

J Food Health Sci

Vol. 1 Issue 1 2015

E-ISSN 2149-0473

**Journal of
Food and Health Science**



**ScientificWebJournals
(SWJ)**

Journal of Food and Health Science

E- ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

© 2014 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

is published in one volume of four issues per year by

www.ScientificWebJournals.com

Contact e-mail: jfhs@scientificwebjournals.com and ozkanozden@scientificwebjournals.com

Aims and Scope

“**Journal of Food and Health Science**” publishes peer-reviewed articles that cover all aspects of **food** and **health science** in the form of review articles, original articles, and short communications. Peer-reviewed open access journal published quarterly articles in English or Turkish language.

General topics for publication include, but are not limited to the following fields:

- Food Science/Technology
- Food Chemistry/Microbiology
- Food Packaging/Packaging Materials/Migration
- Food Safety/Hygiene/Quality Assurance/Control
- Hazard/Risk Detection/Analysis/Management/Manufacturing Practices
- Genetically Modified Food
- Functional Foods/Dietary Supplements/
- Nutrition and Child Development/ Nutrition in Pregnancy/ Nutrition and Age/ Nutrition and Cancer/Nutrition and Chronic Diseases /
- Food Allergen/Chemical Contaminants
- Population and Demographic transitions in Nutrition/Social Determinants of Nutrition
- Nutrient Data/Bioavailability/Trace Elements/
- Human Nutrition and Health Sciences/Epidemiology/Micronutrients
- Energy/Metabolism/Physical Activity/Exercise/Sport Nutrition
- Public Health/Diet Selection/Obesity/Food Poisoning and Outbreaks/ Therapies/
- Public Health Governance/Food Security/Nutrition Policies
- Clinical Nutrition

Chief editor:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Vice editor:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN,

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Cover photo:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Editorial board:

Prof. Dr. Haluk ANIL

University of Bristol, Faculty of Medical and Veterinary Sciences, England

Prof. Dr. Ali AYDIN

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Bhesh BHANDARI

University of Queensland, Faculty of Science, Australia

Prof. Dr. Cem ÇETİN

Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Turkey

Prof. Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Frerk FELDHUSEN

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Rostock, Germany

Prof. Dr. Carsten HARMS

Applied Univ. Bremerhaven, Bremerhavener Institute of Biological Information Systems, Germany

Prof. Dr. Fahrettin GÖĞÜŞ

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ

Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Esra İBANOĞLU

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Zdzislaw E. SIKORSKI

Gdańsk University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Food Chemistry,
Technology, and Biotechnology, Poland

Prof. Dr. Krzysztof SURÓWKA
University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Poland

Prof. Dr. Muhittin TAYFUR
University of Başkent, Faculty of Health Sciences, Turkey

Prof. Dr. Aydın YAPAR
University of Pamukkale, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Turkey

Prof. Dr. Hasan YETİM
University of Erciyes, Department of Food Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Engineering and Architecture,
Department of Food Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Joko Nugroho Wahyu KARYADI
Gadjah Mada University, Faculty of Agricultural Technology, Indonesia

Assoc. Prof. Dr. Abdullah ÖKSÜZ
University of Necmettin Erbakan, Faculty of Health Sciences, Turkey

Dr. Alaa El-Din A. BEKHIT
University of Otago, Department of Food Science, New Zealand

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: J Food Health Sci

© 2014 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

Vol. 1 Issue 1 Page 1-66 (2015)

Table of Contents/İçerik

- SU ÜRÜNLERİ KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE KOKU ALGILAMA SENSÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI**
(Developments and Applications of Olfactory Sensors in the Evaluation of the Fishery's Quality)
Seda Oğur
pp. 1-11
DOI: 10.3153/JFHS15001
- SUITABILITY OF CORN HUSK AND COW DUNG AS ALTERNATIVES TO FUEL WOOD FOR SMOKING FISH**
Victoria Offuene Tihamiyu, Victor Tosin Komoda
pp. 12-18
DOI: 10.3153/JFHS15002
- PESTICIDE RISKS OF SEAFOOD IN TURKEY**
Şafak Ulusoy, Özkan Özden
pp. 19-32
DOI: 10.3153/JFHS15003
- USE OF NATURAL PRESERVATIVES IN SEAFOOD: PLANT EXTRACTS, EDIBLE FILM AND COATING**
Nuray Erkan, Hande Doğruyol, Ali Günlü, İsmail Yüksel Genç
pp. 33-49
DOI: 10.3153/JFHS15004
- DEĞİŞİK İŞLEME PROSELERİNİN BROİLERLERDE KULLANILAN LASALOSİT KALINTI DÜZEYLERİNE ETKİSİ**
(Effect of the Lasalosit used in Broilers and Different Heat Treatment Process on its Residual Levels)
Namık Bilici
pp. 50-66
DOI: 10.3153/JFHS14005

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

REVIEW ARTICLE

DERLEME MAKALESİ

SU ÜRÜNLERİ KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE KOKU ALGILAMA SENSÖRLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI

Seda OĞUR

Bitlis Eren Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bitlis-Türkiye

Received: 13.11.2014

Accepted: 05.12.2014

Published online: 20.12.2014

Corresponding author:

Seda OĞUR, Bitlis Eren Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Rahva Yerleşkesi, Merkez, Bitlis-Türkiye

E-mail: sdogur@beu.edu.tr

Öz:

Su ürünlerinin kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan geleneksel yöntemler duyuşal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler dizininin oluşmaktadır. Koku algılama sensörünün kullanımı bu dizindeki bazı analizlerin yerini alabilecek ve birçok analizde tamamlayıcısı olabilecek yenilikçi bir yöntemdir. Bu derlemede literatürde daha çok elektronik burun (E-burun) ismiyle anılan, gaz ve aroma sensörleri, koku algılama veya yapay koklama sistemleri de denilen sensörlerin nasıl geliştirildiği ve bu sensörlerden su ürünlerinin kalitesini belirlemede nasıl faydalandığı konusunda bilgi verilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler:

Elektronik burun, Koku algılama sensörü, Su ürünleri, Kalite

Abstract:

Developments and Applications of Olfactory Sensors in the Evaluation of the Fishery's Quality

Traditional methods used for evaluating the quality of seafood are consist of the directory of sensory, physical, chemical and microbiological analysis. The use of the olfactory sensors that can replace some of the analysis in this directory and is an innovative method that could complement the many analyzes. In this review is aimed to give information about development of sensors, called more electronic nose (E-nose), gas and aroma sensor, olfaction or artificial olfactory systems in the literature, and how to determine the quality of fishery products from these sensors.

Keywords:

Electronic nose, Olfactory sensor, Fishery, Quality

Giriş

Avrupa ülkelerinde en popüler gıda olan su ürünlerinin tazeliği, hem üreticiler hem de tüketiciler açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle sürekli olarak sektörün isteklerine cevap verecek daha hızlı ve daha yüksek standartlara sahip kalite kontrol yöntemlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır. Su ürünlerinin tazeliğinin veya bozulma durumunun değerlendirilmesinde dikkate alınan temel kriter kokudur. Ürünün kalitesi hakkında fikir veren mevcut kokuların yorumlanması eğitilmiş ya da tecrübeli kişilerce ve algılarının hassasiyeti oranında yapılmaktadır. Bu kişilerin olmaması durumunda ise çoğu zaman duyuşal değerlendirme atlanarak gerekli görülen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerin tamamı yapıldıktan sonra karar verilmektedir. Oysa nitelikli bir panelistin koklamak ya da tatmak suretiyle ürünün bozulmuş mu taze mi olduğunu söylemesi birkaç saniye içerisinde gerçekleşen mükemmel bir sonuçtur. Elektronik burunlar analiz çokluğu ile zaman kaybını ortadan kaldırmak ve her zaman standart bir sonuç elde etmek amacıyla sürekli geliştirilen ve etkinliği arttırılmaya çalışılan kalite kontrol sistemleridir.

Taze veya işlenmiş su ürünlerinin kalitesi hakkında bize fikir veren koku bileşenleri; yosun kokusu, uçucu aromatik bileşenler, enzimatik ve mikrobiyolojik bozulma sonucu açığa çıkan gazlar, alkoller, asitler, aldehit ve ketonlar ile azot bileşenlerini oluşturan yüzlerce çeşit moleküldür. Söz konusu moleküllerin türü ve miktarı her ürüne göre farklılık gösterdiğinden koku sensörlerinin ürüne özgü olarak tasarlanması gerekmektedir. Koku sensörleri bu bileşenlerin haricinde bakteri saptanması ve türlerinin teşhisinde de kullanılmaktadır.

Elektronik Burunların Geliştirilmesi

Elektronik burunlar geliştirilirken öncelikle uçucu bileşenlerin tanıtılmasıyla bir sensör dizin sistemi oluşturulmakta ve sonra dizin sistemine ait bilgiler bir yazılım programıyla elektronik sinyale dönüştürülmektedir. Laboratuvarda prototipi geliştirilen sensörlerin gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi cihazlarından elde edilen analiz sonuçlarına göre hassasiyetleri belirlenmekte ve eğer yüksek doğrulukta çalışıyorsa ticari olarak da üretilip proseste kullanılmaktadır (Chanie ve diğ. 2005). Bu şekilde geliştirilmiş elektronik burunlardan bazıları şunlardır: EOS 835 (Sacmi Imola scarl, İtalya), NST 3320 (Applied Sensör, İsveç), Chem

Sensor 4400 (Agilent Teknoloji Uzmanı, Los Angeles), KAMINA (Karlsruhe Araştırma Merkezi, Almanya) (Sankaran ve diğ. 2012), LibraNose, Smart Nose, FishNose, e-Nose 4000 (Neotronics Science, UK), FreshSense, Air Sense, FOX 3000 (Alpha MOS, Fransa), AromaScanner (AromaScan, UK), Cyranose 320™ (Cyrano Sciences, USA) (Peris ve Escuder-Gilabert 2009).



Şekil 1. Cyranose 320 Sensörü

Figure 1. Cyranose 320 Sensor

Ticari veya deneysel olarak geliştirilen elektronik sensörlerle gıda ürünlerindeki bakteriler (El Barbri ve diğ. 2009; Du ve diğ., 2002; Olafsdottir ve diğ. 2005; Olafsdottir ve diğ. 2006; Şahin ve Saraoğlu 2010; Concina ve diğ. 2009), mikotoksinler (Falasconi ve diğ. 2005), ile su ürünlerinin tazelik (Heising ve diğ. 2012; Di Natale ve diğ. 2001; El Barbri ve diğ. 2008; Tokuşoğlu ve Balaban 2004; Guohua ve diğ. 2012; Winquist ve diğ. 1995; Tian ve diğ. 2012; Limbo ve diğ. 2009; Amari ve diğ. 2006; O'Connell ve diğ. 2001; Olafsdottir ve diğ. 2002) ve bozulma durumları (Chantorachoti ve diğ. 2006; Haugen ve diğ. 2006; Rodriguez-Mendez ve diğ. 2009; Hu ve diğ. 2008) tespit edilmektedir.

İdeal bir algılama materyali şu kriterleri bünyesinde toplamalıdır: i) kimyasal bileşenlere karşı yüksek hassasiyet, ii) nem ve sıcaklığa karşı düşük

hassasiyet, iii) yüksek seçicilik, iv) yüksek stabilite, v) yüksek çoğaltılabilirlik, vi) yüksek güvenilirlik, vii) kısa reaksiyon ve karşılık verme süresi, viii) sağlam ve dayanıklı olma, ix) kolay kalibre edilme ve x) küçük boyutlara sahip olma (Schaller ve diğ. 1998).

İnsan koklama sisteminin daha iyi anlaşılması sayesinde yapay koku algılama sistemleri daha da geliştirilmektedir. Son zamanlarda koku reseptörleri, koku bağlayıcı proteinler ve koklama nöronlarının kullanıldığı koklama sensörleri tasarlanarak farklı uçucu bileşenlerin hassasiyetle nasıl tespit edileceği araştırılmaktadır (Sankaran ve diğ. 2012).

Koku bağlayıcı proteinler, koklama reseptörleri gibi algılama materyali olarak kullanılan etkin araçlardır. Düşük molekül ağırlıklı ve çözünür olan bu proteinler kokuların koklama sistemindeki sulu nazal mukus aracılığıyla iletilmesi için taşıyıcı olarak görev görmektedir. Koku bağlayıcı proteinlerin mikromolar aralıktaki ayrışma sabitleriyle kokuların farklı kimyasal sınıflarına dönüşümlü olarak bağlanması; onları yapay koklama sistemlerinin dizaynında potansiyel algılama materyalleri yapmaktadır (Hou ve diğ. 2005).

Koklama sistemlerinin dizaynında kullanılan diğer biyomateryaller koklama nöronları ve koklama reseptörleri veya koku bağlayıcı proteinlerin bağlanma yerlerinin taklit edilmesiyle yapay peptid sekanslarının sentezlenmesidir. Koklama nöronları kokuların farklı tiplerine karşı cevap üreten binlerce koklama reseptör hücresine sahiptir. Böylece, oldukça özgüllük, yüksek hassasiyet ve hızlı tepki göstermektedir (Wang ve diğ. 2005). Yapay peptid sekansları geliştirilmiş stabilite, daha iyi çoğaltılabilirlik, tahmin edilebilir çıktı, fiyat etkinliği ve daha iyi raf ömrü gibi ilave faydalara sahiptir (Wu ve Lo 2000).

Elektronik Burunlarda Kullanılan Sensörler ve Çalışma Prensipleri

E-burunun hassas materyalleri en çok metal oksit dedektörleri, kuvarz rezonatörleri ve iletken polimerleri sensör olarak kullanılmaktadır (Schaller ve diğ. 1998).

Elektronik burunları oluşturacak koklama reseptörlerinin elde edilmesi, biyomateryallerin hayvanlardan ekstraksiyonu ve reseptör protein varlığında doğrulama için bir mikroorganizma veya hücre içine gönderilmesi olmak üzere iki temel aşamayı kapsamaktadır (Sankaran ve diğ. 2012).

Metal-Oksit
Yarı İletken



Polimer İletken



Kuvarz Kristal Mikrobaleans



Şekil 2. Sensör Tipleri
Figure 2. Sensor Types

Koklama hücreleri genellikle *Escherichia coli*, HEK 293 (insan embriyonik böbreği) veya *Saccharomyces cerevisiae* gibi hücrelere gönderilmektedir. Algılama materyalleri farklı teknikler kullanılarak dahili sensör çiplerinde depolanmaktadır. Depolama tekniği, basit olan daldırarak kaplama/damlama kaplama tekniğinden, gelişmiş SAM (kendiliğinden birleşen monotabaka) veya LB (Langmuir-Blodgett) metotlarına kadar sıralanmaktadır. LB tekniğinde organik materyalin bir veya daha fazla monotabakaları katı bir yüzey üzerinde sırayla depolanabilmektedir. SAM tekniğinde monotabakalar, organik moleküllerin substrat içine spontane bir şekilde kimyasal olarak emilmesiyle substrata bağlanabilmektedir. Depolama proseslerinin AFM (atomik kuvvet mikroskopu) veya SEM (taramalı elektron mikroskopu) gibi tekniklerle karakterize edilmesi önemlidir (Sankaran ve diğ. 2012).

Biyomateryalin depolama prosesi aşamasında önem kazanan diğer bir durum uygun substratların seçimidir. Genellikle seramik ve cam bazlı substratlar kullanılmaktadır, ancak diğer organik ve anorganik substratlar da (polietilenimin, polipropilenimin ve polipirol gibi) uygun olabilmektedir (Lakard ve diğ. 2005).

Koku moleküllerinin algılanmasında genellikle QCM (kuvarz kristal mikrobaleans) ve SPR (yüzey plazma rezonans) optik metotları kullanılmaktadır. QCM bazlı algılamada koku molekülleri kuvarz kristallerinin rezonans sıklığının değiştirilmesine neden olan yüzeye adsorbe edilmektedir. QCM basitlik, düşük fiyat, yüksek hassasiyet ve kolaylık gibi avantajlara sahiptir (Ko ve Park 2005). SPR tekniğinde olgular arasındaki zıtlık

yüzey reaksiyonundan önce ve sonra belirlenmektedir. Çoğunlukla değişimin neden olduğu refraktif indeksteki değişiklikler ölçülmektedir (Lazcka ve diğ. 2007).

Elektronik burun sisteminde cihazın haznesine yerleştirilen örnek ilk önce koku dağıtma ünitesinden geçerek sensör dizin hücrelerine ulaşmakta, daha sonra örneğe ait koku molekülleri cihazın sinyal birleştirme bölümünde elektronik sinyale dönüştürülmektedir. Elde edilen sinyaller işlenerek örüntü tanıma sistemine aktarılmakta ve burada koku moleküllerinin uygun şekilde sınıflandırılması ve modellenmesi yapılmaktadır.

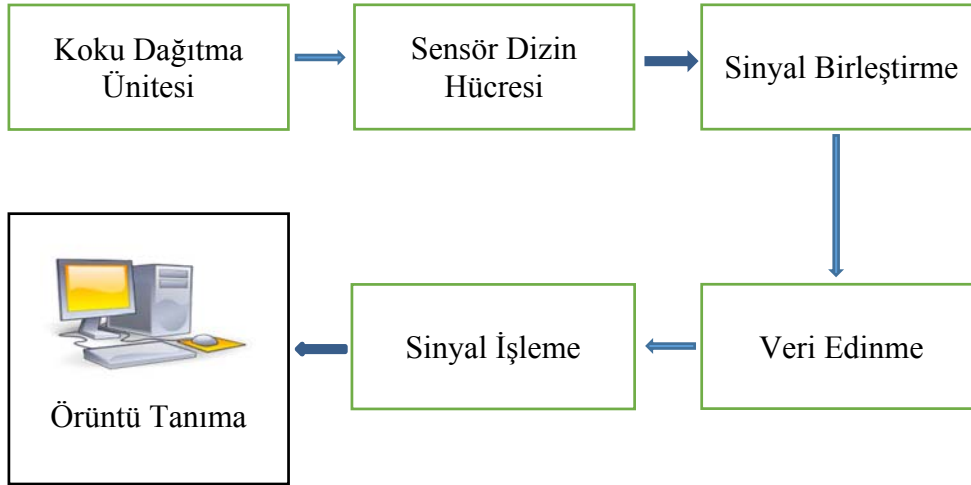
Elektronik Burun Sisteminde Elde Edilen Verilerin İşlenmesi

Koku moleküllerinin sınıflandırılması/tahmin edilmesi için koklama sensör sistemlerinden elde edilen veriler uygun örüntü tanıma tekniklerine ihtiyaç duymaktadır. Elektronik burun sistemlerinin örüntü tanıma bileşenleri; i) sensör sinyalinin

önişlemesini, ii) ekstraksiyonun nitelenmesini ve iii) uygun sınıflama/tahmin modellerinin geliştirilmesini içermektedir (Sankaran ve diğ. 2012).

Sensör sinyallerini temsil eden özelliklerin çeşitliliği; i) ilk ve sabit durum cevabı, ii) cevap kurvesinin dinamik eğimi, iii) cevap kurvesinin altında kalan alan (AUC), iv) hızlı Fourier transform (FFT) etkileşimi ve v) dalgali transform etkileşimi gibi tipik bir koklama sensör sinyalinden kaydedilmektedir (Sankaran ve diğ. 2012).

Araştırmacılar koklama sensörü hassas verilerini sınıflandırmak için PCA (temel bileşen analizi) tekniğini de kullanmaktadırlar. PCA her bir sınıf için sensör hassaslığında korelasyonu (tekrarlanma) azaltmakta ve grupları veya koku moleküllerini sınıflandırmak için kullanılabilir maksimum varyasyon bileşenlerini elde etmek için bağımsız birkaç boyuta dayanarak hassas veriyi dik olarak hesaplamaktadır (Peris ve Escuder-Gilabert 2009).



Şekil 3. E-burunun Çalışma Sistemi

Figure 3. The working system of E-nose

Örüntü tanıma algoritmasının uçucu organik bileşenler ve koku tanımadaki E-burun sisteminden açığa çıkan özelliklerin ayırt edilmesi için geliştirilmesi gerekmektedir. İstatistiksel bazlı doğrusal ayrıştırma analizi (LDA) ve kuadratik ayrıştırma analizi (QDA) ve doğrusal olmayan örüntü tanıma modeli bazlı yapay sinir ağı (ANN) gıda kontaminasyonunun sınıflandırılmasında daha önce uygulanmıştır. ANN, kompleks doğrusal olmayan sistemlerin sınıflandırılması ve tahmin edilmesi için kullanılan biyolojik bir sınıflandırma tekniğidir. Geri yayımlı sinir ağı (BPNN), radyal temelli fonksiyon ağı (RBFN), olasılıksal sinir ağı (PNN) ve destek vektör makinesi (SVM) uçucu organik bileşenlerin sınıflandırılmasında genellikle kullanılmaktadır. En basit ANN topolojisi giriş özellik seti (giriş tabakası), karar verme (saklama) tabakası ve karar (çıkış) tabakasını içermektedir (Sankaran ve diğ. 2012).

