: Rijeka, Croatia, 233-260, **2017**.
- [91] N. Tanker, M. Koyuncu, M. Coşkun, Farmasötik Botanik Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, **1993**.
- [92] P. H. Davis, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Ediburgh, **1984**.
- [93] H. Lee, J.-Y. Lin, Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine, Mutation Research/Genetic Toxicology, 204 (**1988**) 229-234.
- [94] A. Rugna, J. Polo, P. Evelson, A. A. Gurni, S. Llesuy, M. L. Wagner, Antioxidant Activity In Rhizomes From Smilax Campestris Griseb. Smilacaceae, Molecular Medicinal Chemistry, 1 (**2013**) 21-25.
- [95] M. Zubair, K. Rizwan, U. Rashid, R. Saeed, A. A. Saeed, N. Rasool, M. Riaz, GC/MS profiling, in vitro antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of Smilax macrophylla leaves, Arabian Journal of Chemistry, 10 (**2017**) 1460-1468.
- [96] L.-S. Wu, X.-J. Wang, H. Wang, H.-W. Yang, A.-Q. Jia, Q. Ding, Cytotoxic polyphenols against breast tumor cell in Smilax china L., Journal of Ethnopharmacology, 130 (**2010**) 460-464.
- [97] R. Bhati, A. Singh, V. A. Saharan, A. Bhandari, V. Ram, Pharmacognostical standardization, extraction and anti- diabetic activity of Smilax china L. rhizome, Asian Journal of Traditional Medicines, 6 (**2011**) 218-223.
- [98] J. Xu, X. Li, P. Zhang, Z.-L. Li, Y. Wang, Antiinflammatory constituents from the roots of Smilax bockii warb, Archives of Pharmacal Research, 28 (**2005**) 395-399.
- [99] X.-S. Shu, Z.-H. Gao, X.-L. Yang, Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Smilax china L. aqueous extract, Journal of Ethnopharmacology, 103 (**2006**) 327-332.
- [100] E. Yeşilada, E. Sezik, G. Honda, Y. Takeda, Y. Takaishi, T. Tanaka, Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia, Journal of Ethnopharmacology, 64 (**1999**) 195-210.
- [101] A. Ivanova, B. Mikhova, I. Kostova, L. Evstatieva, Bioactive Chemical Constituents From Smilax Excelsa, Chemistry of Natural Compounds, 46 (**2010**) 295-297.
- [102] Anonim, <https://www.cabi.org/isc/datasheet/117217> (Erişim Tarihi: **9 Nisan 2020**).

- [103] S. Akar, Farklı Ortamlarda Gelişen Smilax Excelsa L. (Liliaceae) daki Makroelementlerin Mevsimsel Değişimi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, **2007**.
- [104] Ö. Ş. Yıldız, F. Ayanoğlu, N. P. Bahadırılı, Some Morphological and Chemical Characteristics of Sarsaparilla (Smilax aspera L., Smilax excelsa L.), Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23 (**2018**) 254-261.
- [105] Anonim, <https://www.hayatmutfakta.com/2018/11/kirli-kan-temizleyen-bitki-bulundu.html> (Erişim Tarihi: **9 Nisan 2020**).
- [106] Ö. Şahin, Melocan (Smilax Excelsa L.) Bitkisinin Farklı Kısımlarının Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon ile Elde Edilen Bileşenlerinin Tanımlanması, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, **2019**.
- [107] E. Efe, E. Yalçın, K. Çavuşoğlu, Antimutagenic and Multi-Biological Activities of Smilax excelsa L. Fruit Extract, Cumhuriyet Science Journal, 40 (**2019**) 440-446.
- [108] A. Ivanova, E. Marinova, A. Toneva, I. Kostova, Antioxidant properties of Smilax excelsa, Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse, 83 (**2006**) 124-128.
- [109] A. Ivanova, B. Mikhova, I. Klaiber, D. Dinchev, I. Kostova, Steroidal saponins from Smilax excelsa rhizomes, Natural Product Research, 23 (**2009**) 916-924.
- [110] P. Khaligh, P. Salehi, M. M. Farimani, S. Ali-Asgari, M. A. Esmaili, S. N. Ebrahimi, Bioactive compounds from Smilax excelsa L., Journal of the Iranian Chemical Society, 13 (**2016**) 1055-1059.
- [111] N. Özsoy, A. Okyar, A. Can, Ş. Bolkent, P. Arda-Pirinçci, N. Akev, Evaluation of Smilax excelsa L. Use in Experimentally Induced Nephrotoxicity, Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 19 (**2013**) 807-814.
- [112] T. Özen, Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey, Grasas y Aceites, 61 (**2010**) 86-94.
- [113] E. Miser-Salihoğlu, G. Akaydın, E. Çalışkan-Can, S. Yardım-Akaydın, Evaluation of Antioxidant Activity of Various Herbal Folk Evaluation Medicine, FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 35 (**2010**) 59-67.
- [114] H. Dehghan, Y. Sarrafi, P. Salehi, Antioxidant and antidiabetic activities of 11 herbal plants from Hyrcania region, Iran, Journal of Food and Drug Analysis, 24 (**2016**) 179-188.
- [115] E. Efe, Smilax excelsa L. Meyve Ekstrelerinin Antimutajenik, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, Giresun Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, **2017**.