ANN, diğ. örüntü tanıma metotlarına benzemeyerek, önceki deneyimini kullanarak, daha esneklik sağlayarak cevabını dış güçlere dönüştürebilen dinamik, kendine adapte olmuş ve paralellik nedeniyle daha hızlı olan bir sistemdir. Ayrıca, koku uyarıcısının memeli nöron işlenmesini daha yakından taklit edebilmektedir (Schaller ve diğ. 1998).

Elektronik Burunların Su Ürünlerindeki Uygulamaları

Ólafsson ve diğ. (1992), üç farklı balık türündeki (mezzit, morina ve kızılbalık) bozulma durumunu değerlendirmede uçucu aroma bileşenlerinin ölçülmesi için kalay dioksit sensörlerini kullanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında veya buzdaki tutulmuş ve sonuçlar duyu analizlerle karşılaştırılmıştır. Bu çalışma balık tazeliğinin değerlendirilmesinde elektronik burunların kullanımının daha fazla araştırma için gelecek vaat ettiğini göstermiştir.

Schweizer-Berberich ve diğ. (1994) tarafından balık tazeliği, spesifik depolama şartlarında zamanla tipik konsantrasyon değişimleri gösteren, alkol, karboniller, aminler ve merkaptanlardan oluşan konu ile ilgili uçucu bileşenlerin amperometrik sensör, ısıtılmış bir katalizör ve çok değişkenli istatistikler (PCA ve temel bileşen regresyonu veya PCR) kullanılarak ölçülmesiyle belirlenmiştir.

Winquist ve diğ. (1995) tazeliği bitmek üzere olan morina filetolarının kalite tahmini için kullanılan bir E-burunu tanımlamışlardır. Taze morina filetolarının kaç günlük olduğunu tahmin etmek için, E-

burun taze referans filetolar ile öncelikle kalibre edilmiş ve daha sonra bu E-burun taze ve 5 gün sonra satın alınan filetoların kaç günlük olduğunu tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu örnekler için elde edilen tahminler belirli bir aralıkta (33.3-47.3 saat) olmuştur. Bu değerler test materyalinin satın alınan referans materyalinden oldukça eski olduğunu göstermiştir.

Tilapya filetolarını kokularına ve renklerine göre sınıflandırmak için E-burun ve makine vizyon sisteminin yeteneği Korel ve diğ. (2001) tarafından çalışılmıştır. Taze tilapya (*Oreochromis niloticus*) filetoları farklı miktardaki sodyum laktat ile muamele edilmiş ve 1.7°C'de ve 7.2°C'de 12 gün depolanmıştır. Eğitilmiş panelistler ve 12 iletken polimer sensörünü içeren bir E-burun (e-Nose 4000) kokuları değerlendirmiş ve makine vizyon sistemi fileto renklerini ölçmüştür. DFA (ayrıştırma fonksiyon analizi) tarafından deneysel değişkenlere (laktat yüzdesi, mikrobiyal yük, duyu puan, depolama süresi ve sıcaklığı) dayanan doğru sınıflandırma; sadece renk verileri için zayıf, sadece E-burun verileri için kabuledilebilir ve bu verilerin kombinasyonu için ise mükemmel sonuçlar vermiştir.

Di Natale ve diğ. (2001) morina balığı filetolarının tazeliğini tespit etmek için farklı sensör teknolojisi ve örnekleme yöntemlerine dayanan iki E-burunla ölçümler yapmışlardır. Bu E-burunlardan birisi çeşitli metal porfirlerle kaplı sekiz kalınlıklı kesme modlu rezonatörlerin bir dizininden oluşan LibaNose ve diğeri ise her biri belirli bir gaz (CO, H₂S, NO, SO₂ ve NH₃) karşı odaklanmış olan beş elektrokimyasal sensöre dayanan FreshSense'dir. 17 günlük depolama süresinde, her iki E-burunun entegrasyonu örneklerin tazeliğinin neredeyse tam olarak değerlendirilmesine izin veren bir performans göstermiştir.

O'Connell ve diğ. (2001) tarafından geliştirilen taşınabilir bir E-burun Arjantinli barlam balığının tazelik tayinleri için kullanılmıştır. Balığın tartılmış bir parçası sensörün bir hücresinin içerisine koyulmuş ve balık emisyonuyla oluşan sensör sinyalleri zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir. Sensör olarak kalay dioksit bazlı ticari gaz sensörleri kullanılmıştır. Depolama gününün ve barlam balığı kütlesinin artmasıyla (en fazla 50 g) sinyallerde bir artış gözlemlenmiştir. Örneğin koğuşmuşluğunu belirten elde edilen cevap örüntüleri depolama şartlarından ve depolanmanın bazı günlerinden sonra değişen ağırlıktan bağımsız ol-

muştur. Sırasıyla bozulmuş ve bozulmamış örneklerle ilişkilendirilen farklı iki örüntü elde edilmiştir. Bu sonuçlar PCA yapılarak teyit edilmiştir.

FreshSense olarak isimlendirilen bir E-burun buzda ve modifiye atmosferde depolanan kızıl balığın tazeliğini izlemek için hızlı bir teknik olarak kullanılmıştır. FreshSense sensörünün karakteristik cevabını incelemek için standart bileşenler ölçülmüştür. Kızıl balığın depolanması sırasında üretilen uçucu bileşenler izlenmiştir ve sonuçlar çok değişkenli analiz metodlarıyla analiz edilmiştir. Sensörler balıktaki bozulma bileşenlerinin göstergesi olan standart bileşenlere karşı iyi seçicilik, hassasiyet ve tekrarlanabilirlik göstermiştir. FreshSense standart bileşenler ve onların karışımları arasında ve kızıl balığın taze örnekleri ve bozulmuş örnekleri arasında da ayırım yapabilmektedir. E-burun ölçümleri duyuusal değerlendirme sonuçları ile genelde uyum göstermiştir, fakat kızıl balığın bozulma örüntüsü ve hava boşluğu kompozisyonu hakkında detaylı bilgi vermiştir (Ólafsdóttir ve diğ. 2002).

Du ve diğ. (2002) tarafından çeşitli depolama koşullarında somon filetolarının kalite değerlendirmesi yapılmıştır. Filetolar -20°C 'de 4 gün ve 10°C 'de 14 gün depolanmıştır ve zamanla oluşan bakteri ve histamin değişimleri AromaScan E-burun ile incelenmiştir. Duyusal panel değerlendirmeyle yapılan karşılaştırma bu yaklaşımın balık kalitesini değerlendirmede kayda değer olabileceğini göstermiştir.

Vazquez ve diğ. (2003) iletken polimer bazlı bir E-burunu kullanarak ançuezin olgunlaşma durumuyla ilgili olan flavor profilindeki kalitatif değişimleri incelemişlerdir. Olgunlaşma prosesini modellemek ve olgunlaşma aşamasının bir fonksiyonu olarak örnekleri ve üretilen bütün başarılı sonuçları sınıflandırmak için PCA ve ANN yöntemlerini de içeren birkaç kemometrik teknik uygulamışlardır. E-burun ölçümleri örnek hazırlamasına ihtiyaç duymamıştır ve sonuçlar bu tekniği kullanarak ançuezin olgunlaşma prosesinin takip edilebileceğini göstermiştir.

Tokuşoğlu ve Balaban (2004) istiridyelerin tazeliğinin objektif olarak değerlendirilmesi için E-burun teknolojisi ve bilgisayar vizyon kombinasyonu üzerinde çalışmışlardır. 1.8°C 'de ve 7°C 'de depolanan istiridyelerdeki (*Crassostrea virginica*) koku ve renk değişiklikleri 13 gün süresince her 3 günde bir E-burun (model 4000; EEV Inc.), bilgisayar vizyon sistemi ve duyuusal panellerle ölçülmüştür. E-burun ve koku duyuusal verileri DFA

kullanılarak çözümlenmiştir. Günlere göre grup E-burun verileri ve her bir sıcaklıktaki duyuusal puanlara ait % 100'lük doğru sınıflandırma oranları elde edilmiştir. Tüm sıcaklık ve gün verileri toplandığında DFA % 94 doğruluklu E-burun okumalarına dayanan duyuusal puanları ön görmüştür.

Jonsdóttir ve diğ. (2004) tarafından ticari olarak üretilmiş olgunlaşmış balık yumurtasının flavor profili duyuusal analizler, gaz kromatografisi-olfaktometre (GC-O), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ve olgunlaşmış balık yumurtasının hava boşluğu karakterizasyonunu E-burun ile incelenmiştir. Duyusal analizler havyar flavoru ve peynir altı suyu/karamel benzeri koku ile birleşen olgunlaşmış balık yumurtası kokusu ve flavorunun kompleks karakteristik balık yumurtası flavorunun genel olumlu etkisini verdiğini göstermiştir. GC-MS ve E-burun ile uçucu bileşenlerin analizi duyuusal analizlerle tespit edilen tipik olgunlaşmış ve bozulma flavoruna katkıda bulunan aroma bileşenlerinin varlığını onaylamıştır. Bozulma flavorları E-burun ile ölçülen ve olgunlaşmış balık yumurtasının objektif olarak değerlendirilmesi için kalite indikatörü olarak görülen 3-metil-1-bütanol ve 3-metilbütanal tarafından kısmen desteklenmiştir. Genel verilerin temel bileşen analizi GC-O'nun duyuusal değerlendirme ve E-burun ölçümleri ile uyduştüğünü göstermiştir.

Avrupa'daki dört farklı dumanlama evinden gelen soğuk dumanlanmış somonun kalite değişimleri prototip bir MO (metal oksit) sensörü dizin sistemi olan FishNose ile izlenmiştir (Ólafsdóttir ve diğ. 2005). Örnekler farklı ambalajlarda (vakum ve modifiye atmosfer) 5°C 'de ve 10°C 'deki kontrollü depolama koşullarında 4 hafta süresince depolanmıştır. Duyusal özellikler (tatlı/ekşi, kötü ve ransit koku), toplam canlı sayısı ve laktik asit bakterileri sayısına dayanan kalite kriterleri saptanmış ve FishNose cevaplarına dayanan örneklerin sınıflandırılmasında kullanılmıştır. Gaz sensörünün cevapları, bozulma kokusunun duyuusal analizi ve depolama sırasında soğuk dumanlanmış somondaki bozulma kokularına neden olan uçucu mikrobiyal ürün bileşenleri hakkında fikir veren mikrobiyal sayı ile iyi derecede korelasyon göstermiştir.

Haugen ve diğ. (2006) FishNose isimli, gaz örneklem üitesi içeren portatif bir katı hal bazlı gaz sensör dizin sistemini dumanlanmış somonların kalitesinin direkt ölçülmesi için geliştirmişlerdir. Dumanlanmış somonun depolanması sırasındaki kalite değişimleri FishNose ile izlenmiş ve sonuç-

lar geleneksel duyuşal, kimyasal ve mikrobiyal ölçümlerle karşılaştırılmıştır. Gaz sensörü seçimi bozulma sırasında çoğunlukla mikrobiyal metabolizmayı gösteren çok uçucu bileşenlerdeki değişimin tespit edilmesi için optimize edilmiştir. Bu sistem sayesinde tatlı/ekşi ve kötü koku ve mikrobiyal yük gibi özellikler ile ilişkilendirilen kalitenin de tahmin edilebileceğini belirtmişlerdir.

Chantarachoti ve diğ. (2006) 14°C'de ve 1°C'de depoladıkları Alaska pembe somonun (*Oncorhynchus gorbuscha*) bozulma durumunu portatif bir E-burunla (Cyranose 320™, 32 adet ayrı ince film karbon siyah polimer sensöründen oluşmaktadır) incelemişlerdir. Karın boşluğundaki uçucu bileşenlerin tespitinde ileri basamaklı genel ayrıştırma analizlerini kullandıklarında doğru sınıflandırma oranını sırasıyla % 85 ve % 92 olarak bulmuşlardır. 14°C'de depolanan balıkların karın boşluğu kokularından elde edilen duyuşal veriler ile E-buruna ait cevaplar arasında doğrusal korelasyon olduğu gözlemlenmiştir.

Spesifik bozulma organizmalarının çoğalması ve kalite değişiklikleri 0.7°C ve 15°C'de ve sıcaklık dalgalanmaları altında, strafor kutular içinde depolanan mezzit filetolarında değerlendirilmiştir. Bozulma kokusunun başlangıcı için karakteristik olan mikrobiyal metabolitleri temsil eden bileşenlerin farklı sınıflarını izlemek için hızlı bir E-burun tekniğı kullanılmıştır. *Photobacterium phosphoreum* bozulma bakterilerinin arasında baskın olmuş ve duyuşal değerlendirmede TVB-N'nin yüksek seviyeleri gözlemlenmiştir. *Pseudomonas* spp.'nin E-burun CO sensörünün artan cevabı ile örtüşmeyen mezzit filetolarındaki tatlı, meyvemsi bozulma kokusunun gelişmesinde sorumlu olduğu ortaya çıkmıştır. H₂S üreten bakterilerden, büyük olasılıkla *Shewanella putrefaciens*, uygun olmayan sıcaklık koşullarında H₂S sensörünün yanıtı ile ilişkili bulunmuştur. Duyuşal kalitenin en iyi tahmini beş değişkene (E-burun sensörü (CO, NH₃ ve H₂S), *Pseudomonas* sayısı ve zaman-sıcaklık değişkeni) dayanan PLSR (kısmi en küçük kareler regresyonu) modeliyle elde edilmiştir (Olafsdottir ve diğ. 2006).

Amari ve diğ. (2006) tarafından bir E-burun geliştirilmiş ve soğuk depolamada (4±1°C) geçen günlerin sayısına göre sardalya örneklerinin tazeliğini sınıflandırmak için hızlı bir teknik olarak kullanılmıştır. Tartılan sardalya örneklerinin hava boşluğunda bulunan uçucu bileşenler bir sensör hücresi içerisine tanıtılmış ve sensörlerin cevap sinyalleri zamanın fonksiyonu olarak kaydedilmiştir. Veri

analizleri PNN, bulanık ARTMAP sinir ağıları ve SVM gibi üç farklı örüntü tanıma metodu ile yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı, bu üç örüntü tanıma metotları arasında sardalya örneklerinin geçirdiğı soğuk depolama günlerini doğru belirlemek için en uygun olanını seçmek olmuştur. Sonuçlar E-burunun 4°C'de depolanan sardalya örneklerinin tazeliğini izleyebildiğini ve en iyi sınıflandırma ve tahminin SVM sinir ağı ile elde edildiğini göstermiştir.

12 iletken polimer sensörlü bir E-burun farklı kimyasallarla muamele edilmiş çiğ karidesin kokularını ölçmek için kullanılmıştır (Luzuriaga ve diğ. 2007). Başsız kabuklu pembe karides (*Pandalus jordani*) farklı miktarlardaki ağartıcı, fosfatlar ve sülfidler ile muamele edilmiş ve 2°C'de 48 saat depolanmıştır. Kokular duyuşal paneller ve E-burun ile değerlendirilmiş, ayrıca aerobik canlı sayısı belirlenmiştir. DFA sonuçları E-burunun karidesdeki kimyasal varlığına bağılı olan kokudaki farklılıkları ayırt edebildiğini göstermiştir. Doğru sınıflandırma oranı ağartıcı, fosfat ve sülfid ile muamele edilmiş karideslerde sırasıyla % 92.7, % 95.8 ve % 99.2 olmuştur.

El Barbri ve diğ. (2008) minyatürlük ve taşınabilirlik için uygun olan sınırlamalar altında balığın tazeliğini gerçek zamanlı olarak değerlendirebilen bir E-burun sisteminin araştırılmasını ve realize edilmesini amaçlayarak altı kalay oksit bazlı Tagushi gaz sensörünü 4 °C'de depolanan sardalya örneklerini analiz etmek için kullanmışlardır. Bir mikro denetleyici ve taşınabilir bilgisayara bağılı özel gerçek zamanlı veri toplama sistemi tasarlanmış ve bu uygulama için oluşturulmuştur. PCA ve destek vektör makinesi sonuçları sistemin 4°C'de depolanan sardalyanın tazeliğini değerlendirebildiğini göstermiştir.

İstiridyelerin kalitesini değerlendirmede iki E-burun sisteminin etkinliğı 4°C'de ve 7°C'de 14 gün depolanan canlı istiridyeler üzerinde çalışılmıştır. Her iki sıcaklıkta da depolanan istiridyelerden 7°C'de depolananlar 7. günde bakteriyal yüklerinin 10⁷ CFU/g'a ulaşmasıyla mikrobiyal bozulmanın değişen derecelerini sergilemişlerdir. Cyranose 320™ E-burun sistemi değişen evrenin istiridyeye kalitesini ayırt etmek için karakterize koku çıktıkları üretme yeteneğinde (%100 ayırma) olmuştur. Doğrulama sonuçları Cyranose 320™'nin depolama süresi açısından istiridyelerin kalitesini % 93 doğrulukla belirleyebildiğini göstermiştir. Ancak, VOC marka E-burun için doğru sınıflan-

dırma oranı sadece % 22 olmuştur. E-burun verisinin mikrobiyal sayı ve duyuşal panel puanları ile korelasyonu Cyranose 320™'nin istiridyelerin mikrobiyal kalitesini tahmin edebildiğini açığa çıkarmıştır (Hu ve diğ. 2008).

Rodríguez-Méndez ve diğ. (2009) fitalosiyenin ile kimyasal olarak modifiye edilmiş voltametik sensörler dizinini kullanarak balık bozulmasından kaynaklanan biyojen aminleri içeren bozulma ürünlerinin genel tespitini içeren bir yöntem geliştirmişlerdir. Ekran baskılı elektrotlar (SPE) dizininin performansı klasik karbon pasta elektrot (CPE) dizini ile karşılaştırılmıştır. Sensörler biyojen aminlerin (amonyum, dimetilamin, trimetilamin, kadaverin ve histamin) model çözümlerine karşı iyi hassasiyet göstermişlerdir. Dizin tarafından sağlanan cevapların örüntüsü balık tazeliğini değerlendirmek ve post-mortem periyodu belirlemek için başarılı şekilde kullanılmıştır. Artan depolama günüyle birlikte biyojen aminler ve diğ. bozulma ürünleri ile ilişkilendirilen sinyallerde artış gözlemlenmiştir.

Zhang ve diğ. (2009) altı adet Tagushi tip gaz sensörüne sahip E-burunla ahtapotların bozulma durumlarını ve formaldehit içeriklerini tespit etmişlerdir. Sensör cevap kurvelerinden iki statik özellik (havadaki direnci, sensör cevabı) ve bir dinamik özellik (desorpsiyon oranı) ortaya çıkmıştır. PCA ile ürünlerdeki bozulmayı kolaylıkla belirlemişlerdir. Farklı ahtapot örnekleri için doğru tanıma oranını % 93.1 olarak bulmuşlardır.

Limbo ve diğ. (2009)'nin Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) ile ilgili yürüttükleri çalışmanın amacı hem kimyasal (TVB ve TBA analizi) hem de olfaktometrik (E-burun) metod uygulayarak, üç farklı depolama sıcaklığındaki (0.5 °C, 4.8 °C ve 16.5 °C) raf ömrünü, pazarlanma sırasındaki gerçek zaman-sıcaklık teşhir şartlarını, zaman-sıcaklık geçmiş verileri temelinde ve uygun entegrasyon rutininde ticari zincirdeki kalan raf ömrünü belirlemektir. Raf ömrü çalışması tazeliğin azalmasının açıklanmasında ve bir tazelik eşiğinin tanımlanmasında kimyasal belirteçlerin ve E-burunun etkinliğini ortaya koymuştur.

El Barbri ve diğ. (2009) tarafından objektif anlamda, 4 °C'de 1 hafta depolanan sardalya örneklerindeki tazeliğin evrimsel aşamalarını değerlendirmek için dört element, entegre, mikro-işlemcili, MO gaz sensörü dizinine dayalı bir E-burun sistemi kullanılmıştır. Geliştirilen sensörler Pt ya da Pd veya Bi ile takviyeli kalay oksit ve Au ile tak-

viyeli tungsten oksit bazlıdır. Gaz hassasiyetli materyallerin seçimi kütle spektrometresiyle birleştirilmiş katı fazlı mikro-ekstraksiyon gaz kromatografisiyle belirlenmiş sardalyanın hava boşluğunda bulunan karakteristik bileşenlerin önceden belirlenmesine ve ölçümüne dayandırılmıştır. Sensör dizin cevaplarına göre yürütülen temel bileşen analizleri sardalya örneklerinin üç tazelik durumuna sınıflandırılabilceğini ortaya koymuştur. Bu sınıflandırma, mikrobiyal analizlerin sonuçlarıyla iyi uyum göstermiştir. E-burun sınıflandırma yeteneğinin kararlılığı 1 ay arayla toplanan ölçüm veritabanlarını doğru sınıflandırarak değerlendirilmiştir. Gaz sensörü cevaplarının giriş verisi olarak çalışan kantitatif kısmı en küçük kareler modelinin kurulması ve doğrulanması sayesinde sardalya örneklerinde var olan aerobik bakterilerin toplam canlı sayısını 0.91'lik korelasyon katsayısıyla tahmin etmek mümkün olmuştur.

Heising ve diğ. (2012) -0.5°C'de ve 1.9°C'de depoladıkları paketlenmiş morina balıklarının tazelik durumlarındaki değişikliklerin bir indikatörü olarak hava boşluğundaki amonyumun izlenmesi için tahribatsız bir metod geliştirmişlerdir. Amonyum iyon seçici elektrotun (NH₄⁺-ISE) çıktıları balık filetoalarının uçucu amin içerikleri (TVB-N) ile karşılaştırıldığında uyumlu oldukları görülmüştür.

Protein bazlı gıdaları tespit etmek amacıyla polimer/carbon nanotüp (CNT) sensör dizininden oluşan portatif bir e-burun geliştirilmiştir. Gaz sensörleri, CNT/polimer nanokompozit materyallerini birbirine kenetlenmiş elektrotlar üzerine fonksiyonlandıran spin-kaplamayla üretilmiştir. Sensörler, ppm seviyesindeki amonyak, amin bileşenleri, asetik asit, su ve organik çözücüler gibi uçucu bileşenlerin çeşitli tipleriyle test edilmiştir. Çoğu sensörün organik çözücülere ve suya karşı oldukça düşük bir yanıt verirken; amonyak, amin bileşenleri ve asetik asite karşı güçlü sinyaller ürettiği bulunmuştur. Sensör cevabına bağlı olan amin çeşidinin etkileşim ilişkisini anlamak için, uçucu amonyağa karşı en iyi cevabı sağlayan bir polimer yapı üzerindeki yoğunluk fonksiyonel teorisine dayanan moleküler modelleme gerçekleştirilmiştir. Temel bileşen analizine dayanarak, bu portatif e-burunun deniz ürünlerinden açığa çıkan farklı miktardaki amin bileşenlerinin sınıflandırılmasında başarıyla uygulanabileceği sonucuna varılmıştır (Lorwongtragool ve diğ. 2012).

Guohua ve diğ. (2012) tarafından 277 K sıcaklıkta depolanan ot sazınının (*Ctenopharyngodon idellus*) E-buruna dayanan kalite öngörü modeli tasarlanmıştır. Örneklere göre sensör dizin cevabının değişimine mikrobiyal yayılma sayesinde açığa çıkan yeni oluşturulan gaz türleri neden olmuştur. PCA metodu taze ot sazını örneklerini orta derecede taze ve eski örneklerden ayırt etmiştir. Stokastik rezonans sinyal-gürültü oranı maksimumları taze, orta derecede taze ve eski ot sazını örneklerini başarıyla ayırmıştır. Doğrulama deneyleri bu modelin öngörü doğruluğunun % 87.5 olduğunu göstermiştir.

Tian ve diğ. (2012) 15°C, 10°C ve 5°C'de depoladıkları kaya balığının tazeliğini izlemek için ticari olarak ulaşılabilen MO sensörlerine dayanan basit ve çoğaltılabilir bir E-burun yapmışlardır. Örnek dağıtımını dinamik hava boşluğu metoduna dayandırılmış ve denetimsiz bir PCA metodu kullanarak her bir sensörün geçici cevabından çıkarılmıştır. Örneklerin e-burun cevapları ve TVB-N değerleri ve aerobik bakteri sayıları arasında iyi korelasyon katsayıları elde edilmiştir.

Lim ve diğ. (2013) bozulmuş balıktan üretilen trimetilamin (TMA) miktarının gerçek zamanlı olarak ölçülmesi aracılığıyla deniz ürünleri kalitesini belirleyebilen peptid reseptör bazlı bir biyoelektronik burun (BEB) üretmiştir. BEB, TMA'yı tanıyan ve 10 fM'den daha düşük konsantrasyonlardaki TMA'yı gerçek zamanlı olarak hassas ve seçici bir şekilde tespit etmeye olanak sağlayan koku reseptöründen türemiş peptidlerle fonksiyonlandırılmış tek duvarlı-karbon nanotüp alan-etkili transistörler kullanılarak geliştirilmiştir. Ayrıca, BEB deniz ürünleri kalitesinin yerinde ölçülmesi gereken yerlerde etkin şekilde kullanılabilir hale getiren portatif bir skalada üretilmiştir. Cihazın bu özellikleri kullanılarak sadece deniz ürünlerinin üç çeşidinin (istiridye, karides ve istakoz) kalitesi belirlenmemiş, aynı zamanda herhangi bir ön işlem prosesi uygulanmadan bozulmuş deniz ürünü bozulmuş gıdaların diğer tiplerinden de ayırtedilebilmiştir.

Sonuç

Yapılan literatür incelemeleri doğrultusunda E-burunların su ürünlerinin kalitesini belirlemede başarılı bir şekilde kullanıldığı, ancak araştırma sonuçları dikkate alınarak sensörlerin etkinliğinin daha da geliştirilmesi ve bu cihazlara proste mutlaka yer verilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Amari, A., El Barbri, N., Llobet, E., El Bari, N., Correig, X., Bouchikhi, B. (2006): Monitoring the freshness of Moroccan sardines with a neural-network based electronic nose. *Sensors*, 6(10): 1209-1223.
- Chanie, E., Ólafsdóttir, G., Jónsdóttir, R., (2005). IFL Project Report.
- Chantarachoti, J., Oliveira, A.C.M., Himelbloom, B.H., Crapo, C.A., McLachlan, D.G. (2006): Portable electronic nose for detection of spoiling Alaska pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Journal of Food Science*, 71(5): S414-S421.
- Concina, I., Falasconi, M., Gobbi, E., Bianchi, F., Musci, M., Mattarozzi, M., Pardo, M., Mangia, A., Careri M., Sberveglieri, G. (2009): Early detection of microbial contamination in processed tomatoes by electronic nose. *Food Control*, 20(10): 873-880.
- Di Natale, C., Olafsdóttir, G., Einarsson, S., Martinelli, E., Paolesse, R., D'Amico, A. (2001): Comparison and integration of different electronic noses for freshness evaluation of cod-fish fillets, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 77(1-2): 572-578.
- Du, W.X., Lin, C.M., Huang, T., Kim, J., Marshall, M, Wei, C.I. (2002): Potential application of the electronic nose for quality assessment of salmon fillets under various storage conditions. *Journal of Food Science*, 67(1): 307-313.
- El Barbri, N., Llobet, E., El Bari, N., Correig, X., Bouchikhi, B. (2008): Application of a portable electronic nose system to assess the freshness of Moroccan sardines. *Materials Science and Engineering: C*, 28(5-6): 666-670.
- El Barbri, N., Mirhisse, J., Ionescu, R., Bari, N.E., Correig, X., Bouchikhi, B., Llobet, E. (2009): An electronic nose system based on a micro-machined gas sensor array to assess the freshness of sardines. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 141(2): 538-543.
- Falasconi, M., Gobbi, E., Pardo, M., Della Torre, M., Bresciani, A., Sberveglieri, G. (2005): Detection of toxigenic strains of *Fusarium verticillioides* in corn by electronic

- olfactory system. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 108(1-2): 250-257.
- Guohua, H., Lvye, W., Yanhong, M., Lingxia, Z. (2012): Study of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) quality predictive model based on electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 166-167: 301-308.
- Haugen, J.E., Chanie, E., Westad, F., Jonsdottir, R., Bazzo, S., Labreche, S., Marcq, P., Lundby, F., Olafsdottir, G. (2006): Rapid control of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) quality by electronic nose: Correlation with classical evaluation methods. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 116(1-2): 72-77.
- Heising, J.K., Dekker, M., Bartels, P.V., van Boekel, M.A.J.S. (2012): A non-destructive ammonium detection method as indicator for freshness for packed fish: Application on cod. *Journal of Food Engineering*, 110(2): 254-261.
- Hu, X., Mallikarjunan, P., Vaughan, D. (2008): Development of non-destructive methods to evaluate oyster quality by electronic nose technology. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2(1): 51-57.
- Jonsdottir, R., Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Stefansson, G. (2004): Flavor characterization of ripened cod roe by gas chromatography, sensory analysis, and electronic nose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20): 6250-6256.
- Ko, H.J., Park T.H. (2005): Piezoelectric olfactory biosensor: ligand specificity and dose-dependence of an olfactory receptor expressed in a heterologous cell system, *Biosensors and Bioelectronics*, 20(7): 1327-1332.
- Korel, F., Luzuriaga, D., Balaban, M.Ö. (2001): Objective quality assessment of raw tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using electronic nose and machine vision. *Journal of Food Science*, 66(7): 1018-1024.
- Lakard, S., Herlem, G., Valles-Villareal, N., Michel, G., Propper, A., Gharbi, T., Fahys, B. (2005): Culture of neural cells on polymers coated surfaces for biosensor applications, *Biosensors and Bioelectronics*, 20(10): 1946-1954.
- Lazcka, O., Campo, F., Munoz, F.X. (2007): Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(7): 1205-1217.
- Lim, J.H., Park, J., Ahn, J.H., Jin, H.J., Hong, S., Park, T.H. (2013): A peptide-receptor-based bioelectronic nose for the real-time determination of seafood quality. *Biosensors and Bioelectronics*, 39(1): 244-249.
- Limbo, S., Sinelli, N., Torri, L., Riva, M. (2009): Freshness decay and shelf life predictive modelling of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) applying chemical methods and electronic nose. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5): 977-984.
- Lorwongtragool, P., Seesaard, T., Tongta, C., Kerdcharoen, T. (2012): Portable e-nose based on polymer/CNT sensor array for protein-based detection, NEMS, Kyoto, Japan, March 5-8.
- Luzuriaga, D., Korel, F., Balaban, M. (2007): Odor evaluation of shrimp treated with different chemicals using an electronic nose and a sensory panel. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 16(2): 57-75.
- O'Connell, M., Valdora, G., Peltzer, G., Martín Negri, R. (2001): A practical approach for fish freshness determinations using a portable electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 80(2): 149-154.
- Ólafsson, R., Martinsdóttir, E., Ólafsdóttir, G., Sigfússon, T.I., Gardner, J.W. (1992): Monitoring of fish freshness using tin oxide sensors. In: Gardner, J.W., Bartlett, P.N. (Eds.), *Sensors and Sensory Systems for an Electronic Nose*. Kluwer: Dordrecht, the Netherlands, pp. 257-272.
- Olafsdottir, G., Lauzon, H.L., Martinsdottir, E., Kristbergsson, K. (2006). Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *International Journal of Food Microbiology*, 111(2): 112-125.
- Olafsdottir, G., Chanie, E., Westad, F., Jonsdottir, R., Thalmann, C.R., Bazzo, S., Labreche, S., Marcq, P., Lundby, F., Haugen, J.E.

- (2005): Prediction of microbial and sensory quality of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) by electronic nose. *Journal of Food Science*, 70(9): S563-S574.
- Ólafsdóttir, G., Li, X., Lauzon, H.L., Jónsdóttir, R. (2002): Precision and application of electronic nose for freshness monitoring of whole redfish (*Sebastes marinus*) stored in ice and modified atmosphere bulk storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11(3-4): 229-249.
- Peris, M., Escuder-Gilabert, L. (2009): A 21st century technique for food control: electronic noses. *Analytica Chimica Acta*, 638(1): 1-15.
- Rodríguez-Méndez, M.L., Gay, M., Apetrei, C., De Saja, J.A. (2009): Biogenic amines and fish freshness assessment using a multisensor system based on voltammetric electrodes. Comparison between CPE and screen-printed electrodes. *Electrochimica Acta*, 54(27): 7033-7041.
- Sankaran, S., Khot, L.R., Panigrahi, S. (2012): Biology and applications of olfactory sensing system: A review, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171-172: 1-17.
- Schaller, E., Bosset, J.O., Escher, F. (1998): Electronic noses' and their application to food. *LWT-Food Science and Technology*, 31(4): 305-316.
- Schweizer-Berberich, P.M., Vaihinger, S., Gopel, W. (1994): Characterization of fish freshness with sensor arrays. *Sensors and Actuators B Chemical*, 18(1-3): 282-290.
- Şahin, M., Saraoğlu, H. (2010): Investigation of *Escherichia coli* bacteria growth process using electronic nose. In: *Biomedical Engineering Meeting (BIYOMUT), 2010 15th National*, 1-4. IEEE.
- Tian, X.Y., Cai, Q., Zhang, Y.M. (2012): Rapid classification of hairtail fish and pork freshness using an electronic nose based on the PCA method. *Sensors (Basel)*, 12(1): 260-77.
- Tokuşoğlu, O., Balaban, M.O. (2004): Correlation of odor and color profiles of oysters (*Crassostrea virginica*) with electronic nose and color machine vision. *Journal of Shellfish Research*, 23: 143-148.
- Vazquez, M., Lorenzo, R., Cela, R. (2003): The use of an 'electronic nose' device to monitor the ripening process of anchovies. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(3): 273-284.
- Wang, P., Xu, G., Qin, L., Xu, Y., Li, Y., Li, R. (2005): Cell-based biosensors and its application in biomedicine. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 108(1-2): 576-584.
- Winquist, F., Sundgren, H., Lundstrom, I. (1995): A practical use of electronic noses: quality estimation of cod fillet bought over the counter. In: *Solid-State Sensors and Actuators, 1995 and Eurosensors IX. Transducers' 95. The 8th International Conference on*, 695-698. IEEE.
- Wu, T.Z., Lo, Y.R. (2000): Synthetic peptide mimicking of binding sites on olfactory receptor protein for use in 'electronic nose. *Journal of Biotechnology*, 80(1): 63-73.
- Zhang, S., Xie, C., Bai, Z., Hu, M., Li, H., Zeng, D. (2009): Spoiling and formaldehyde-containing detections in octopus with an E-nose. *Food Chemistry*, 113(4): 1346-1350.

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

ORIGINAL ARTICLE/ORIJİNAL ÇALIŞMA

SHORT COMMUNICATION

KISA MAKALE

SUITABILITY OF CORN HUSK AND COW DUNG AS ALTERNATIVES TO FUEL WOOD FOR SMOKING FISH

Victoria Offuene AYUBA, Victor Tosin KOMODA, Simon Ihie IKAPE

Department of Fisheries and Aquaculture, University of Agriculture Makurdi, Nigeria

Received: 25.11.2014

Accepted: 07.12.2014

Published online: 20.12.2014

Corresponding author:

Victor Tosin OKOMODA, Department of Fisheries and
Aquaculture, University of Agriculture Makurdi, NIGERIAE-mail: okomodavictor@yahoo.com

Abstract:

Using fuel wood for fish smoking is literarily becoming very expensive hence the need to find alternative smoking source. This study evaluates the suitability of Cow dung and Corn husks as possible alternatives fish smoking sources to the conventional fuel wood. The results obtained reveals that fish samples smoked with Corn husks had the highest protein level while the least value was observed with Cow dung. Microbial count showed significantly low level in fish smoked with Corn husks (1.2×10^5) compared with the highest level observed in Cow dung (1.81×10^5). Organoleptic assessment revealed fish smoked with Corn husk and Fuel wood to be better in appearance, aroma, taste and texture. Profit analysis indicates it more expensive to smoke 3kg fish using Fuel wood (₦2510) compared to Cow dung and Corn husk (₦2210), hence, for profitability and reasons of hygiene, corn husk is strongly recommended for fish smoking above fuel wood and cow dung.

Keywords:

Clarias gariepinus, Proximate composition, Organoleptic, Microbial load, Cow dung, Corn husks

Introduction

Fish is a very important source of animal protein in the diets of man, it is cheap and highly acceptable, with little or no religious bias, which gives it an advantage over pork or beef (Eyo, 2001). Nigerians are large consumers of fish and it remains one of the main products consumed in terms of animal protein. The fishery sector is estimated to contribute 3.5% of Nigeria's Gross Domestic Product (GDP) and provides direct and indirect employment to over six million people (Trade Invest Nigeria, 2010). However, only about 50% of the demand for fish is currently being met by local supply and the gap between the demand and supply of fish is widening due to increase in population, poor post-harvest handling, lack of processing and storage facilities and utilization of unconventional fish species (Ayuba and Omeji, 2006)

Spoilage is a metabolic process that causes food to be undesirable or unacceptable for human consumption due to changes in sensory and nutritional characteristics (Doyle, 2007). The processing and preservation of fresh fish are of utmost importance since fish is highly susceptible to deterioration immediately after harvest and also to prevent economic losses (Okonta and Ekelemu, 2005). If fish is not sold fresh, preservation methods such as freezing, smoking, drying and heat treatment, sterilization, pasteurization, etc. should be applied to extend the shelf-life (Eyo, 2000). Of these preservation methods, smoking or drying fish is traditionally the oldest method and constitute a large section of the diet of the world's population (Okonta and Ekelemu 2005).

Methods of drying and smoking fish vary between different countries and within the same country may differ depending on the species of fish used and the type of product desired (Obande, 2009). Fuel wood is generally used as the conventional smoking source, however, deforestation, competition of purpose with man and emission of green house gases makes alternative means of fish drying other than fuel wood necessary. Hence this study aims at determining the suitability of cow dung and corn husk (Animal and plant waste respectively) as alternatives smoking sources for fish smoking.

Materials and Methods

Twenty seven matured *Clarias gariepinus* were purchased from the fisheries research farm of the

University of Agriculture Makurdi (UAM), Benue state, Nigeria. The fish were transported to the Fisheries laboratory in UAM North core, washed thoroughly to remove sand and slime and gutted. The fish were divided in to nine batches: with three batches (3kg each) smoke-dried using cow dung, fire wood and corn husk. This was replicated. After the drying process, the proximate compositions of fresh and smoked fish samples were carried out according to the official methods described by AOAC (2000). Sensory evaluation was done for the smoked samples by ten panel member to determine Appearance, Aroma/Odour, Taste, and Texture of the smoked fish from different sources. Scores were allotted using the hedonic scale as stated below: Excellent 5, Very Good 4, Good 3, Fair 2, and Poor 1.

Microbial load were evaluated on the samples using the methods specified by FSSAI (2012) and Guinn et al., (1999)

Gross margin analysis was used to measure the net revenue of the three treatments. According to Berman (2006), gross margin was expressed as

$$GM=GR-TVC$$

Where: GM = Gross Margin

GR = Gross Revenue

TVC = Total Input Cost

Input used for the gross margin analysis was the cost of fresh *Clarias gariepinus*, cost of each smoking source, cost of matches and cost of transportation. Data generated were subjected to statistical analysis ANOVA and where significant differences occurred, the means were separated using fishers LSD at $P<0.05$).

Results and Discussion

The result of weight losses of *Clarias gariepinus* smoke with the different fuel sources shows that fish smoked with fuel wood and corn husk (66.67%) loss the highest weight compared to those smoked with cow dung (63.33%). Proximate composition of smoked fish (Table 2) however reveals lowest moisture content in fish sample smoked with Corn husk (9.42 ± 0.01 %) while the fresh sample fish had the highest moisture content (68.58 ± 0.01 %). The protein content of fresh sample fish were low in crude protein (17.29 ± 0.02 %) while fish smoked with Corn husks had the highest protein level (53.25 ± 0.01 %). Lipid

content of smoked *Clarias gariepinus* with cow dung and fuel wood was higher compared to corn husk and fresh fish (16.33 ± 0.05 and 5.46 ± 0.01 % respectively). Ash content of the smoked samples was higher for fuel wood (5.6 ± 0.01 %) compared to other fuel sources however the least Ash content was observed in fresh fish.