- [116] H. Özdemir, Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkileri, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, **2013**.
- [117] E. Balıkçı, Kekik, Biberiye ve Fesleğenden Elde Edilen Ekstraktların, Dondurulmuş (-18°C) ve Soğukta (4±2°C) Vakum Paketlenerek Depolanmış Uskumru (*Scomber Scombrus*) Köftelerinin Kalite Parametreleri Üzerine Etkileri, Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Adana, **2015**.
- [118] T. B. Kaya, Yaban Mersini Ekstraktı İlaveli Sazan Balığı (*Cyprinus Carpio*, Linnaeus, 1758) Köftelerinin Raf Ömrünün Belirlenmesi, Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Elazığ, **2019**.
- [119] F. Işıklı, Soğukta ve Dondurularak Depolanan Köfte Kalitesine Maviyemiş Ekstraktının Etkisi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, **2014**.
- [120] T. T. Çelik, Enginar (*Cynara Scolymus*) Yapağı Ekstraktı İlave Edilen Sardalya (*Sardina Pilchardus Walbaum*, 1792) Balığı Kadınbudu Köftelerinin Raf Ömrünün Belirlenmesi, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Anabilim Dalı, **2018**.
- [121] F. Özen, Bitkisel Ekstrakt Kullanımının Tekirdağ Köftesinin Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi, Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ, **2008**.
- [122] E. B. Özvural, H. Vural, The Effects of Grape Seed Extract on Quality Characteristics of Frankfurters, *Journal of Food Processing and Preservation*, 36 (2012) 291-297.
- [123] A. Nowak, A. Czyzowska, M. Efenberger, L. Krala, Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products, *Food Microbiology*, 59 (2016) 142-149.
- [124] Anonim, Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists (AOAC), (Loose-Leaf). Arlington, **1995**.
- [125] F. Shahidi, M. Naczk, Phenolics in food and nutraceuticals, CRC Press, **2003**.
- [126] B. Akdeniz, G. Şümnü, S. Şahin, Microencapsulation of phenolic compounds extracted from onion (*Allium cepa*) skin, *Journal of Food Process Preservation*, 42 (2018) 13648.
- [127] A. Periche, M. L. Castelló, A. Heredia, I. Escriche, Effect of different drying methods on the phenolic, flavonoid and volatile compounds of *Stevia rebaudiana* leaves, *Flavour Fragr. J.*, 31 (2016) 173-177.