Fish sample smoked with Cow dung had the highest numbers of bacteria count, ($1.81 \times 10^5 \pm 4.0 \times 10^2$ CFU) with two organisms grown on it namely *Streptococcus gram positive cocci* and *Bacillus anthracis*, gram positive (Table 3). Fish sample smoked with fuel wood had the lowest numbers of bacteria ($1.01 \times 10^5 \pm 1.0 \times 10^2$ CFU) with *Staphylococcus spp.* gram positive identified. Also fish sample smoked with Corn husks had $1.2 \times 10^5 \pm 3.0 \times 10^2$ CFU numbers of bacteria count with *Staphylococcus aureus* grown.

Fish samples smoked with Fuel wood were concluded to be superior in appearance, aroma, taste and texture by the panel of assessors used, followed by fish samples smoked with Corn husks, while fish samples smoked with Cow dung had the least scores (Table 4).

Gross profit analysis reveals it is more expensive to smoke 3kg of *Clarias gariepinus* fish with Fuel energy source (₦2510) than smoking the same quantity of fish with Cow dung (₦2210) and Corn husk over the same period of time (Table 5, 6 and 7).

Generally, the aim of smoking fish is to reduce the moisture content to about 15-20% (Eyo, 2001), hence the observed reduction of moisture content of the fresh fish from 68.58% to the range of 9.42% - 11.19% is in line with the above hypothesis. Nerqua ye- Teiteh et al. (2002) reported that different fuel wood reduce the moisture content of

Chrysichthys auratus to between 9-13% which is in line with the result of the present study it was concluded that this moisture content were low enough to prevent little deterioration problems if storage conditions were properly controlled hence, it is expected that reduced moisture content observed in this study reduce activity of spoilage organism hence prolong the shelf of the fish. Okoso-Amaa et al., (1978) indicated that the shelf life of smoked *Sardinella spp.* varied according to the moisture content. Plahar et al. (1996) recommended an initial smoked fish content below 13% before storage. They reported that this condition would also not favour the development of aflatoxin-producing moulds. However, at moisture levels of 15% and above, a great deal of proteolytic and lipolytic deterioration as well as microbial proliferation are favoured (Kaneko, 1976) in contrast to this Olayemi et al. (2011) reported 6-8% moisture as the recommended safe moisture content of dried fish. However, the effective of this ranges to prolong the self life of fish greatly depend on fish species, duration of smoking, duration of storage, storage technology etc. Fat level of fresh sample and fuel wood smoked fish were quite lower than those recorded for cow dung and corn husk, for storage purposes fuel wood smoked fish may stay longer than other sources used in this study because of rancidity of fat content. The fat levels of 15 - 33% are proposed to be high and may cause rancidity problems within a short period of storage by Plahar et al (1991). The crude protein of the smoked fish were quite higher than that obtained in the fresh fish; according to Abdullahi (2011), higher moisture content of fish result into lesser value of crude protein. This may be due to the fact that in fresh fish, the protein is less coagulated than in dried form which is said to increase the digestibility of the protein in fish.

Table 1. Mean weight changes of *Clarias gariepinus* exposed to different smoked sources.

Parameters	Smoke Sources			P-Value
	Fuel wood	Cow dung	Corn husks	
Initial (g)	3000 \pm 0.1	3000 \pm 0.1	3000 \pm 0.1	0.234
Final weight (g)	1000 \pm 2.5 ^b	1100 \pm 10.0 ^a	1000 \pm 15.0 ^b	0.001
Weight loss (g)	2000 \pm 1.5 ^a	1900 \pm 9.9 ^b	2000 \pm 15.0 ^a	0.05
% weight Loss	66.67 \pm 0.5 ^a	63.33 \pm 0.01 ^b	66.67 \pm 0.3 ^a	0.02

Mean in the same row with different superscript differs significantly ($P \leq 0.05$).

Table 2. Proximate composition of fresh and smoked *Clarias gariepinus* using fuel wood, cow dung and Corn husks.

Treatment	Moisture (%)	Ash (%)	Lipid (%)	Fibre (%)	Protein (%)	NFE (%)
Fresh fish	68.58 ±0.01 ^a	1.44 ±0.05 ^d	5.46 ±0.01 ^d	2.23 ±0.02 ^d	17.29 ±0.02 ^d	5.02 ±0.01 ^d
Fuel wood	11.19 ±0.02 ^b	5.6 ±0.01 ^a	14.59 ±0.02 ^a	4.84 ±0.01 ^a	51.72 ±0.02 ^b	12.05 ±0.005 ^b
Cow dung	11.05 ±0.01 ^c	4.66 ±0.00 ^b	19.81 ±0.01 ^a	3.49 ±0.01 ^c	50.14 ±0.01 ^c	10.88 ±0.05 ^c
Corn husk	9.42 ±0.01 ^d	4.43 ±0.01 ^c	16.33 ±0.05 ^b	4.27 ±0.005 ^b	53.25 ±0.01 ^a	12.32 ±0.005 ^a
P. value	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Mean values in the same column with different superscript varies significantly (P<0.05).

Table 3. Bacteria count (total plate count) for fish samples smoked with Fuel wood, Cow dung and Corn husks.

Parameters	Fuel wood	Cow dung	Corn husk	P-value
Bacteria count (CFU)	1.01×10 ⁵ ±1.0×10 ^{2c}	1.81×10 ⁵ ±4.0×10 ^{2a}	1.2×10 ⁵ ±3.0×10 ^{2b}	0.001

Mean in the same row with different superscript differs significantly (P≤0.05)

Table 4. Mean hedonic scores for fish samples smoked with fuel wood, cow dung and corn husks.

	Fuel wood	Cow dung	Corn husk	P-value
Appearance	4.6 ±0.27 ^a	3.4 ±0.34 ^c	3.7 ±0.37 ^b	0.048
Aroma	3.9 ±0.18 ^a	2.9 ±0.36 ^b	3.8 ±0.38 ^a	0.001
Taste	4.2 ±0.23 ^a	3.2 ±0.29 ^c	3.8 ±0.51 ^b	0.018
Texture	4.2 ±0.13	3.3 ±0.33	3.5 ±0.43	0.14

Mean in the same row with different superscript differs significantly (P≤0.05).

Fish sample smoked with Cow dung had the highest numbers of bacteria count, This may be due to the fact that Cow dung being an organic waste product had accumulated these organism prior to been used for smoking hence deposited it on the skin (surface) of the fish in the process of smoking. Collins et al. (1999) had earlier reported that *Bacillus spp* (the organism identified on fish smoked with cow dung and not found on fish smoked with other fuel sources) produces toxic chemicals and can survive certain preparatory processes such as heating and drying due to their endospores and are thus found even on dried foods. However the fact that they were not identified in the other sample means that they were inoculated on the fish from the smoking source hence it may be right to conclude that micro organism isolated on smoke fish differ with smoking source and the

type of fish smoked. Omojowo et al. (2009), had earlier reported bacteria flora (*Bacillus coagulans*, *B. cereus*, *Klebsiella ozanae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*) and fungi (*Aspergillus niger*, *A. candidus*, *A. flavus* and *A. nidulan*) were isolated in potassium sorbate untreated and smoked tilapia. An experiment on fungal infestation and nutrient quality of smoke-dried *Clarias gariepinus*, *Chry-sichthys nigrodigitatus*, *Sarotherodon galilaeus*, *Heterotis niloticus*, *Heterobranchus bidorsalis*, *Synodontis schall*, *Synodontis clarias* and *Clarias anguillaris* by Fafioye et al. (2008) revealed *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.* and *Penicillium spp.* as isolated of fungi while bacteria included *E. coli*, *S. aureus* and *Salmonella spp.* of all these micro organisms *Aspergillus spp.* was found in all the fish samples and

ranked the most prevalent species. The total bacterial count of the fish smoked with different fuel sources were observed to be within the acceptable range of Aerobic Plate count of 5.0×10^5 cfu/g (ICMSF, 1986), however *Staphylococci spp* observed in fish smoked with fuel wood and corn husk exceeded the recommended level 10^3 cfu/g. This observation is also in line with the finding of Ayuba et al. (2013).

Organoleptic assessment of smoked samples reveals that in terms of appearance wood source

smoked fish were better compared to other smoking sources, the glossy oily appearance observed for the fuel wood smoked sample is in line with the reports of Krasemann (2006) who concluded that smoking fish with soft wood material add appreciable colour to the smoked product. Also Akinneye et al. (2007) in their experiment reported that smoked dried fishes had the most attractive colour compared to oven and sun dried samples. The unattractive colour observed for cow dung may be due to excess deposition of carbon organic waste on the fish skin.

Table 5. Economic Analysis of the cost of smoking fish with Fuel wood, Cow dung and Corn husks

Fuel wood				Cow dung				Corn husk			
Input	Quantity.	Unit	Total	Input	Quantity.	Unit	Total	Input	Quantity.	Unit	Total
	kg	cost. ₦			kg	cost. ₦			kg	cost. ₦	
Fresh Fish	3kg	700	2100	Fresh Fish	3kg	700	2100	Fresh Fish	3kg	700	2100
Fuel wood	35kg	8.0	300	Cow dung				Corn husk			
Matches. Box	1	10	10	Matches	1	10	10	Matches	1	10	10
Labour				Labour				Labour			
Transport	2 drops	50	100	Transport	2 drops	50	100	Transport	2 drops	35	70
Total			₦ 2510	Total			₦ 2210	Total			₦ 2180

Table 6. Gross profit margin analysis of fish smoked with Fuel wood, Cow dung and Corn husks.

Parameters	Gross Profit (Gross revenue – Total cost) ₦		
	Fuel wood	Cow dung	Corn husks
Cost of smoking fish	3480 – 2510	3000 – 2210	3480 – 2180
(1) Fuel wood	= ₦ 970	= ₦ 790	= ₦ 1300
1 piece of fish = ₦ 290			
1 kg = 4 pieces of fish			
3 kg = 12 pieces			
12 pieces = ₦ 3480			
(2) Cow dung.			
1 piece of fish = ₦ 250			
1 kg = 4 pieces			
3 kg = 12 pieces			
12 pieces = ₦ 3000			
(3) Corn husks.			
1 piece of fish = ₦ 290			
1 kg = 4 pieces of fish			
3 kg = 12 pieces			
12 pieces = ₦ 3480			

Table 7. Economic analysis of fish smoked with fuel wood, cow dung and corn husks.

	Fuel wood	Cow dung	Corn husk	P-value
Amount of smoking sources used (kg)	35.5 ±0.5 ^a	37.15 ±0.35 ^a	30.5 ±0.5 ^b	0.004
Cost of smoking (₦)	2510.0 ±12.5 ^a	2210.0 ±5.00 ^b	2180.0 ±15.0 ^c	0.001
Selling Price (₦)	3480.0 ±5.00 ^a	3000.0 ±5.00 ^b	3480.0 ±25.0 ^a	0.001
Profit (₦)	970.0 ±2.5 ^b	790.0 ±20.0 ^c	1300.0 ±5.0 ^a	0.001

NOTE: Mean in the same row with different superscript differs significantly ($P \leq 0.05$)

Food colour has been reported to help in determines quality, degree of processing and spoilage as it affect the perception and evaluation by other sense (Norman and Hotchiss, 1996), hence the low score of other organoleptic parameter of the other smoke sources compared to the fuel wood.

The total cost of sample smoked with Fuel wood had a higher cost (₦2510) than the other samples smoked with Cow dung (₦2210) and Corn husks (₦2180) hence making profit of smoking with Corn husks higher (₦1300) compared to the sample smoked with Fuel wood (₦970) and Cow dung (₦790).

Conclusion

The results from this study have shown that corn husks is a better alternative smoking source as it reduce smoking cost, more hygienic processing source, cheaply and readily available.

References

- Abdullahi, M.N. (2011): Organoleptic assessment and proximate composition of *Heterobranchus longifilis* smoked with various energy sources. Post graduate diploma thesis, University of Agriculture Makurdi.
- Akinneye, J.O., Amoo, I.A., Arannilewa, S.I. (2007): Effects of drying methods on the nutritional composition of three species of (*Bonga sp*, *Sardinella sp* and *Heterotis niloticus*). *Journal of Fisheries International*, 2(1): 99-103.
- AOAC (2000): Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist 15th Ed., AOAC, Arlington, Virginia, pp. 275-276.
- Ayuba V. O., Alhassan M.I., Jimmy U.U. (2013): Assessment of the microbial load of smoked sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) sold in Makurdi Markets. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(9): 277-287
- Ayuba, V.O., Omeji, S.O. (2006): Effect of insect infestation on the shelf life of smoked dried fish. Proceedings of the 21st Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria (FISON), Calabar, 13th-17th November, pp. 357-359.
- Collins, C.H., Grange, J.M., Lyne, P.M. (1999): Fish toxicology. Microbiological methods. pp. 160-171.
- Doyle, E.M. (2007): Microbial Food spoilage-Losses and Control Strategies. Food Research Institute, University of Wisconsin – Madison, WI 53706.
- Eyo, A.A. (2000): Fish processing technology in the tropics. University of Ibadan Press. pp. 165-168.
- Eyo, A.A. (2001): Fish Processing Technology in the Tropics. A publication of National Institute for Fresh water Fisheries Research (NIFFR).PMB 6006, New Bussa, Nigeria.
- Fafioye, O.O., Fagbohun, T.R., Olubanjo, O.O. (2008): Fungal Infestation and Nutrient Quality of Traditionally Smoke-Dried Freshwater Fish. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8: 7-13
- FSSAI (Food Safety and Standard Authority of India) (2012): Manual of methods of analysis of food and fish products. Lab manual 6. pp 80, available at <http://fssai.gov.in/Portals/0/Pdf/15Manuals/MEAT%20AND%20FISH.pdf>
- Garcia, F., Simal, G. (2005): Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke from different woods and their transfer during traditional smoking into chorizo sausages with collagen and tripe casings. *Food Additives & Contaminants*, 22: 1-8.

- Giunn, P.J. Cartner, M.E., Makey, B.K., Cartner, G.R. (1999): Clinical Veterinary Microbiology, Virginia, U. S.A.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food) (1986): Microorganisms in Foods 2, Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specifications 2nd ed. Blackwell science, Oxford. pp 753 -760
- Kaneko, S. (1976): Smoked meat and microorganisms. *New Food Ind.* 18, 17-23. In *A review of Japanese studies. Fish smoking and drying. The effect of smoking and drying on the nutritional properties of fish* (ed. T. Moto) (1988). Elsevier Applied Science (ed. J. R. Burt), pp. 91-120.
- Krasemann, S. (2006): History of fish smoking. http://www.finesalmon.com/Salmon_Food/A_History_of_Smoke_Preservation.asp.
- Nerqua ye- Tetieh, G.A., Quashie-Sam, S.L., Dassah, A.L. (2002): Evaluation of fuel wood quality of four tree species used for fish smoking in the Sene District of the Brong Ahafo Region of Ghana. *Ghana journal of Agricultural Science* 87-94.
- Norman, N.P., Joseph, H.H. (1996): Food Science, 5th Edition, Springer publisher pp 593.
- Obande, R.A. (2009): Hand book on fish processing and Preservation techniques, swisston digital press, p22.
- Okonta, A.A., Ekelemu, J.K. (2005): A preliminary study of micro-organisms associated with fish spoilage in Asaba, Southern Nigeria. Proceedings of the 20th Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria (FISON), Port Harcourt, 14th-18th November, 557-560 pp.
- Okoso-Amaa, K., Eyeson, K.K., Bonsu, L., Nerquaye-Tetteh, G.A. (1978): *Report on the activities of the processing sub-committee. GHI IDRC. Fishery Research and Development Project.* Food Research Institute, Accra, Ghana.
- Olayemi, F.F, Adedayo, M.R., Bamishaiye, E.I., Awagu, E.F. (2011): Proximate composition of catfish (*Clarias gariepinus*) smoked in Nigerian stored products research institute (NSPRI): Developed kiln. *Int.J. Fisheries and Aquaculture.* Vol. 3(5), pp. 95-97, Available online at <http://www.academicjournals.org/IJFA>.
- Omojowo, F.S., Idris, G.L., Ihuahi, J.A. (2009): Comparative Assessment of Potassium Sorbate and Sodium Metabisulphite on the Safety and Shelf Life of Smoked Catfish. *Nature and Science*, 7(10): 10-17.
- Plahar, W.A., Nti, C.A., Steiner-Asiedu, M. (1996): Studies on fish consumption patterns and fish quality at household level in the middle belt districts of Ghana. *A Project Report submitted under the Ghana/Netherlands Regional Artisanal Fish Processing and Applied Research Project.* Food Research Institute, CSIR, Accra, Ghana
- Plahar, W.A., Pace, R.D., Lu, J.Y. (1991): Effects of storage methods on the quality of smoked-dry herring (*Sardinella eba*). *Journal of Science Food and Agriculture*, 57: 597-610.
- Trade Invests Nigeria, (2010). Trade invests Nigeria News letter *Website, March, 2010 Issue 27, published by Africa investment publishing.*

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

REVIEW ARTICLE

DERLEME MAKALESİ

PESTICIDE RISKS OF SEAFOOD IN TURKEY

Şafak ULUSOY, Özkan ÖZDEN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Department of Seafood Processing and Technology, Istanbul/Turkey

Received: 10.10.2014

Accepted: 06.12.2014

Published online: 20.12.2014

Corresponding author:

Şafak ULUSOY, İstanbul University, Faculty of Fisheries,
Department of Seafood Processing and Technology, Ordu
Caddesi No: 200, Laleli-Fatih, 34134 Istanbul/Turkey

E-mail: safak@istanbul.edu.tr

Abstract:

Turkey is a rich country in terms of seas and inland water sources. The aquatic ecosystems in Turkey are threatened by the agricultural activities and pesticide contamination. In parallel to the world, the use of pesticides began in the 1940s in Turkey. In the beginning of 1970's some pesticides have prohibited by reason of their accumulation to environment and food chains, toxic effects on non-target organisms. Pesticides can easily be included to the food chain in the aquatic environment which causes many risks on human health and food safety. There are still not enough data on the concentrations of pesticides in seafood and fish in Turkey.

Keywords:

Pesticide, Seafood, Fish, Food safety, Turkey

Introduction

Pesticide is generally used to describe chemical and biological products which have been specifically developed to control pests, weeds and diseases particularly in the production of food (FAO, 2002). There are several classes of pesticides including insecticides (protect against and/or control insect infestations), fungicides (protect against and/or control the spread of fungal diseases), herbicides (control the competing effects of weeds), molluscicides (control the destructive effects of slugs and snails) and rodenticides (control the activities of rats and mice) (Hamilton and Crossley, 2004).

Pesticides are divided into three main classes according to their chemical structures:

- Organochlorine pesticides
- Organophosphorous pesticides
- Carbamates
- Herbicide acids: 2,4-D, 2,4,5-T
- Urea herbicides: dinuron, linuron
- S-triazines: atrazine, simazine
- Pyrethroids
- Others: organomercury and tin compounds

Organochlorine pesticides are insecticides, which are usually obtained with chlorination of organic substances including carbon-hydrogen and chlorine. They are only insoluble in water, but they do not evaporate easily. Due to their high persistence and lipophilicity, they can cause damage in living organisms by accumulating in fatty tissues. Additionally, they cause environmental pollution due to they are more resistant to nature conditions than the other groups. Therefore, they highly damage the environment, besides their benefits. This group includes major pesticides such as DDT, HCH and its isomers [α -HCH, β -HCH, γ -HCH (lindane)], heptachlor, dieldrin, aldrin, endosulfan, toxaphene and methoxychlor (Ağca, 2006; Chopra et al., 2010; Erdoğan, 2010).

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are chlorinated organic compounds which were produced for industrial purposes in 1930s. PCBs are persistent environmental substances, lipophilic and for certain congeners, bioaccumulative due to their relatively low reactivity and high hydrophobicity. They are found in the sediment by connecting to organic waste. PCBs can contaminate environment, seafood and threat human

health as well as OCPs (Bocio et al., 2003; Güvenç and Aksoy, 2007; Seyran and Erişir, 2008).