- [128] Anonim, Official Methods of Analyses, Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, **2000**.
- [129] H. Vural, A. Öztan, Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Klavuzu, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, **1996**.
- [130] H. Ulu, Effects of carrageenan and guar gum on the cooking and textural properties of low fat meatballs, Food Chemistry, 95 (**2006**) 600-605.
- [131] M. B. Mielnik, E. Olsen, G. Vogt, D. Adeline, G. Skrede, Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat, LWT, 39 (**2006**) 191-198.
- [132] S. S. Turgut, F. Işıklı, A. Soyer, Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beefmeatballs during frozen storage, Meat Science, 129 (**2017**) 111-119.
- [133] H. Ergezer, M. Serdaroğlu, Antioxidant potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts extracts in raw beef patties during refrigerated storage, Journal of Food Measurement and Characterization, 12 (**2018**) 982-991.
- [134] F. Fratianni, L. D. Martino, A. Melone, V. D. Feo, R. Coppola, F. Nazzaro, Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils, Journal of Food Science, 75 (**2010**) 528-535.
- [135] A. K. Halkman, Mikroorganizma Analizleri, in: A.K. Halkman (Ed.) Gıda Mikrobiyolojisi, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, **2019**, p. 648.
- [136] T. A. Onoğur, Y. Elmacı, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, **2005**.
- [137] N. Ozsoy, A. Can, R. Yanardag, N. Akev, Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts, Food Chemistry, 110 (**2008**) 571-583.
- [138] F. Öz, Effects of Water Extract of *Urtica Dioica* L. on the Quality of Meatballs, Journal of Food Processing and Preservation, 38 (**2013**) 1356-1363.
- [139] B. Šojić, V. Tomović, S. Kocić-Tanackov, D. B. Kovačević, P. Putnik, Ž. Mrkonjić, S. Đurović, M. Jakanović, M. Ivić, S. Škaljac, B. Pavlić, Supercritical extracts of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) by-product as natural antioxidants in ground pork patties, LWT-Food Science and Technology, 130 (**2020**) 109661.
- [140] H. Tombuloğlu, Siyah Pirinç Ekstraktlarının Köftelerin Lipit Oksidasyonu, Renk Stabilitesi ve Mikrobiyal Kalitesi Üzerine Etkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun, **2021**.

- [141] M. Karpińska-Tymoszczyk, Effect of the addition of ground rosemary on the quality and shelf-life of turkey meatballs during refrigerated storage, *British Poultry Science*, 49 (2008) 742-750.
- [142] R. T. Heck, D. F. Ferreira, M. B. Fagundes, B. A. D. Santos, A. J. Cichoski, E. Saldaña, J. M. Lorenzo, C. R. d. Menezes, R. Wagner, J. S. Barin, P. C. B. Campagnol, Jabuticaba peel extract obtained by microwave hydrodiffusion and gravity extraction: A green strategy to improve the oxidative and sensory stability of beef burgers produced with healthier oils, *Meat Science*, 170 (2020) 108230.
- [143] A. B. Falowo, V. Muchenje, A. Hugo, O. A. Aiyegoro, P. O. Fayemi, Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage, *CYTA-Journal of Food*, 15 (2017) 249-256.
- [144] N. Saba, M. Hashem, M. Azad, M. Hossain, M. Khan, Effect of bottle gourd leaf (*Lagenaria siceraria*) extract on the quality of beef meatball, *Bangladesh Journal of Animal Science*, 47 (2018) 105-113.
- [145] I. Jahan, M. A. Haque, M. A. Hashem, F. J. Rima, S. Akhter, M. A. Hossain, Formulation of value added beef meatballs with pomegranate (*Punica granatum*) extract as a source of natural antioxidant. *Journal of Meat Science and Technology*, *Journal of Meat Science and Technology*, 6 (2018) 12-18.
- [146] Y. Yin, L.-j. Xing, G.-h. Zhou, W.-g. Zhang, Antioxidative and Antibacterial Activities of Rosemary Extract in Raw Ground Pork Patties, *Journal of Food and Nutrition Research*, 4 (2016) 806-813.
- [147] S. Al-Kutby, Applications of spice extracts and other hurdles to improve microbial safety and shelf- life of cooked, high fat meat products (doner kebab). School of Biomedical and Biological Sciences Faculty of Science and Technology, University of Plymouth, Plymouth, 2012.
- [148] C. Faustman, Q. Sun, R. Mancini, S. P. Suman, Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control, *Meat Science*, 86 (2010) 86-94.
- [149] E. Beltran, R. Pla, J. Yuste, M. Mor-Mur, Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values, *Meat Science*, 64 (2003) 19-25.
- [150] B. Tarladgis, A. Pearson, L. Dugan, The chemistry of the 2-TBA test for the determination of oxidative rancidity in foods. Formation of the TBA-Malonaldehyde Complex without Acid-Heat Treatment, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 15 (1964) 602-607.

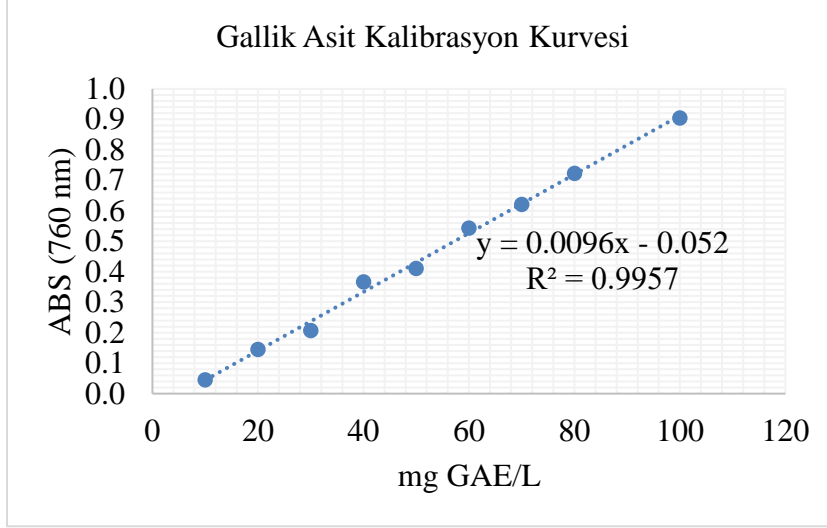
- [151] S. S. Turgut, A. Soyer, F. Işıklı, Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage, *Meat Science*, 116 (2016) 126-132.
- [152] H. Özdemir, A. Soyer, Ş. Tağı, M. Turan, Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyel ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkisi, *Gıda*, 39 (2014) 355-362.
- [153] E. Turan, A. Şimşek, Effects of lyophilized black mulberry water extract on lipid oxidation, metmyoglobin formation, color stability, microbial quality and sensory properties of beef patties stored under aerobic and vacuum packaging conditions, *Meat Science*, 178 (2021) 108522.
- [154] J. G. Rodríguez-Carpena, D. Morcuende, M. Estévez, Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage, *Meat Science*, 89 (2011) 166-173.
- [155] N. Sadeghinejad, R. A. Sarteshnizi, H. A. Gavlighi, M. Barzegar, Pistachio green hull extract as a natural antioxidant in beef patties: Effect on lipid and protein oxidation, color deterioration, and microbial stability during chilled storage, *LWT - Food Science and Technology*, 102 (2019) 393-402.
- [156] H. Zhang, Y. Liang, X. Li, H. Kang, Antioxidant extract from cauliflower leaves effectively improve the stability of pork patties during refrigerated storage, *Journal of Food Process Preservation*, 44 (2020) 14510.
- [157] V. Gök, Y. Bor, Effect of olive leaf, blueberry and Zizyphus jujuba extracts on the quality and shelf life of meatball during storage, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10 (2012) 190-195.
- [158] S. Bañón, P. Díaz, M. Rodríguez, M. D. Garrido, A. Price, Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties, *Meat Science*, 77 (2007) 626-633.
- [159] I. Markovic, J. Ilic, V. Simonovic, D. Markovic, N. Kosanic, Color Measurement of Food Products Using CIE L*a*b* and RGB Color Space, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4 (2013) 50-53.
- [160] A. Üren, Üç Boyutlu Renk Ölçme Yöntemleri, *Gıda*, 24 (1999) 193-200.
- [161] G. Haskaraca, Sous Vide Teknolojinin Dönerin Kalite Karakteristikleri ve Depolama Stabilitésine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, 2017.
- [162] R. E. Wrolstad, D. E. Smith, *Color Analysis, Food Analysis*, Springer, USA, 545-555, 2017.