In recent years, many pesticides of different chemical compositions are currently used for agricultural and control purposes and maintain the availability of low cost all over the world and the use of them has increased rapidly in the last fifty years (Bulut et al., 2010; Mathur et al., 2010; Wilson and Otsuki, 2004). However, chemical pesticides are usually not target-specific and therefore, may cause many problems to non target species. Their transportation is rather easily among air, water, land and span boundaries of programs, geography and generations. Many of them are quite persistent for long periods in the environment. Especially, OCPs are generally characterized by strong persistence, bioconcentration through food webs, and long-range transport. They may impart toxicity to the groundwater and cause harmful health effects. These problems include various toxic effects on immune, nervous, endocrine and reproductive systems, potential carcinogenic effects, brain damage in children, lowered IQ and permanent kidney damage; human pesticide poisonings, fish and bird deaths, pesticide resistance, contamination of food and water with pesticide residues.

Pesticide residues are unused pesticides and also pesticide's degradation product and metabolites in the various inter-compartments. They are transformed into a range of different products due to their susceptibility to biotic and abiotic degradation. Pesticides residues are generally characterized due to lipophilic and hydrophobic properties. Therefore, they persist in the environment and bioaccumulate in food chains, and impose various toxic effects in marine organisms including fish, seafood, planktons etc. Entrance of them into food chain are by atmospheric transport of emissions and their deposition on plants, soils and water. Thus entering the food chain, pesticides residues accumulate and concentrate in the fat of animal products, fish and shellfish. For these reasons, adverse effects on the aquatic ecosystem and human health of pesticides have an important role in environmental and public health problems in the world (Aktümsek et al., 2002; Chopra et al., 2010; Çakıroğulları et al., 2011; Harvey et al., 2008; Kalyoncu et al., 2009; Llobet et al., 2003; Özçelik et al., 2011; Sweilum, 2006; Turgut, 2003; Saler, 2006).

Pesticides in Turkey

Agriculture is one of the leading sectors in the Turkish economy. Total cultivated agricultural land is 20 539 hectares, as total agricultural land is 38 247 hectares in 2011 in Turkey. Despite the decreasing share of gross domestic product, agricultural production has been increasing since 2000. The amount of agricultural production in 2009 was TRY 79 billion (TÜİK, 2011; Turkish Agriculture Industry Report, 2010). The usage of pesticides play a very important role in our country in order to increase the amount of product obtained per unit area in these agricultural areas as well as in other countries. The world pesticide consumption is approximately 3 million tons, 0.6% is the share of Turkey. Although pesticide use per hectare in Turkey is very low compared to developed countries, the most consumed pesticides have significant environmental and health risks. Uncontrolled and unconscious use of pesticides in agriculture affect non-target organisms, which cause deterioration of ecological balance by contaminated land, inland waters and sea (Başpınar et al., 2010; Kaya, 2007; Yeşil and Ögür, 2011). The usage of pesticides in Turkey started with use of DDT in the 1960s after II World War. Even after the ban of OCPs including aldrin, endrin, DDT, dieldrin, hexachlorocyclohexane (HCHs), heptachlor, chlordane and toxaphene between 1971 and 1989, they are still being used illegally in some regions (DPT 2001; Okay et al., 2011). Unconscious and dangerous practices of them are very common, although Turkey is country that uses very little pesticide now (Bulut and Tamer, 1996). Pesticide consumption values of Turkey are shown in Table 1 according to 2008 data. The usage of PCBs in Turkey was restricted in the industry in 1973 and their usage in open systems was strictly banned on January 1 1996 (Güvenç and Aksoy, 2007). Regulation about the licensing of pesticides and similar substances came into force on 17 February 1999 in Turkey.

Use of total annual pesticide was 33,000 tons between 1998 and 2004 in Turkey (Güvenç and Aksoy, 2007; Okay et al., 2009). According to the data 2008, the amount of the use of total insecticides and the other total pesticides were 10827.00 and 12137.00 tons, respectively (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2011). Marmara, Aegean and Mediterranean Regions of Turkey are major areas

where pesticides are most used. As shown Figure 1, insecticides are the most consumed group in these pesticides (Arslan, 2009; DPT, 2008).

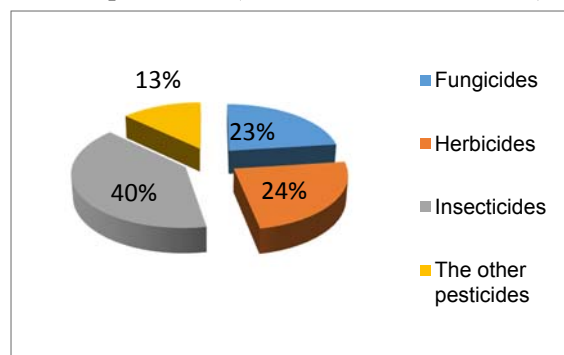


Figure 1. Pesticide usage amount of Turkey according to the groups in 2004 (DPT, 2008)

Table 2 shows some pesticides prohibited in Turkey. The usage, production and importation of most pesticide components were prohibited by the reason of toxicological and ecotoxicological risks (DPT, 2001). Figure 2 shows the regional agricultural production in Turkey (DPMARA, 2011).

The most commonly used pesticides in Turkey carries significant risks for the environment and human health, despite the pesticide consumption in Turkey is less than the world average (Delen et al., 2005). There are claims about banned or restricted pesticides are still being used, since pesticides are still determined high concentrations in aquatic ecosystems and seafood (Ayas, 2007).

Seafood and Pesticides

Today, the widespread use of pesticides has resulted in the presence of their residues in the aquatic environment (Özçelik et al., 2011). Large quantities of pesticides reside in coastal sediments, open-ocean waters and freshwater ecosystems. Pesticides residues reach the aquatic environment through direct runoff, leaching, careless disposal of empty containers, uncontrolled discharge of contaminated industrial equipment washings, etc. (Atamanalp and Yanık, 2001; Ferrante et al., 2010; Smith and Gangolli, 2002). Distribution of a pesticide in the environment varies according to its chemical structure, physical properties, formulation type, application method, the climate and agricultural conditions (Topçu Sulak et al., 2012).

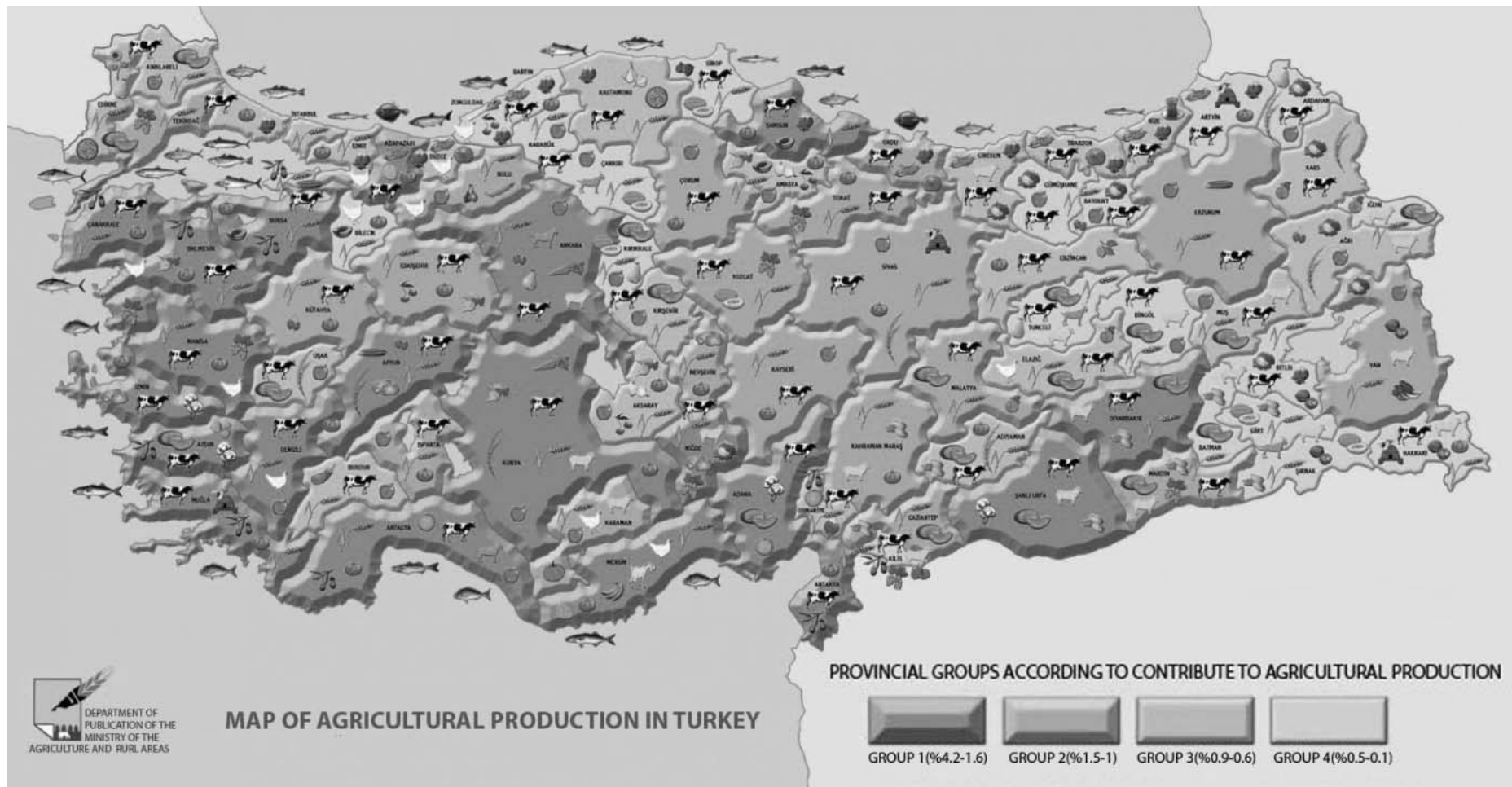


Figure 2. Map of agricultural production of Turkey (Department of Publication of the Ministry of the Agriculture and Rurl Areas, 2011).

Table 1. Pesticides Consumption in Turkey (tonnes) (DPT, 2008)

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Insecticides	10.450	9.089	11.788	11.544	9.159	11.492	13.793
Herbicides	5.743	7.408	6.958	6.192	7.416	11.352	8.707
Fungicides	8.613	7.036	7.777	5.909	8.075	9.859	10.394
Others	9.605	8.058	7.025	4.691	6.667	3.221	2.549
Total	34.411	31.591	33.548	28.336	31.317	35.924	35.443

Table 2. Pesticides prohibited in Turkey

Name	Prohibited date
Dieldrin	1971
Aldrin	1979
Endrin	1979
Lindane	1979
Heptachlor	1979
Chlordane	1979
E-Parathion	1979
2,4,5-T	1979
2,4,5-T	1979
Chlordimeform	1979
Mercury chemicals (methoxyethylmercury chloride, phenylmercuryacetate, phenylmercury chlorid)	1982
Arsenical chemicals	1982
Chlorbenzilate	1982
DDT (Limitation 1978)	1985
BHC (Limitation 1978)	1985
Fluorodifen	1987
Chlorpropylate	1987
Dinoseb	1988
Daminozide(Alar 85)	1989
Toxaphene	1989
Zineb	1991
Azinphos Ethyl	1996

(DPT, 2001)

Pesticide residues may enter a marine organism in several ways: direct uptake from contaminated water through dermis or gills, consumption of contaminated sediment, or consumption of previously contaminated organisms. Pesticides are also applied directly to water to control unwanted algae and invertebrates (Kaya, 2007). It is generally known that the resistant variety residues which are

identified in marine environment move to the sea through the atmosphere (Figure 3).

Once these contaminants enter an organism, they tend to remain in the animal tissues and may build up with subsequent exposures. As contaminated organisms are consumed, contaminants may be passed from one organism to the next (Barlas et al., 2000; Harvey et al., 2008).

Transition of Pesticides to Seafood

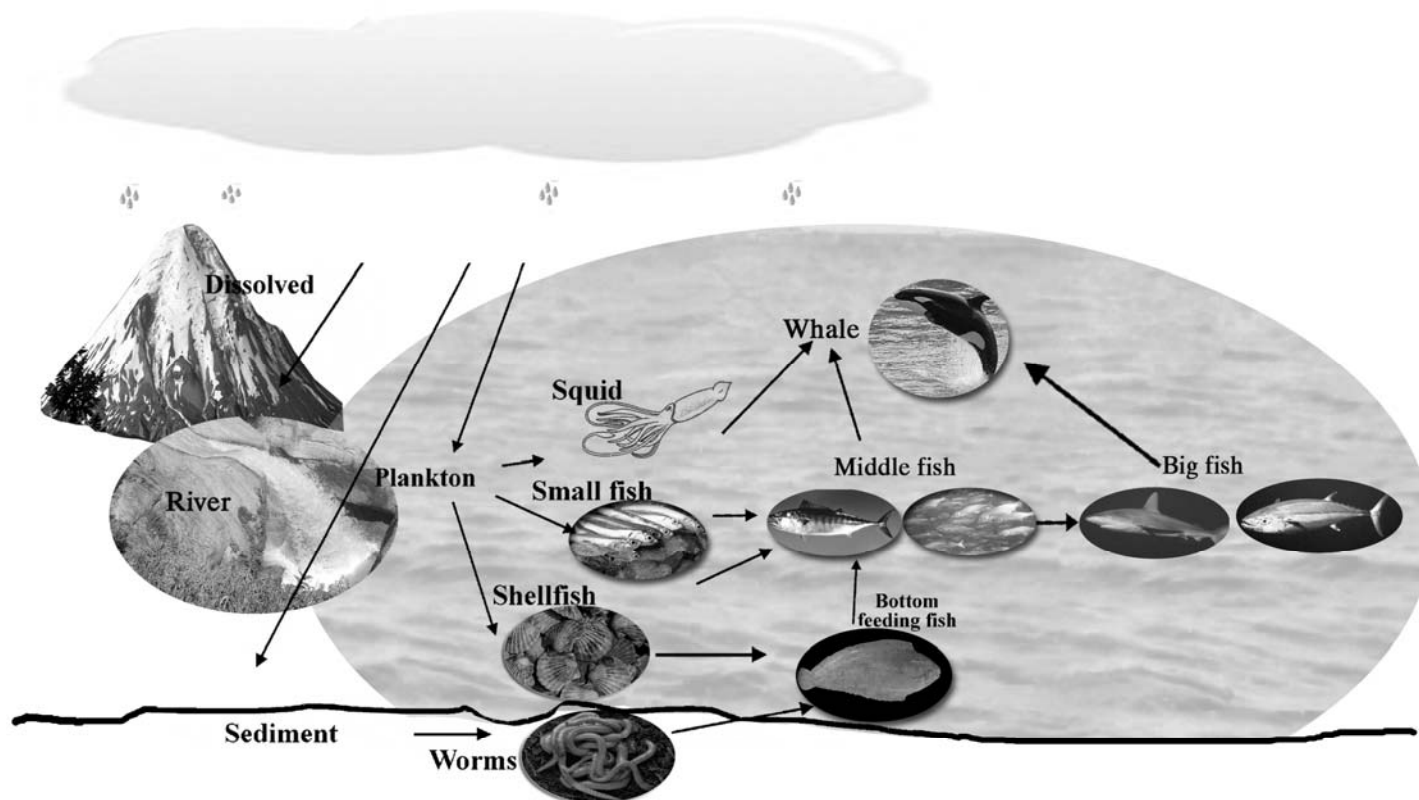


Figure 3. Moving of organochlorine compounds from air, river, sewage to marine environment (modified by Smith and Gangolli, 2002).

Organochlorine pesticides containing DDT, BHC and its isomers, endosulfan, aldrin, methoxychlor, chlordane, endrin, heptachlor, and PCBs are persistent in the environment and are also capable of long-range transport and bioaccumulation in human and other animal tissues. These persistent highly synthetic compounds accumulate in the organs and tissues of living different organisms passing through the biological phospholipid membranes. Thus, they are conveyed through the food chain to humans (Chopra et al., 2010; Syasina, 2003). These compounds have low water solubility, particularly in seawater and they are lipophilic with high octanol/water partition coefficients ($\log P_{o/w}$). Thereby, fish and shellfish represent an important source of OCP intake (Smith and Gan-

golli, 2002; Takazawa et al., 2008). These chemical residues usually concentrate in tissues with high fatty content or in muscle, or in specific organ systems, depending on the lipophilic nature of the specific chemical and how the chemical is metabolized (Barlas et al., 2000; Harvey et al., 2008). These lipophilic, persistent pollutants accumulate in these fat deposits and can cause toxic effects. The distribution of these chemicals in aquatic environment is dynamic, complex and depends on the seasonal variations and local conditions (Smith and Gangolli, 2002). Therefore, aquatic ecosystems play an important role in major source of human exposure to organochlorine compounds with food chain (Ferrante et al., 2010; Takazawa et al., 2008).

PCBs are found in sediment by connecting to organic waste due to lipophilic properties of them. Thus, they accumulate in organisms which live in sediment. PCBs enter the food chain by fish and other seafood eat these aquatic organisms. Therefore, aquatic organisms strongly accumulate PCBs from water and food sources. Despite some PCBs are metabolized by fish, some of them accumulate in their fatty tissue. PCBs accumulation in fatty tissue depends on the amount and duration of exposure, chemical structure of the compound. PCBs which contain high amounts of chlorine tend to accumulate more than the other pesticide which contain low amount of chlorine. PCBs which contain low chlorine amount are disposed faster by metabolism. The accumulation of residues in any aquatic organism in the marine environment varies according to the organism occupies in marine food chain and from country to country. Despite the low consumption of fish and seafood in human diet, they are major sources of these compounds into the human body. There have been confirmed that most of these compounds affects human health in the world (Boscolo et al., 2007; Çakıroğulları et al., 2011; Güvenç and Aksoy, 2007). Concentrations of pesticide residues in the fish are about 1000-10000 times higher than in water. Although seafood consumption is very useful for human health, seafood consumption has been reported as an important route of human exposure to a variety of chemical contaminants. So, fish is an indicator because of containing high concentrations of these substances. The amount of pesticide residues varies according to the species of fish and their sizes (Aktümsek et al., 2002; Barlas et al., 2000; Storelli, 2008).

Seafood Safety Related to Pesticides in Turkey

Today, nutrition is one of the most important problems in the growing world population. Food safety is a significant concern for food processors and consumers. Therefore, the use of pesticides has increased for getting more efficiency in agricultural areas. Although pesticides provide significant benefits, there are serious concerns regarding their use in the world because of the chemical stability of these compounds, their high lipid solubility and toxicity to humans and animals (Ezemonye et al., 2009; Karakaya and Boyraz, 1992; Mead et al., 1999). Their lipophilicity and resistance to degradation leads to a lifelong accumulation of these compounds in human tissues and fluids (Kurşun and Mor, 2008).

Food consumption is an important pathway for exposure to pesticide contaminants and these exposures to pesticides in food may pose a public health risk (Liu et al., 2010). Organic pollutants in food accumulate in biological organisms especially fish and meat because of lipophilic and stability environment properties (Ağca, 2006). Seafood usually contains residues of pesticide and is often considered to be a major source of intake of these contaminants for humans (Falandysz et al., 2004). Pesticides such as OCPs and polychlorinated biphenyls adversely affect environmental system and human health, and therefore, clarifying the residual concentrations of OCPs in aquatic biota is necessary to assess their risk to human health and to protect natural ecosystems (Takazawa et al., 2008). When pesticides are used over the recommended doses, they can leave too much residue in foodstuffs (Karakaya and Boyraz, 1992). Levels of pesticide residues in foodstuffs should not cause harm to human, animal and environmental health. Therefore, to know amount of pesticide residue is important for human health and export food products. The tolerance limit of produced any new pesticide must be determined with pharmacological and toxicological examinations before being released (Kınık, 2002). Developing countries prefer to use cheap chemicals such as DDT, HCH, BCH. That's why residues in food, contamination of environment and exposure of public are higher. They also entail risks to public health (Carvalho, 2006). Although consumption of pesticides is very low in our country, unconscious and dangerous practices are very common (Bulut ve Tamer, 1996). Table 3 shows maximum residue levels of some pesticides in all products according to Turkish Food Codex. Some pesticide values of seafood determined in Turkey are shown in Table 4 and Table 5. The PCBs levels in the studies were not hazardous to people. The maximum limit value of sum of PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 and PCB 180 in fish meat is 75 ng/g according to Turkish Food Codex (Turkish Food Codex, 2011). The maximum residue limits of OCPs have not been determined for fish and seafood yet in the Turkish Food Codex and European Commission Directive. Hence, these values could not be evaluated in terms of food safety and public health (Aksoy et al., 2012).

Turkey is a country surrounded by seas on three sides and is considered to be affected by the risks of pesticides due to having large agricultural area and 26.2 million hectares of land in terms of sea,

lakes, ponds and streams (Agricultural and Food Panel, 2003; Başçınar et al., 2008).

These aquatic ecosystems have been contaminated by persistent pollutants of agricultural and industrial origin (Erkmen and Kolankaya, 2006). So, the determination of presence of pesticides in fish and seafood is important not only from ecological but also from public health perspective (Kalyoncu et al., 2009).

Although usage of OCPs has been prohibited in most countries including Turkey, they were detected in surface waters, sediments and suspended solid more than many years after they were prohibited (Turgut, 2003).

Studies on pesticide residues in seafood in Turkey are very low (Delen et al., 2005). As a result, the levels of pesticide on seafood should be done consistently and their results should be published in reports. The ministry of government should monitor the levels of pesticides regularly and evaluate the results properly. Both producers and consumers should be made conscious in order to prevent pesticide contamination in fish and seafood.

Pesticide usage should be controlled to ensure food safety for public health in Turkey, as well. Low risk and environmentally friendly pesticides should be used just as in the case of Europe and America.

Food consumption is the most important factor affecting human health in the life span. Health problems are one of the most important issues in the world. Hence, this is the most sensitive over the society. Seafood is expected to be most important

protein source of the future with increasing global warming. In this sense, a healthy supply of seafood is becoming more important for countries and societies. In this field, marine contamination is an increasing major problem due to developing industry and modern farming methods. Therefore, pesticide consumption limit values and, how often and how much amount of pesticides got the consumer in seafood nutritional regime have great importance in the most of the countries. Intensive consumption of seafood will lead to various toxicity and carcinogenic effects depending on the kind of pesticide being exposed.

Conclusion

In terms of public health, a regular monitoring is required not only for marine and aquatic areas, but also for the whole environment (including the agricultural sector) for pesticide contamination in Turkey. Informing consumers by the Ministry with one or two annual reports will help the formation of properly accessible references regarding world nutrition literature. Thus, this will also accelerate to take necessary measures. Open access to all this information on the internet is also very important.

Agricultural and industrial usage policies of pesticides, common monitoring programs should be established by countries that contain or limit marine and inland waters against the pollution. Consumer awareness trainings are also required for the implementation of all these procedures in a healthy way. It means that self-control system of all individuals living in these countries will create.

Table 3. Maximum residue levels of some pesticides in all products (Turkish Food Codex 2009).

Compound	Amount (ng/g)
Heptachlor	10
Endrin	10
∑ DDT	50
HCB	10
Lindane	10
Chlordane (total of cis and trans chlordane)	10

Table 4. OCPs concentrations in marine organisms from various geographical locations in Turkey (ng/g)

Sampling sites	Species analyzed	Aldrin ng/g	Heptachlor Epoxide ng/g	Dieldrin ng/g	Endrin ng/g	pp'-DDT ng/g	pp'-DDD ng/g	pp'-DDE ng/g	∑ DDT ng/g	HCB ng/g	Lindane ng/g	Endosulfan sulphate ng/g	References
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Sardine)-	-	-	0.4-0.5	0.2	0.3-0.5	4.1-1	11.1-6.2	17.1-7.6	0.3-1.1	-	-	Özden et al., 2001
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Anchovy)	-	-	1.4-0.3	0.5	1.8-1.7	9.7-4.0	13.6-7.5	28.2-13.8	1.1-0.4	-	-	Özden et al., 2001
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Pelamide)	-	-	2.1	nd	0.1-0.03	72.3	6.9	146.6	2	-	-	Özden et al., 2001
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Trout)	-	-	0.2	nd	0.1-0.03	2.4	3.7	8.3	16.4	-	-	Özden et al., 2001
Istanbul Bosphorus	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	-	-	0.4	0.8	1	7.4	4.6	130	0.2	-	-	Özden et al., 2002
Sir Dam Lake	<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	-	nd-1.23	0.35-13.0	4-156	-	0.03-0.41	nd-0.67	-	Erdogrul et al., 2005
Marmara Sea	Anchovy	-	-	-	-	23.60	79.54	92.34	-	4.92	-	-	Coelhan et al., 2006
Marmara Sea	Horse Mackerel	-	-	-	-	67.55	146.45	144.18	-	6.91	-	-	Coelhan et al., 2006
Marmara Sea	Young Bluefish	-	-	-	-	85.86	203.72	211.68	-	11.15	-	-	Coelhan et al., 2006
İzmit Gulf	FWhiting)	-	-	-	-	-	-	-	46.74-3377.50	-	-	-	Çakıroğulları, 2006
İzmit Gulf	Horse Mackerels	-	-	-	-	-	-	-	42.85-2086.97	-	-	-	Çakıroğulları, 2006
Meriç Delta	<i>Cyprinus carpio</i>	nd	3.041-1.25	17.78-1.35	31.5-8.06	52.45-2.68	nd-8.83	14.03-2.2	6.14-62.25	-	2.49-0.49	40.4-4.23	Erkmen and Kolankaya, 2006
The mid Black Sea coast of Turkey	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<0.12-0.879	<0.05-2.419	<0.12	<0.15-7.782	<0.18	<0.18-14.015	<0.12-0.23	-	<0.10-0.364	<0.12-1.511	<0.10-0.80	Ozkoc et al. 2007
Konya Markets (Anatolia part)	Horse Mackerel	16.1	16.3	12.6	3.26	4.14	nd	19.2	-	-	5.4	-	Kalyoncu et al., 2009
Istanbul Strait in the Marmara Sea	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0.00288-0.13	0.0162-0.0764	0.0554-0.386	0.0418-0.0503	-	-	-	-	0.00833-0.116	-	-	Okay et al. 2011

nd: not detected

Table 5. PCB concentrations in marine organisms from various geographical locations in Turkey (ng/g)

Sampling sites	Species analyzed	PCB-28 ng/g	PCB-52 ng/g	PCB-180 ng/g	PCB-138 ng/g	PCB-153 ng/g	Sum PCBs ng/g	References
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Sardine)	0.2-0.6	0.3-1.5	0.3-0.6	1.3	0.5-1	-	Özden et al., 2001
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Anchovy)	0.3-0.8	0.2-7.9	0.5-1	0.5-1.9	1-2.5	-	Özden et al., 2001
Istanbul Markets (Is the largest city in Turkey)	Canned fish (Pelamide)	0.3	nd	1.8	4.2	5.9	-	Özden et al., 2001
Istanbul Bosphorus	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	nd	0.1-1.5	0.1	0.5-0.7	0.6-1.4	-	Özden et al., 2002
Sir Dam Lake	<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	-	-	0.94	Erdogrul et al., 2005
Marmara Sea	Anchovy	0.83	9.64	4.52	16.60	14.11	63.30	Coelhan et al., 2006
Marmara Sea	Horse Mackerel	9.18	9.73	20.00	60.36	51.45	209.36	Coelhan et al., 2006
Marmara Sea	Young Bluefish	9.27	5.34	16.70	60.10	49.21	196.06	Coelhan et al., 2006
İzmit Gulf	Whiting	nd-411.10	nd-2008.07	nd-265.00	396.82	477.67	-	Çakıroğulları, 2006
İzmit Gulf	Horse Mackerel	nd-78.73	nd-408.15	41.16	91.66	197.32	-	Çakıroğulları, 2006
Istanbul Strait in the Marmara Sea	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	0.0615-0.409	0.0432-0.271	0.144-1.041	0.00418-0.0503	0.303-2.144	1.039-5.4	Okay et al. 2009
Hirfanlı Dam Lake	<i>Atherina boyeri</i>	0.12	0.118	0.0911	0.187	0.273	-	Çakıroğulları et al., 2011
Samsun Region of Turkey	<i>Mugil cephalus</i>	0.093-0.2146		0.444	0.0288-0.0604	0.0431-0.3116	1.784	Aksoy et al. 2012
Samsun Region of Turkey	<i>Salmo salar</i>	0.031-0.4915		-	-	-	0.9803	Aksoy et al. 2012

nd: not detected

References

- Ağca, İ. (2006): Konya'da satılan bazı balık türlerinde organoklorlu bazı pestisit kalıntılarının tayini. M.A. Thesis, Department of Biology, University of Selçuk.
- Aksoy, A., Guvenc, D., Yavuz, O., Das, Y.K., Atmaca, E. (2012): Seasonal variation of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticide levels of sea and cultured farm fish in the Samsun Region of Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88: 842-849.
- Aktumsek, A., Kara, H., Huseyin Kara, Nizamlioglu, F., Dinç, I. (2002): Monitoring of organochlorine pesticide residues in pikeperch, *Stizostedion lucioperca L.* in Beyşehir Lake (Central Anatolia). *Environmental Technology*, 23: 391-394.
- Arslan, S. (2009): Bitkisel kaynaklı aktif karbon ile pestisit giderimi. M.A. Thesis, Department of Chemical Engineering, Yıldız Technical University.
- Atamanalp, M., Yanık, T. (2001): Pestisitlerin Cyprinidae'lere toksik etkileri. *Ege Journal of Fisheries & Aquatic Science*, 3(4): 555-563.
- Ayas, Z. (2007): Review on DDT and its residues in Turkey's wetlands. *Journal of Environmental Biology*, 28: 707-715.
- Barlas, H., Coelhan, M., Bayat, C. (2000): Marmara Denizi'ndeki bazı balıklarda pestisit kirliliği düzeylerinin belirlenmesi. *The Symposium the Marmara Sea 2000*, 11-12 November, İstanbul.
- Başçınar, N., Gumrukcu, F., Okumus, I. (2008): Genç gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) yemleme stratejisi üzerine bir çalışma. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2: 224-232.
- Başçınar, H., Durmusoglu, E., Yıldırım, E.M. (2010): Türkiye'de tarım ilaçları üretim ve kullanımı. Turkey agricultural engineering VII Technical Congress, 11-15 January 2010, Ankara.
- Bocio, A., Llobet, J.M., Domingo, J.L., Corbella, J., Teixido, A., Casas, C. (2003): Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs: Human exposure through the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3191-3195.
- Boscolo, R., Cacciatore, F., Berto, D., Giani, M. (2007): Polychlorinated biphenyls in clams *Tapes philippinarum* cultured in the Venice Lagoon (Italy): Contamination levels and dietary exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1065-1075.
- Bulut, S., Erdoğan, S.F., Konuk, M., Cemek, M. (2010): The Organochlorine pesticide residues in the drinking waters, of Afyonkarahisar, Turkey. *Ekoloji*, 74: 24-31.
- Bulut, H., Tamer, A. (1996): Pestisit kullanımının azaltılması ile ilgili politika ve stratejiler. II. *Symposium National Pest Eradication Chemicals*, 18-20 November, Ankara.
- Carvalho, F.P. (2006): Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science and Policy*, 9: 685-692.
- Chopra, A.K., Sharma, M.K., Chamoli, S. (2010): Bioaccumulation of organochlorine pesticides in aquatic system- an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 173 (1-4): 905-916.
- Coelhan, M., Strohmeier, J., Barlas, H. (2006): Organochlorine levels in edible fish from the Marmara Sea, Turkey. *Environment International*, 32: 775-780.
- Çakıroğulları, G.C. (2006): İzmit Körfezi'nde su, sediment, mezigit (*Gadus merlangus L.1758*) ve istavrit (*Trachurus mediterraneus S.1868*) balıklarında poliklorlu bifeniller ile DDT'nin saptanması. M.A. Thesis, Department of Seafood, Ankara University.
- Çakıroğulları, G.C., Kılıç, D., Uçar, Y. (2010): Levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzo-p-furans and polychlorinated biphenyls in farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream

- (*Sparus aurata*) from Turkey. *Food Control*, 21: 1245-1249.
- Çakıroğulları, G.Ç., Uçar, Y., Kılıç, D. (2011): PCDD, PCDF and PCB contamination in *Atherina boyeri* (Risso, 1810) from Turkey. *Food Control*, 22: 67-71.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. (2005) Türkiye’de pestisit kullanımı kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Turkey Agricultural Engineering Sixth Technical Congress, 3-7 January, Ankara.
- DPMARA (Department of Publication of the Ministry of the Agriculture and Rurl Areas) (2011): <http://turkiyeharitalar.blogspot.com/2011/11/turkiye-tarimsal-uretim-haritas.html> (accessed January 30, 2013).
- DPT (Turkish Prime Ministry-State Planning Organization) (2001): Eight Plan of Five-year Development. Chemical Industry (Pesticides) Special Commission Report, Ankara.
- DPT (Turkish Prime Ministry-State Planning Organization) (2008): Ninth Plan of Development. Chemical Industry Special Commission, Fertilizer-Pesticide Working Group Report, Ankara.
- Erdoğan, B.Y. (2010): Samsun’da yaygın olarak kullanılan pestisitlerin sağlığa ve çevreye etkileri. *Alinteri*, 19(B): 28-35.
- Erkmen, B., Kolankaya, D. (2006): Determination of organochlorine pesticide residues in water, sediment and fish samples from the Meriç Delta, Turkey. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 86: 161-169.
- Ezemonye, L.I., Ikpesu, T.O., Tongo, I. (2009): Distribution of endosulfan in water, sediment and fish from Warri river, Niger delta, Nigeria. *African Journal of Ecology*, 48: 248-254.
- Flandysz, J., Wyrzykowska, B., Worzocha, J., Barska, I., Garbacik-Wesolowska, A., Szefer, P. (2004): Organochlorine pesticides and PCBs in perch *Perca fluviatilis* from the Odra/Oder River estuary, Baltic Sea. *Food Chemistry*, 87: 17-23.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2002): International code of conduct on the distribution and use of pesticides (Release date 2010-9-25). <http://www.fao.org/docrep/005/Y4544E/y4544e00.htm> (accessed January 30, 2013).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2011): FAOSTAT. Pesticide Consumption 1990-2011, (Release date: 24 April 2012). <http://faostat.fao.org/site/424/default.aspx#ancor> (accessed November 17, 2012).
- Ferrante, M.C., Clausi, M.T., Meli, R., Fusco, G., Naccari, C., Lucisano, A. (2010): Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in European eel (*Anguilla anguilla*) from the Garigliano River (Campania region, Italy). *Chemosphere*, 78: 709-716.
- Güvenc, D., Aksoy, A. (2007): Poliklorlu bifenillerin toksikolojisi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78: 18-25.
- Hamilton, D., Crossley, S. (2004): Pesticide Residues in Food and Drinking Water Human Exposure and Risks. John Wiley & Sons Ltd., England.
- Harvey, J., Harwell, L., Summers, J.K. (2008): Contaminant concentrations in whole-body fish and shellfish US estuaries. *Environmental Monitoring and Assessment*, 137: 403-412.
- Kalyoncu, L., Agca, İ., Aktümsek, A. (2009): Some organochlorine pesticide residues in fish species in Konya, Turkey. *Chemosphere*, 74: 885-889.
- Karakaya, M., Boyraz, N. (1992): Gıda kirlenmesinde pestisitler ve korunma yolları. *Çevre Dergisi*, 4: 11-15.
- Kaya, H. (2007): Atıkhisar Barajı ve Sarıçay’da pestisit ve evsel kirliliğin araştırılması. M.A. Thesis, Department of Seafood, Çanakkale Onsekiz Mart University.
- Kımk, Ö. (2002): Süt ve Ürünlerinde Pestisitler, TMMOB. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 6: 31-38.
- Kurşun, Ö., MOR, F. (2009): Aperspective on the potential health risks of dioxin in human

- food. *Uludag University Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, 28: 43-47.
- Liu, Z., Zhong, H., Tao, M., Yang, S., Wang, L., Liu, Y., Ma, D., He, Z. (2010): Organochlorine pesticides in consumer fish and mollusks of lianoning province, China: Distribution and human exposure implications. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 444-453.
- Llobet Juan, M., Domingo, J.L., Bocio, A., Casas, C., Teixido, A., Müller, L. (2003): Human exposure to dioxins through the diet in Catalonia, Spain: Carcinogenic and non-carcinogenic risk. *Chemosphere*, 50: 1193-1200.
- Mathur, N., Pandey, G., Jain, G.C. (2010): Pesticides: A review of the male reproductive toxicity. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 4(1): 1-8.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V. (1999): Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5: 607-625.
- Okay, O.S., Karacık, B., Başak, S., Henkelmann, B., Bernhöft, S., Schramm, K.W. (2009): PCB and PCDD/F in sediments and mussels of the Istanbul Strait (Turkey). *Chemosphere*, 76: 159-166.
- Okay, O.S., Karacık, B., Henkelmann, B., Schramm, K.W. (2011): Distribution of organochlorine pesticides in sediments and mussels from the Istanbul strait. *Environmental Monitoring and Assessment*, 176: 51-65.
- Özçelik, B., Uygun, Ü., Bayram, B. (2011): Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. In: Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K., Wanasundara, U. (Eds.), *Seafoods and Environmental Contaminants*. Wiley-Blackwell Publishing Ltd., UK, pp. 303-311.
- Özden, Ö., Kruse, R., Erkan, N. (2001): Vorkommen von Rückständen an Organochlor-Pestiziden, Nitromoschusverbindungen und Polychlorierten Biphenylen in türkischen Fisdauerkonserven. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 108: 159-163.
- Özden, Ö., Kruse, R., Erkan, N. (2002): Bestimmung von Organochlor-Pestiziden und Polychlorierten Biphenylen in Miesmuscheln. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 98: 215-220.
- Saler, S. (2006): Pestisitlerin akuatik omurgasızlar üzerine etkisi. *Sünder Dergisi*, 25-26: 28-32.
- Seyran, A., Erişir, M. (2008): Poliklorlu bifeniller ve sağlık üzerine etkileri. *Firat University Veterinary Journal of Health Sciences*, 22 (1): 33-40.
- Smith, A.G., Gangolli, S.D. (2002): Organochlorine chemicals in seafood: Occurrence and health concerns. *Food and Chemical Toxicology*, 40: 767-779.
- Storelli, M.M. (2008): Potential human health risks from metals (Hg, Cd and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2782-2788.
- Syasina, I. G. (2003): Organochlorine pesticides in fishes and mollusks from lower reaches of the Tumen River and of the contiguous part of Peter the Great Bay (Sea of Japan). *Ecology*, 29: 23-30.
- Sweilum, M.A. (2006): Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and water quality of ponds. *Aquaculture Research*, 37: 1079-1089.
- Wilson, J.S., Tsunehiro, O. (2004): To Spray or not to spray: Pesticides, banana exports, and food safety. *Food Policy*, 29: 131-146.
- Takazawa, Y., Tanaka, A., Shibata, Y. (2008): Organochlorine pesticides in muscle of rainbow trout from remote Japanese Lake and their potential risk on human health. *Water, Air and Soil Pollution*, 187: 31-40.
- Tarım ve Gıda Paneli Son Rapor (2003): Tübitak vizyon 2023 bilim ve teknoloji öngörüsü

- projesi.
http://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files/vizyon2023/tg/tarimgida_son_surum.pdf. (accesed 08.02.2013)
- Topçu Sulak, M. (2012): Pestisitlerin taşınım süreçleri ve çevresel etkileri. I. Tarım Sağlığı ve Güvenliği Sempozyumu. 6-7 April 2012, Şanlıurfa.
- Turgut, C. (2003): The contamination with organochlorine pesticides and heavy metals in surface water in Küçük Menderes River in Turkey, 2000-2002. *Environment International*, 29: 29-32.
- Turkish Agriculture Industry Report (2010): Republic of Turkey Prime Ministry Investment Support and Promotion Agency of Turkey. Date: July 2010. <http://www.invest.gov.tr/en-US/infocenter/publications/Documents/AGRICULTURE.INDUSTRY.PDF> (accesed 08.02.2013)
- Turkish Food Codex (2009): Communique on maximum residue limits of pesticides that are allowed in foodstuffs. In: Official Gazette No. 27449. Date: 31.12. 2009. Ankara, Turkey: Ministry of Agriculture (in Turkish).
- Turkish Food Codex (2011): Registration of contaminants. In: Official Gazette No. 28157. Date: 29.12. 2011. Ankara, Turkey: Ministry of Agriculture (in Turkish).
- Turkish Statistical Institute (TUIK) (2011): Agricultural Gensus Statistics. (Release date: 26 November 2012). <http://www.tuik.gov.tr/Gosterge.do?id=3630&metod=IlgiliGosterge> (accesed 08.02.2013)
- Uluocak, B., Egemen, H.Ö. (2005): İzmir ve Aliğa Körfezinde mevsimsel olarak avlanan bazı ekonomik balık türlerinde organik klorlu pestisit kalıntılarının araştırılması. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22(1-2): 149-160.
- Yeşil, S., Ögür, E. (2011): Zirai mücadelede pestisit kullanımının Türkiye ve Konya ölçeğinde değerlendirilmesi ve pestisit kullanımının olası sakıncaları. I. Konya Kent Sempozyumu, 26-27 November 2011, Konya.