- [163] P. B. Pathare, U. L. Opara, F. A.-J. Al-Said, Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review, *Food Bioprocess Technology*, 6 (2013) 36-60.
- [164] J. Ferna'ndez-Lo'pez, N. Zhi, L. Aleson-Carbonell, J. A. Pe'rez-Alvarez, V. Kuri, Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs, *Meat Science*, (2005) 371-380.
- [165] S. Arslan, Hayıt Tohumu (*Vitex Agnus-Castus L.*) Tozunun Sığır Köftelerinin Çeşitli Kalite Özellikleri Ve Raf Ömrü Üzerine Etkisinin Araştırılması, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Nevşehir, 2021.
- [166] A. Ç. Özkır, Doğal Bir Antimikrobiyel ve Antioksidan Olan Propolisin Köfte Üretiminde Kullanımı, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ, 2021.
- [167] F. Y. Al-Juhaimi, S. A. Shahzad, A. S. Ahmed, O. Q. Adiamo, I. A. M. Ahmed, O. N. Alsawmahi, K. Ghafoor, E. E. Babiker, Effect of Argel (*Solenostemma argel*) leaf extract on quality attributes of chicken meatballs during cold storage, *Journal of Food Science and Technology*, 55 (2018) 1797-1805.
- [168] H. Keşkekoğlu, A. Üren, Inhibitory effects of grape seed extract on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef and chicken meatballs cooked by different techniques, *International Journal of Food Properties*, 20 (2017) 722-734.
- [169] S. Turhan, F. Yazici, F. T. Saricaoğlu, M. Mortas, H. Genccelep, Evaluation of the Nutritional and Storage Quality of Meatballs Formulated with Bee Pollen, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34 (2014) 423-433.
- [170] H. M. Ibrahim, A. A. Abou-Arab, F. M. A. Selam, Addition of Some Natural Plant Extracts and their Effects on Lamb Patties Quality, *Journal of Food Technology*, 8 (2010) 134-142.
- [171] A. P. B. Fruet, J. L. Nörnberg, C. R. Calkins, A. D. Mello, Effects of different antioxidants on quality of beef patties from steers fed low-moisture distillers grains, *Meat Science*, 154 (2019) 119-125.
- [172] P. E. S. Munekata, R. d. P. P. Fernandes, M. P. d. Melo, M. A. Trindade, J. Manuel Lorenzo, Influence of peanut skin extract on shelf-life of sheep patties, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6 (2016) 586-596.
- [173] S. A. Rubel, Z. N. Yu, H. M. Murshed, S. M. A. Islam, D. Sultana, S. M. E. Rahman, J. Wang, Addition of olive (*olea europaea*) leaf extract as a source of natural antioxidant in mutton meatball stored at refrigeration temperature, *Journal of Food Science and Technology*, 58 (2021) 4002-4010.