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

REVIEW ARTICLE

DERLEME MAKALESİ

USE OF NATURAL PRESERVATIVES IN SEAFOOD: PLANT EXTRACTS, EDIBLE FILM AND COATING

Nuray ERKAN¹, Hande DOĞRUYOL¹, Ali GÜNLÜ², İsmail Yüksel GENÇ³¹ Istanbul University, Faculty of Fisheries, Department of the Seafood Processing and Quality Control, Istanbul, Turkey² Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Fisheries, Department of Seafood Processing and Quality Control, Muğla, Turkey³ Süleyman Demirel University, Faculty of Eğirdir Fisheries, Department of Seafood Processing and Quality Control, Isparta, Turkey

Received: 10.10.2014

Accepted: 01.12.2014

Published online: 20.12.2014

Corresponding author:

Nuray ERKAN, Istanbul University, Faculty of Fisheries, Department of the Seafood Processing and Quality Control, 34134, Istanbul, Turkey

E-mail: nurerkan@istanbul.edu.tr

Abstract:

In recent years, the demand and consumption of minimally processed food and additive-free commodities which present few changes at sensory quality have increased. In this regard, natural antioxidants and antibacterial agents obtained from plants were preferred. Also the coating film obtained from natural polysaccharides, lipids and protein to protect the quality of food products was successful. This tendency has also led to research on developing new biodegradable packaging materials from natural polymers in order to achieve a partial alternative to plastic packaging. These applications act as oxygen and water barriers, thereby slowing oxidation reactions and retaining moisture, thus enhancing quality and extending product shelf life. In this paper, the use of natural preservatives and natural/edible film coating applications in seafood products preservation were reviewed.

Keywords:

Fish, Seafood, Natural preservatives, Edible film, Natural coating, Quality, Safety

Introduction

Being highly perishable, seafood has a limited shelf life (Kykkidou et al., 2009). Even if refrigeration or freezing can be applied to the products, these processes may not be enough in terms of preventing lipid oxidation, rancid off-flavors or bacterial growth (Gomez-Guillen & Montero, 2007). In most cases there is an additional need for enhancing seafood quality. By adding or applying to the seafood, plant extracts, edible films and coatings are the successful treatments with the potential to extend the shelf life of foods (Erkan et al., 2011a; Falguera et al., 2011). Plant extracts and essential oils have both antioxidant and antimicrobial properties, while edible films and coatings have the barrier effect against gases, water and microorganisms (Falguera et al., 2011; Mahmoud et al., 2004; Yanishlieva et al., 2006).

Plant Extracts and Essential Oils

In modern food industry the increases in processed food products have raised the use of chemical preservatives which delay or prevent nutritional loss caused by microbiologic, enzymatic or chemical changes, and enhance the shelf life of food. Unfortunately these synthetic additives can be dangerous for public health by the reason of accumulating in tissues and leading to genotoxicity in case of overdose (Özdemir et al., 2012). However, plant extracts and essential oils it was an alternative to synthetic chemicals and preservatives (Sultanbawa et al., 2011), especially for providing natural protection without spoilage and extend shelf life in food of animal origin (Holley & Patel, 2005).

Plant extracts have been used for thousands of years for medical, pharmaceutical, sanitary purposes, aromatherapy, phytotherapy, perfumery and cosmetic applications besides food and beverage flavoring (Hammer et al., 1999; Bakkali et al., 2008). Today they have been considered as natural preservatives or food additives with strong antibacterial, antifungal and antioxidant activities in food industry for raw and processed food preservation (Benkeblia, 2004; Chouliara et al., 2007).

Fresh seafood has a short shelf life because of being highly perishable (Kykkidou et al., 2009). Through the production chain and during storage, biochemical, physical and microbial deteriorations occur as a result of complex quality

degradation processes (Gonzalez-Fandos et al., 2005; Del Nobile et al., 2009). Refrigeration or freezing it is not enough alone for the preservation of seafood (Gomez-Guillen & Montero, 2007). Therefore, enhancing shelf life of seafood with natural preservatives is an important issue to eliminate economic losses and provide safe and good quality food to consumer and reach to distant markets (Kykkidou et al., 2009). Plant extracts and essential oils treatment with regard the protection of quality and safety sensory, chemical and microbiological of some sea food products are presented in table 1. Plant extracts and essential oils can be derived from all organs or some specific tissues in the organs of the plant like petals, leaves, fruits, peels, stems, roots and xylems. Depending on the plant species, essential oils are found in cavities, secretory villus, ducts or cells and contain aromatic and aliphatic compounds. Carotenoids, retinoids, tocopherols, ascorbic acid, phenolic acids, flavonoids and polyphenols obtained from plant extracts known the antimicrobial activity. Likewise their antioxidant effects are due to terpenoid and phenolic components that plants contain (Bakkali et al., 2008). Moreover there can be differences on the biological activity of plant extracts and essential oils. Factors like climatic, seasonal and geographic conditions; harvest period; plant maturity and distillation technique may influence the chemical composition and cause variability (Lahlou, 2004).

Table 1. Application of natural preservatives to improve the quality of seafood products

Seafood	Plant extracts used / Treatment	Effect	Reference
Anchovy (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	Fish stored in ice containing thyme, oregano or clove extracts.	The shelf life of gutted and beheaded anchovy stored in ice containing thyme (0.04% w/v), oregano (0.03% w/v) or clove (0.02% w/v) extracts were 12 days in comparison to traditional ice which had a shelf life of 5 days.	Bensid et al., 2014
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Wrapping fillets with quince seed mucilage edible films (QSMF) containing oregano or thyme essential oil.	Fillets wrapped with QSMF and oregano essential oil (2%) had the lowest TBA value and the strongest antioxidant activity during refrigerated storage (4°C).	Jouki et al., 2014
Silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)	Effect of grape seed or clove bud extracts on 1% salted fillets.	The addition of 2% grape seed or 2% clove bud extracts delayed lipid oxidation; protected against L* and a* value decreases; salt-soluble protein content and total sulphhydryl group. The sensory shelf life of fillets was extended by 3 days compared to the control.	Shi et al., 2014
Sea bream (<i>Sparus aurata</i>)	Flesh quality of fish naturally fed with feeds containing thymol or rosemary.	Adding natural antioxidants to the diet positively affected fish quality, delaying post mortem deterioration. Lower oxidation values in rosemary group and lower bacterial counts in thymol group was observed.	Alvarez et al., 2012
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Hot smoked rainbow trout treated with thyme oil (TO) or garlic oil (GO) and vacuum packaged.	According to the sensory scores the limit of acceptance for the untreated, TO and GO treated samples was reached after 5 weeks, 7 weeks and 6 weeks, respectively. Total viable count was also lower in the oil treated groups stored at 2°C.	Erkan, 2012
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Thyme oil added liquid-smoked fillets in combination with vacuum packaging.	Addition of thyme oil provided better sensory quality, TVB-N value and lower microbiological growth. Samples containing 10ml/L thyme oil had shorter shelf life than the ones containing 50ml/L thyme oil.	Alçiçek, 2011
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Effect of bay leaf, rosemary, black cumin seed and lemon oil (%1) treatments on the shelf life of vacuum packaged hot-smoked rainbow trout stored at 2°C.	According to the overall acceptability of all data, only vacuum packed control group had a shelf life of 4 weeks. The shelf lives of rosemary, black cumin seed, and lemon oil treatment plus vacuum packaged fish and bay leaf oil treatment plus vacuum packaged fish was 6 weeks and 7 weeks, respectively. In addition plant extracts decreased microbiological activity of the fish.	Erkan et al., 2011a

Sea bream (<i>Sparus aurata</i>)	Hot-smoked sea bream inoculated with <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> or <i>Escherichia coli</i> and treated with grape seed (GSO) or sage oils (SO) before vacuum packing (VP).	Microbial counts in treated samples decreased over time stored at 2°C. The results indicated that the GSO was the best treatment for the inhibition of <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> . In controlling the growth of <i>L. monocytogenes</i> , only VP was the most effective, while SO+VP was second most effective, and GSO+VP was the least effective.	Erkan et al., 2011b
Bluefish (<i>Pomatomus saltatrix</i>)	Bluefish treated with thyme and laurel essential oils during storage in ice at 2°C.	According to the sensory evaluation the shelf life of control and treated bluefish stored in ice were 9 and 11 days, respectively. Lipid oxidation, rancidity, off-flavours and microbial growth in the oil treated samples were lower than the control group. As a result bluefish with oil treatment had an increase in the shelf life by 3–4 days compare to the control samples.	Erkan et al., 2011c
Sea bream (<i>Sparus aurata</i>)	Thyme powder on fillets packed in polyethylene films.	Sprinkled thyme powder (1% w/w) on fillets before storing in ice extended shelf life for 5 more days.	Attouchi & Sadok, 2010
Chub mackerel (<i>Scomber japonicus</i>)	The effect of bay leaf (BLO), thyme (TO), rosemary (RO), black seed (BSO), sage (SO), grape seed (GSO), flaxseed (FSO) and lemon (LO) essential oil on chub mackerel.	Mainly according to the sensory scores, the shelf-lives of frozen chub mackerel were determined as 6 months for the untreated and TO, RO, BSO, SO, LO treated samples while 7 months for the samples treated with BLO, GSO and FSO at -20°C.	Erkan & Bilen, 2010
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Coating fillets with chitosan and cinnamon oil.	Coating fillets with chitosan and cinnamon oil successfully inhibited lipid oxidation and microbial growth extending shelf life during the refrigerated storage (4°C).	Ojagh et al., 2010
Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Combined of oregano essential oil on fresh salted MAP fillets.	0.2% oregano essential oil treated fillets had better sensory scores in compare with 0.4% treated ones because of strong odour. However the synergistic effect of MAP and oregano oil extended shelf life by 7 to 8 days.	Pyrgotou et al., 2010
Mackerel:Hake (70:30) (<i>Scomber japonicus</i>): (<i>Merluccius merluccius</i>)	Thymol, lemon extract and grapefruit seed extract (GFSE) in blue fish burgers in combination with MAP.	As a result of antimicrobial effect of plant extracts (thymol: 110 ppm; GFSE: 100 ppm and lemon extract: 120 ppm) and high CO ₂ -concentration the microbial acceptability of fish burgers were ensured until the 28th day of storage at 4°C.	Del Nobile et al., 2009
Sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Combined effect of MAP and thyme essential oil on the fillets.	According to sensory evaluation, MAP (60% CO ₂ : 30% N ₂ : 10% O ₂) in combination with thyme oil (0.2%) treatment had the longest shelf life (17 days) as compared to control samples (6 days) which are only air packed.	Kostaki et al., 2009
Mediterranean swordfish (<i>Xiphias gladius</i>)	Thyme essential oil applied on fillets in combination with MAP.	Addition of 0.1% thyme essential oil in combination with MAP enhanced shelf life (15½) of the fillets as compare to control (aerobic conditions; 8 days) according to sensory scores during cold storage.	Kykkidou et al., 2009

Rainbow trout (<i>Onhcorynchus mykiss</i>)	Oregano essential oil treated fillets packed with oxygen absorber.	The inhibitory effect on the microorganisms of oregano essential oil (0.4%) enhanced with oxygen absorber. The shelf life of the fillets was 4 days for the control samples and 17 days for the samples packed with oxygen absorber containing oregano oil.	Mexis et al., 2009
Chilean jack mackerel (<i>Trachurus murphyi</i>)	Oregano and rosemary plant extract icing in the preservation of fish.	Both plant-extract icing systems had significant antioxidant effects according to peroxide and TBA values and free fatty acid formation development in comparison to traditional icing.	Quitral et al., 2009
Anchovy (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	Brining with 15% NaCl and treated with myrtle, rosemary or nettle extracts.	The highest antioxidant effect was observed in brined anchovies with rosemary and myrtle extracts, slowing down the lipid oxidation at 4°C for 28 days.	Turhan et al., 2009
Kutum (<i>Rutilus frisii kutum</i>)	Fillets brined with 10% NaCl and treated with onion extracts in combination with vacuum packaging.	Onion balanced the oxidation of lipids occurring from salt. With lower microbial load lightly salted, onion extract (2% and 4%) treated and salted fillets had a shelf life of 16 days while salted air packed control had only 6 days at low temperature (4°C).	Zolfaghari et al., 2009
Shrimp (<i>Parapenaeus longirostris</i>)	Rosemary extract treated marinated shrimp.	Marinated shrimp with rosemary extract (300 ppm) was good quality for consumption while rancidity limited shelf life of control group after 75 days stored at 1°C.	Cadun et al., 2008
Silver carp (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)	Tea polyphenols (TP) dip treatment during iced storage.	TP (0.2%) solution dip treatment provided longer shelf life compared to control enhancing shelf life from 28 to 35 days during iced storage.	Fan et al., 2008
Mediterranean swordfish (<i>Xiphias gladius</i>)	Oregano essential oil applied on fillets in combination with MAP.	Applying oregano oil (0.1%) on fillets with MAP was effective to inhibit the microbial and sensory spoilage, and extended shelf life from 5 days (control) to 14 days at refrigerated storage.	Gitrakou et al., 2008
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	Cold-smoked butterfly fillets coated with gelatine-based functional edible films enriched by adding oregano or rosemary extracts in combination with high pressure (HP).	HP treatment in combination with edible films containing oregano or rosemary extracts increased the migration of phenols to the flesh and succeeded both preventing oxidation and inhibiting microbial growth.	Gómez-Estaca et al., 2007
Sea bream (<i>Sparus aurata</i>)	Oregano essential oil applied on lightly salted fillets in combination with MAP.	With the antioxidant activity oregano essential oil (0.8%) decreased the adverse effect of salting which accelerated oxidation during cold storage. According to sensory scores, the shelf lives of raw fillets and oregano oil in combination with MAP were found as 15-16 and 33 days respectively. Oregano oil had a distinct but pleasant flavour and slowed down deterioration.	Goulas & Kontominas, 2007

Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	Flax seed extract soaking of the fillet for frozen storage.	Aqueous flax seed extract was useful for inhibition of rancidity development in fatty fish. According to the sensory analyses soaked fillets (20 min.) had good quality while non-soaked ones had fair quality after 1 month. However the soaked fillets were rejectable after 5 months while non-soaked ones only after 3 months.	Aubourg et al., 2006
Carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	Convectonal air-drying of fillets with combined treatment of electrolyzed NaCl solutions and thymol essential oil and carvacrol.	Treatment with electrolyzed NaCl cathodic and anodic solutions and 1% oil (0.5% carvacrol + 0.5% thymol) had stronger antimicrobial and antioxidant effects during oven drying and better sensory scores. In addition reduced the peroxide values and TBA values were observed.	Mahmoud et al., 2006
Salmon (<i>Salmo salar</i>)	Rosemary extract applied to fillets in combination with MAP.	The application of rosemary extract (0.2%) to the fillets improved sensory quality and, delayed lipid oxidation and colour deterioration in MAP fillets stored at 1°C.	Gimenez et al., 2005
Sea bream (<i>Sparus aurata</i>)	Rosemary extract treated fillets in combination with MAP.	The application of rosemary extract (0.2%) to the MAP fillets delayed lipid oxidation and had good sensory assessment. TBARS values and the sensory evaluations presented that addition of rosemary was found to be effective until the end of the storage period (day 26) at 1°C.	Gimenez et al., 2004
Cod (<i>Gadus morhua</i>)	Oregano, cinnamon, lemongrass, thyme, clove, bay, marjoram, sage and basil oils in combination with modified atmosphere packaging (MAP).	Oregano and cinnamon oils had the strongest antimicrobial activity. Addition of 0.05% oregano oil to the fillets reduced the growth of <i>Photobacterium phosphoreum</i> and extended shelf life up to 15 days at 2°C.	Mejlholm & Dalgaard, 2002

Antimicrobial compounds can disrupt cell membrane integrity, by interacting with membrane proteins of the bacteria. Increasing the permeability of the cell membrane, these compounds make potassium ions and other cytoplasmic structures leave the cell and cause the death of bacteria cells (Bajpai et al., 2008). Following the researches of the inhibitory effects of various essential oils on various microorganisms it is asserted that gram-positive bacteria are a bit more susceptible than gram-negative organisms (Hammer et al., 1999; Burt, 2004). The hydrophilic lipopolysaccharide cell wall of gram-negative bacteria blocked the penetration of hydrophobic essential oils into the cell membrane. On the other hand essential oil accumulates more easily to the gram-positive bacteria which do not have such cell wall structures (Bajpai et al., 2008).

The increasing demand for natural products that are potential antioxidants has led to the use of phenolic compounds instead of synthetic ones (Alvarez et al., 2012). Moreover, plant extracts are claimed to have potential health effects also, because of their antioxidant properties (Proestos et al., 2006). With metal chelation and redox properties phenolic compounds in plant extracts and essential oils are antioxidants, acting as reducing agents, hydrogen donors, and singlet oxygen quenchers (Proestos et al., 2006). Seafood, containing substantial amount of polyunsaturated fatty acids, is highly vulnerable to lipid oxidation, rancidity and color loss (Alvarez et al., 2012) and the use of plant extracts offers an alternative for the food industry. However, the anti-oxidative effects of plant extracts depend on the processing and storage conditions as much as the lipid content of food (Yanishlieva et al., 2006).

From *Allium* crops especially scallion, onion and garlic are common for food preservation extracts and contain sulfur and other numerous phenolic compounds which have strong antibacterial and antifungal activities. Alliums can also be used for the control of pathogens such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis because of their inhibitory effects. Various garlic and onion essential oils extracts are proposed as natural antimicrobial additives for seasoning of several food products (Benkeblia, 2004). Thyme, oregano, savory, sage, rosemary, lemon balm and other members, *Labiatae* (*La-*

miaceae) family is also known as source of natural additives and frequently used in food industry due to their potential antimicrobial and antioxidative effects (Baydar et al., 2004; Yanishlieva et al., 2006; Gutierrez et al., 2009). There are also studies with other plant extracts like bay, clove, cinnamon, pine, crowberry, blackcurrant, grape and quince seeds investigating and revealing the antimicrobial effects (Rauha et al., 2000; Smith-Palmer et al., 2001) and antioxidant properties (Bajpai et al., 2008; Bensid et al., 2014; Jouki et al., 2014; Shi et al., 2014).

Considering the organoleptic properties, the concentrations of plant extracts and essential oils should be evaluated under realistic conditions prior to practical use in the food industry (Yanishlieva et al., 2006). Plant extracts offers an alternative to synthetic chemicals in the efficient preservation of seafood with their antimicrobial and antioxidant effects.

Edible film and coating

Coating the foods with edible materials has been researched as an effective method to improve the food quality (Song et al., 2011). Edible films are a good barrier for oxygen and carbon dioxide and possess suitable mechanical properties at low relative humidity (Lee, 2010; Song et al., 2011). Edible films and coatings have a range of advantages, such as edibility, biodegradability, biocompatibility, aesthetic appearance and barrier properties, as well as being nontoxic and non-polluting. Basic components of edible coatings include hydrocolloids such as proteins, cellulose derivatives, alginates, pectins, starches, and other polysaccharides (Lee, 2010). Edible coatings and films generally can be defined as thin layers of edible materials applied on or even within foods by immersing, brushing, spraying or wrapping (Gómez-Estaca et al., 2009). Edible film coatings in combination with refrigeration or other packaging system has proved to be an effective preservation method for the extension of shelf-life of foods and quality retention of a wide variety of fresh chilled food products. Another function of edible coatings could be as a carrier of antimicrobial compounds (Quintavalla & Vicini, 2002; Zhou et al., 2010). Many studies have shown that edible coatings made of protein, polysaccharide, and oil-containing materials help prolong the shelf life and preserve the quality of fish (Stuchell & Krochta, 1995; Jeon et al.,

2002; Sathivel, 2005; Fan et al., 2009). Polysaccharide based materials, especially chitosan and alginate treatments in preservation of fish and fish products are shown in table 2.