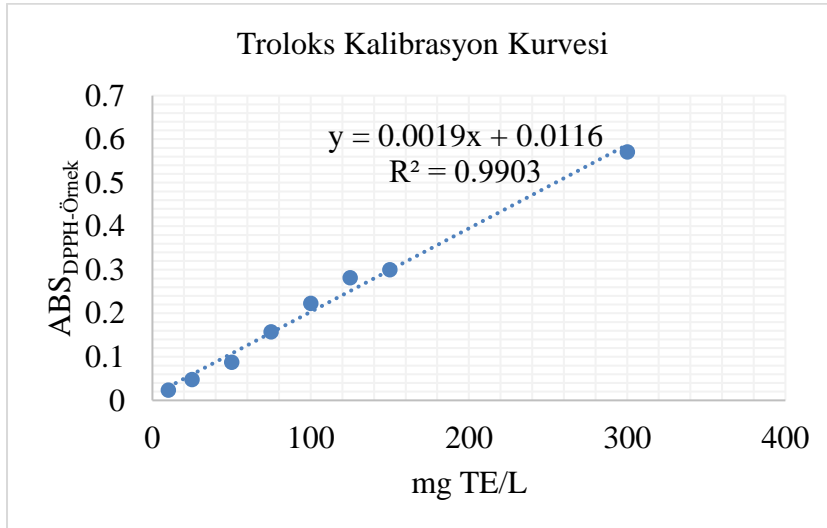
- [174] E. İlhan, Farklı Oranlarda Dana Kırıntı Eti ile Formüle Edilmiş Hamburger Köftelerinde Biberiye Ekstraktı İlavesinin Depolama Stabilitesi Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, **2010**.
- [175] M. A. Zahid, J. Y. Choi, J.-K. Seo, R. Parvin, J. Ko, H.-S. Yang, Effects of clove extract on oxidative stability and sensory attributes in cooked beef patties at refrigerated storage, *Meat Science*, 161 (**2020**) 107972.