Chitosan, which is mainly obtained from crustacean shells, is the second most abundant natural polymer in nature after cellulose (Shahidi et al., 2002) and has a wide application range since it is a natural, nontoxic, degradable in nature and commercially obtainable product (Tharathan & Kittur 2003; Alishahi & Aider 2012). This biopolymer has the ability to provide perfect film and coating solution when dissolved in acidic water solutions (Yingyuad et al., 2006). Hence, it has a wide potential to be used as a food packaging material (Tual et al., 2000; Sathivel et al., 2007) and numerous studies carried out with different fish species to evaluate the effects of chitosan coating on quality changes of sea foods under various storage conditions (Jeon et al., 2002; Gómez-Estaca et al., 2007; Sathivel et al., 2007; Duan et al., 2010; Ojagh et al., 2010; Günlü & Koyun 2013; Günlü et al., 2014). Many researches have studied chitosan as an edible coating material for fishery products to enhance quality. Jeon et al. (2002) demonstrated that chitosan-coated Atlantic cod and herring reduced moisture loss and lipid oxidation. Augustini and Sedjati (2007) reported that chitosan treatment significantly reduced the bacterial counts of salted dried anchovy and improved the shelf life. Kester & Fennema (1986) reported that chitosan coatings may function as moisture-sacrificing agents instead of moisture barriers, thus moisture loss from the product could be delayed until the moisture contained within the chitosan coating had been evaporated. Chitosan treatment was effective in reducing drip loss and prolonging the shelf life of sardine as reported for cod fillets by Jeon et al. (2002) and Mohan et al., (2012). Increasing drip loss was also reported for catfish (Mohan et al., 2012), mackerel and Japanese sardine (Hamada-Sato et al., 2002) and whiting, mackerel and salmon fillets (Fagan et al., 2004) with the storage period.

The antimicrobial properties of chitosan coating have been reported in the literature (Jeon et al., 2002; López-Caballero et al., 2005). Jeon et al. (2002) described how bacterial growth (total counts on plate count agar at 20°C) reached the stationary phase in all chitosan-coated cod and herring samples after 6 days, and also how

there was a reduction of up to three log cycles between coated samples and controls after 12 days of chilled storage. López-Caballero et al. (2005) reported that a coating consisting of a blend of chitosan dissolved in acetic acid and gelatine exerted an inhibitory effect on the gram-negative flora of fish patties. Various factors affect the antimicrobial action of chitosan and its mechanism of action appears to be related to interactions between the positively charged chitosan molecules and the negatively charged microbial cell membrane (Shahidi et al., 1999) as well as to its function as a barrier against oxygen transfer (Jeon et al., 2002). Günlü & Koyun (2013) stated that the shelf life of chitosan coated sea bass fillets was prolonged approximately 20 days under chilled conditions (4±1 °C). Similarly, chemical and microbiological quality of chitosan coated vacuum packed and high pressure processing (HPP) applied rainbow trout fillets were determined under chilled conditions (4±1 °C). Application of these two methods prolongs the shelf life of the fillets up to 24 days (Günlü et al., 2014).

Table 2. Application of edible coatings to improve the quality of seafood products

Hydrocolloid	Seafood	Effect	Reference
Alginate coating	Hot-smoked rainbow trout	The shelf life and acceptability of the vacuum packaged hot smoked rainbow trout fillets with a coating containing 3% sodium alginate were extended at least for 3 weeks compared to the control samples.	Erkan & Yeşiltaş, 2014
Protein based coating	Sea bass	Shelf life of approximately 9 and 10 days for control and soy protein, whey protein, 13 days for egg powder, zein, gelatin, 24 days for collagen, 28 day for wheat gluten, 29 days fish protein coating	Erkan et al., 2013
Protein based coating	Hot-smoked rainbow trout	Soy protein isolate, corn zein, collagen, fish protein coatings obtained from trout and Bonito were not reached to up 7 log cfu/g during 8 weeks according to microbiological analysis results	Dursun, 2012
Chitosan coating	Sea bass	Chitosan-based coating significantly reduced TVB-N and TMA-N values and inhibited the growth of psychrotrophic and mesophilic aerobic bacteria during cold storage.	Günlü & Koyun, 2013
Chitosan coating	Sardine	Shelf life was extended to 30 days during cold storage.	Mohan et al., 2012
Sodium alginate coating	Sea bream	Coating treatments predominantly reduced chemical spoilage, reflected in TVB-N, pH, and TBA, retarded water loss.	Song et al., 2011
Alginate coating	Cold smoked salmon	Approximately 2 log lower than the bacterial load of salmon fillets at the end of storage (30 day).	Neetoo et al., 2010
Chitosan coating	Silver carp	Total aerobic mesophilic counts decreased and shelf life was extended to 30 days during frozen storage.	Fan et al., 2009
Alginate–calcium coating	Northern snakehead fillets	Alginate–calcium coating treatments efficiently enhanced the quality of northern snakehead fillets during storage.	Lu et al., 2009
Chitosan coating	Herring, cod	Reduced lipid oxidation, and microbial growth was observed. Moisture loss was prevented.	Jeon et al., 2002

Table 3. Application of antimicrobial edible films and coatings to improve the quality of seafood products

Antimicrobial	Hydrocolloid	Seafood	Effect	Reference
Oregano essential oil	Potato peel waste-based edible films	Cold-smoked salmon	<i>Listeria monocytogenes</i> was inhibited.	Tammineni et al., 2013
Thyme oil	Gluten	Hot-smoked trout	According to sensory analysis the shelf life of vacuum packaged samples were found acceptable quality during 3 weeks. The sensory quality was maintained up to 5 and 6 weeks for gluten and containing antimicrobial agent (thyme oil) gluten coated samples. The growths of microorganisms were significantly reduced in gluten film coated samples.	Akçay, 2012
Chitosan	Chitosan	Herring, cod	Reduced lipid oxidation, and microbial growth was observed. Moisture loss was prevented.	Mohan et al., 2012
Thyme oil	Sodium alginate	Hot-smoked trout	Shelf-life of samples, as determined by overall acceptability sensory scores, microbiological data and chemical analysis result, is 2 week for control samples, 5 week coated samples.	Yeşiltaş, 2012
Cinnamon oil	Chitosan	Rainbow trout	Successful inhibition of lipid oxidation and microbial growth was obtained; shelf life was extended compared to the control group 4 days at 4°C.	Ojagh et al., 2010
Chitosan	Chitosan	Silver Carp	Total aerobic mesophilic counts decreased and shelf life was extended compared to the control group 30 days during frozen storage.	Fan et al., 2009
Chitosan,	Chitosan, chitosan – starch	Salmon	Microbial growth of aerobic mesophilic and psychrotrophic decreased and global quality was extended to 6 days at 2°C.	Vásconez et al., 2009
Oyster and lisozyme, nisin	Calcium alginate	Smoked salmon	Microbial growth was delayed.	Datta et al., 2008
Oregano and rosemary extracts	Gelatine, gelatin – chitosan	Cold-smoked sardine process by high pressure	Microbial growth and lipid oxidation was decreased.	Gómez-Estaca et al., 2007
Lactoperoxidase system	Whey protein	Cold-smoked salmon	<i>Listeria monocytogenes</i> growth was prevented.	Min et al., 2005
Thyme oil, cynamaldehyde	Soy and whey protein, carboxy-methyl cellulose	Cooked shrimp	Microbial growth was delayed.	Ouattara et al., 2001

Alginate is a salt of alginic acid, a polymer of D-mannuronic acid and L-guluronic acid, and is isolated from brown algae (Lu et al., 2009). Alginate has unique colloidal properties. Such biopolymer-based films can keep good quality and prolong shelf life of foods by strengthening the water barrier, preventing microbe contamination, maintaining the favour, reducing the degree of shrinkage distortion and retarding fat oxidation. Studies have shown that coating of fish, shrimp, scallop and pork with sodium alginate showed that it can prolong their shelf life, reduce thawing loss, cooking loss, weight loss and maintain the functional properties of these species during cold and frozen storage (Wanstedt et al., 1981; Wang et al., 1994; Zeng & Xu, 1997; Yu et al., 2008). According to Song et al. (2011) fresh sea bream (*Megalobrama amblycephala*) were coated with alginate and stored at 4°C for 21 days. Coating treatments predominantly reduced chemical spoilage, reflected in TVB-N, pH, and TBA, retarded water loss and increased the overall sensory quality of fish compared to uncoated sea bream. Lu et al. (2009) studied Northern snakehead fillets (*Channa argus*) which were separated into samples untreated (control), or were treated with 1000 IU mL⁻¹ nisin and 150 µg mL⁻¹ EDTA (group 1), alginate-calcium coating (group 2), or alginate-calcium coating incorporating 1000 IU mL⁻¹ nisin and 150 µg mL⁻¹ EDTA (group 3). Compared with the control, all treatments significantly inhibited the growth of mesophilic and psychrophilic bacteria in northern snakehead fillets during the storage period. Group more efficiently inhibited the growth of mesophilic and psychrophilic bacteria than did the group 2 and group 3 treatments. A few antimicrobial agents and antioxidant have been incorporated into edible coatings to suppress quality changes during storage (Kang et al., 2007; Fan et al., 2008; Chidanandaiah et al., 2009). The research results regarding to edible coatings are presented in table 3. In accordance with results of the conducted studies chemical, microbiological and sensory quality of the chitosan coated sea foods could be enhanced while stored in ice or refrigerated conditions. By taking into account the advantages of the edible films such as being proper for human consumption, not requires high technologies, harmless for the environment, low cost for the production and sequestering agent, this material is being

popular in food science field, particularly seafood processing technology area. On the other hand, low mechanical strength, highly effectiveness from the environmental conditions (i.e. drying) making the usage of edible films more complex in seafood. However, the most significant disadvantages of the edible films are being the difficulties during preparation and application process and the increased effects on workload and the cost of the final product.

Conclusion

Plant extracts, essential oils and edible film coating treatments are proven to extend the shelf life of seafood by the use of natural sources. The potential effects of these treatments are delayed lipid oxidation, inhibited microbial growth and enhanced sensorial properties. Due to their antimicrobial and antioxidant properties, plant extracts and essential oils are promising their use instead of synthetic chemicals. Edible films and coatings also offer advantages over plastic packages such as edibility, biodegradability, biocompatibility, aesthetic appearance and barrier properties, besides being nontoxic and non-polluting. For the protection of natural sources and providing safe food to the future generations, there are further studies needed for the investigation of minimally processed and additive free seafood and its products.

References

- Akçay, S. (2012): The effect of edible film containing antimicrobial agent on the quality of smoked fish. Master's degree-thesis in Institute of Graduate Studies in Science and Engineering, Istanbul University, Supervisor: Prof. Dr. Nuray Erkan.
- Alçiçek, Z. (2011): The effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil concentration on liquid-smoked vacuum-packed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) fillets during chilled storage. *Food Chemistry*, 128: 683-688.
- Alishahi, A. and Aider, M. (2012). Applications of chitosan in the seafood industry and aquaculture: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5:817-830.
- Alvarez, A., Garcia, B.G., Jordan, M.J., Martinez-Conesa, C., Hernandez, M.D.

- (2012): The effect of diets supplemented with thyme essential oils and rosemary extract on the deterioration of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during storage on ice. *Food Chemistry*, 132: 1395-1405.
- Attouchi, M., Sadok, S. (2010): The effect of powdered thyme sprinkling on quality changes of wild and farmed gilthead sea bream fillets stored in ice. *Food Chemistry*, 119: 1527-1534.
- Aubourg, S.P., Stodolnik, L., Stawicka, A., Szczepanik, G. (2006): Effect of a flax seed (*Linum usitatissimum*) soaking treatment on the frozen storage stability of mackerel (*Scomber scombrus*) fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2638-2644.
- Augustini, T.W., Sedjati, S. (2007): The effect of chitosan concentration and storage time on the quality of salted-dried anchovy (*Stolephorus heterolobus*). *Journal of Coastal Development*, 10: 63-71.
- Bajpai, V.K., Rahman, A., Dung, N.T., Huh, M.K., Kang, S.C. (2008): *In vitro* inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora* Desr. *Food Microbiology and Safety*, 73(6): 314-320.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T. (2004): Antibacterial activity and composition of essential oils from organum, thymbra and satureja species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15: 169-172.
- Benkeblia, N. (2004): Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37: 263-268.
- Bensid, A., Ucar, Y., Bendeddouche, B., Özogul, F. (2014): Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during chilled storage. *Food Chemistry*, 145: 681-686.
- Burt, S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Cadun, A., Kışla, D., Çaklı, Ş. (2008): Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. *Food Chemistry*, 109: 81-87.
- Chidanandaiah Keshri, R.C., Sanyal, M.K. (2009): Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4°C) storage. *Journal of Muscle Foods*, 20: 275-292.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2007): Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiology*, 24: 607-617.
- Datta, S., Janes, M.E., Xue, Q.G., La Peyre, J.F. (2008): Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella annatum* on the surface of smoked salmon coated with calcium alginate coating containing oyster lysozyme and nisin. *Journal of Food Science*, 73: 67-71.
- Del Nobile, M.A., Corbo, M.R., Speranza, B., Sinigaglia, M., Conte, A., Caroprese, M. (2009): Combined effect of MAP and active compounds on fresh blue fish burger. *International Journal of Food Microbiology*, 135(3): 281-287.
- Duan, J., Jiang, Y., CherIan, G., Zhao, Y. (2010): Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chemistry*, 122: 1035-1042.
- Dursun, S. (2012): The effect of edible protein film coating on the quality and shelf life of smoked fish. PhD-Thesis in Institute of Graduate Studies in Science and

- Engineering, Istanbul University, Supervisor: Prof. Dr. Nuray Erkan.
- Erkan, N., Dursun, S., Ulusoy, Ş., Akçay, S., Yeşiltaş, M. (2013): Combined effects of protein based edible film coatings and vacuum packaging on the quality of fresh sea bass fillets. *Fleischwirtschaft International*, 28: 61-68.
- Erkan, N. (2012): The effect of thyme and garlic oil on the preservation of vacuum packaged hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food and Bioprocess Technology*, 5(4): 1246-1254.
- Erkan, N., Ulusoy, Ş., Tosun, Y. (2011a): Effect of combined application of plant extract and vacuum packaged treatment on the quality of hot smoked rainbow trout. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6: 419-426.
- Erkan, N., Tosun, Y., Üçok Alakavuk, D., Ulusoy, Ş. (2011b): Antimikrobieller Effekt von Zutaten auf vakuumverpackten heiss geräucherten Fisch. *Fleischwirtschaft*, 91(7): 92-98.
- Erkan, N., Tosun, Ş.Y., Ulusoy, Ş., Üretener, G. (2011c): The use of a thyme and laurel essential oil treatments to extend the shelf life of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) during storage in ice. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6: 39-48.
- Erkan, N., Bilen, G. (2010): Effect of essential oils treatment on the frozen storage stability of chub mackerel fillets. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5: 101-110.
- Erkan, N., Yeşiltaş, M. (2014): Effects of sodium alginate coating and vacuum packaging on the extension of the shelf life of hot smoked rainbow trout fillets. *Fleischwirtschaft International*, 6: 52-57.
- Fagan, J.D., Gormley, T.R., Ui Mhuirheartaigh, M.M. (2004): Effect of modified atmosphere packaging with freeze-chilling on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 205-214.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jiménez, A., Munoz, J.A., Ibarz, A. (2011): Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22: 292-303.
- Fan, W., Chi, Y., Zhang, S. (2008): The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108: 148-153.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qio, J., Zhang, Y., Chi, Y. (2009): Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115: 66-70.
- Gitrakou, V., Kykkidou, S., Papavergou, A., Kontominas, M.G., Savvaidis, I.N. (2008): Potential of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A comparative study with ice storage. *Journal of Food Science*, 73(4): 167-173.
- Gimenez, B., Roncales, P., Beltran, J.A. (2004): The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 1053-1060.
- Gimenez, B., Roncales, P., Beltran, J.A. (2005): The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1033-1040.
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Gimenez, B., Gómez-Guillén, M.C. (2007): Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial growth and oxidative spoilage in cold-smoke sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105: 511-520.
- Gómez-Estaca J., Montero, P., Fernández-Martín F., Gómez-Guillén M.C. (2009): Physico-chemical and film forming properties of bovine-hide and tuna-skin

- gelatin: a comparative study. *Journal of Food Engineering*, 90: 480-486.
- Gómez-Guillén, M.C. & Montero, M.P. (2007): Polyphenol uses in seafood conservation. *American Journal of Food Technology*, 2(7): 593-601.
- Gonzalez-Fandos, E., Villarino-Rodríguez, A., Garcia-Linares, M.C., Garcia-Arias, M.T., Garcia-Fernandes, M.C. (2005): Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control*, 16: 77-85.
- Goulas, A.E., Kontominas, M.G. (2007): Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100: 287-296.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2009): Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interaction with food components. *Food Microbiology*, 26(2): 142-150.
- Günlü, A., Sipahioğlu, S., Alpas, H. (2014): The effect of chitosan-based edible film and high hydrostatic pressure process on the microbiological and chemical quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) fillets during cold storage (4 ±1°C). *High Pressure Research: An International Journal*, 34(1): 110-121.
- Günlü, A., Koyun, E. (2013): Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4°C). *Food Bioprocess Technology*, 6: 1713-1719.
- Hamada-Sato, N., Kobayashi, T., Imada, C., Watanabe, E. (2002): Freshness preservation of raw fish using contact dehydration sheet: freshness-preserving effects of contact dehydration sheet on pacific mackerel and Japanese sardine. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 49: 765-770.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (1999): Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990.
- Holley, R.A., Patel, D. (2005): Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22: 273-292.
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A., Shahidi, F. (2002): Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5167-5178.
- Jouki, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Koocheki, A., Khazaei, N. (2014): Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 174: 88-97.
- Kang, H.J., Jo, C., Kwon, J.H. (2007): Effect of a pectin-based edible coating containing green tea powder on the quality of irradiated pork patty. *Food Control*, 18: 430-435.
- Kester, J.J., Fennema, O. (1986): Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, 40: 47-59.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2009): Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, 26: 475-482.
- Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M.G., Savvaidis, I.N. (2009): Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. *Food Chemistry*, 115: 169-175.
- Lahlou, M. (2004): Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.

- Lee, K.T. (2010): Quality and safety aspects of meat products as affected by various physical manipulations of packaging materials. *Meat Science*, 86: 138-150.
- López-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., Perez-Mateos, M., Montero, P. (2005): A chitosane gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19: 303-311.
- Lu, F., Liu, D., Ye, X. Wei, Y., Liu, F. (2009): Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets Stored at 4°C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 848-854.
- Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., Suzuki, T. (2004): Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21: 657–666.
- Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Kawai, Y., Shin, I., Suzuki, T. (2006): Preservative effect of combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds on carp fillets during convectional air-drying. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 331-337.
- Mejlholm, O., Dalgaard, P. (2002): Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 34: 27-31.
- Mexis, S.F., Chouliara, E., Kontominas, M.G. (2009): Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Food Microbiology*, 26: 598-605.
- Min, S., Harris, L., Krochta, J. (2005): *Listeria monocytogenes* inhibition by whey protein films and coatings incorporating the lactoperoxidase system. *Journal of Food Science*, 70: 317-324.
- Mohan, C.O., Ravaishankar, C.N., Lalitha, K.V., Gopal, T.K.S. (2012): Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 26: 167-174.
- Neetoo, H., Ye, M., Chen, H. (2010): Bioactive alginate coatings to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon slices and fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 136: 326-331.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, M.H. (2010): Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120: 193-198.
- Ouattara, B., Sabato, S.F., Lacroix, M. (2001): Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). *International Journal of Food Microbiology*, 68: 1-9.
- Özdemir, H., Turhan, A.B., Arıkoğlu, H. (2012): Potasyum sorbat, sodyum benzoat ve sodyum nitrit'in genotoksik etkilerinin araştırılması. *European Journal of Basic Medical Science*, 2: 34-40.
- Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E., Komaitis, M. (2006): Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 95: 664–671.
- Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I.N. (2010): Quality assessment of salted, modified atmosphere packaged rainbow trout under treatment with oregano essential oil. *Journal of Food Science*, 75(7): 406-411.
- Quintavalla, S., Vicini, L. (2002): Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62: 373-380.
- Quitral, V., Donoso, M.L., Ortiz, J., Herrera, M.V., Araya, H., Aubourg, S.P. (2009): Chemical changes during the chilled storage of chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*): Effect of a plant-extract icing system. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 1450-1454.
- Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K.,

- Vuorela, H., Vuorela, P. (2000): Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56: 3-12.
- Sathivel, S. (2005): Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Science*, 70: 455-459.
- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., Prinyawiwatkul, W. (2007): The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