EKLER

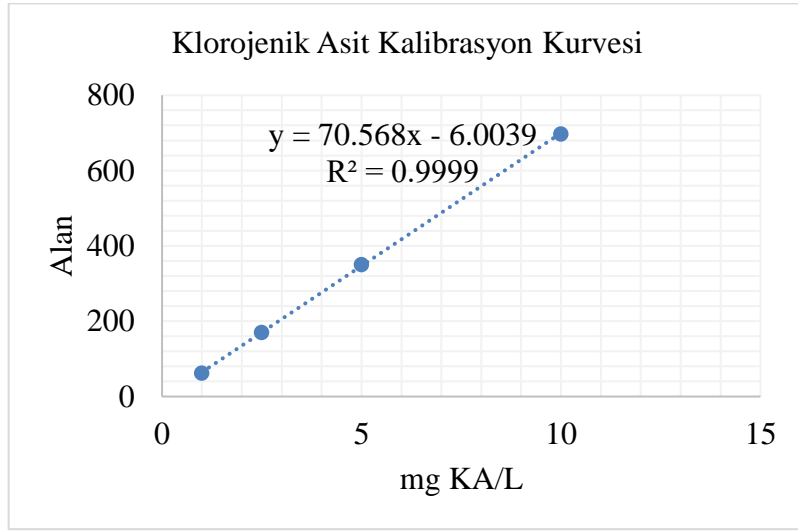
EK 1 - Kalibrasyon Kurveleri



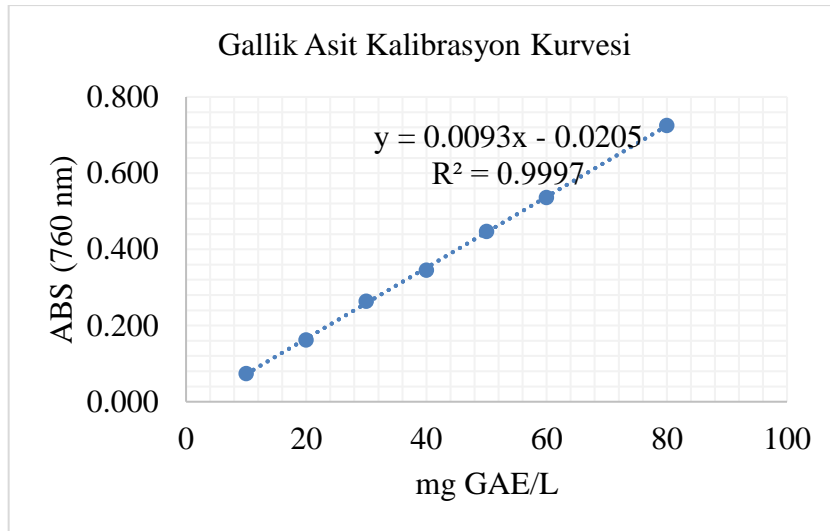
Şekil-1 Gallik asit kalibrasyon kurvesi



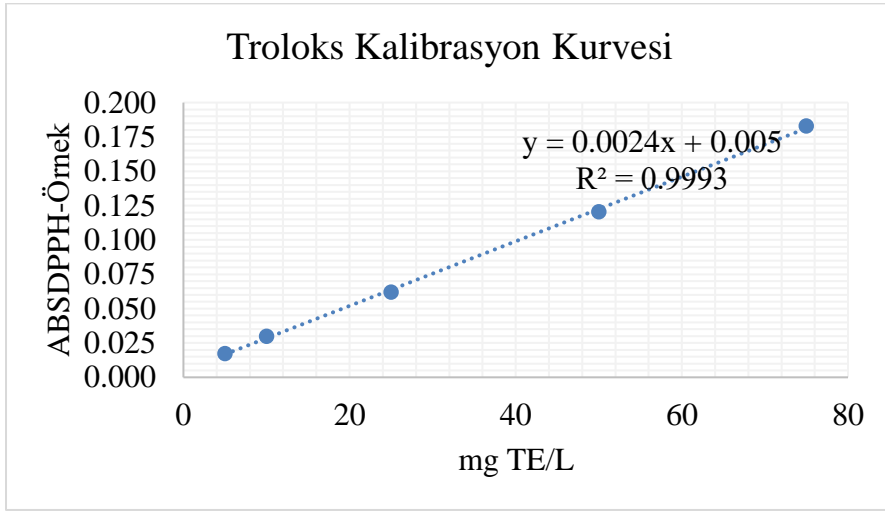
Şekil-2 Troloks Kalibrasyon Kurvesi



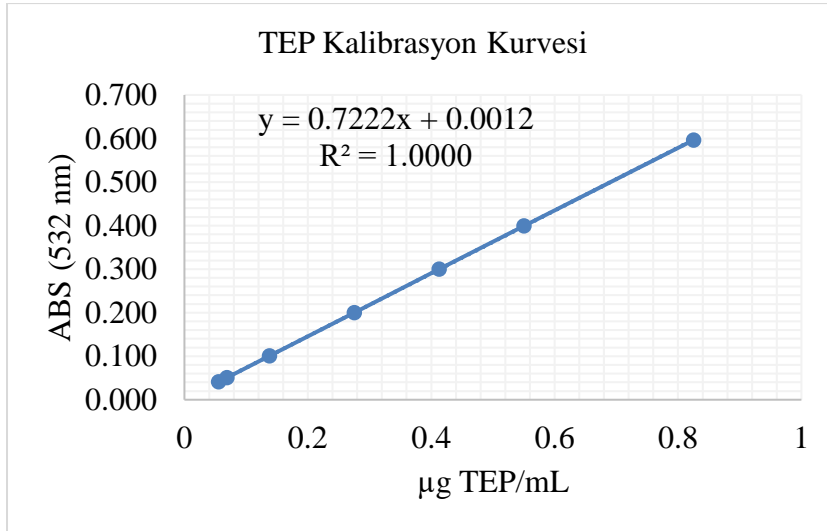
Şekil-5 Klorojenik Asit Kalibrasyon Kurvesi



Şekil-4 Gallik asit kalibrasyon kurvesi



Şekil-5 Troloks kalibrasyon kurvesi



Şekil-6 TEP kalibrasyon Kurvesi

EK 2 – Duyusal Analiz Formu

KÖFTE DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Panelist Adı Soyadı:

Tarih:/..../.....

- ✓ Her örnek için belirtilen skaladan muhakkak bir numara kodlanmalıdır.
- ✓ Tadım yaparken, bir önceki örnekten sonra ağızınızda kalan tadı su ve galeta ile gideriniz.

Örnek	Görünüş	Renk	Koku	Lezzet	Yapı (Tekstür)	Genel Beğeni

9	Mükemmel
8	Çok iyi
7	İyi
6	Ortanın üstü
5	Orta
4	Ortanın altı
3	Kötü
2	Çok kötü
1	Son derece kötü

Ek Notlar: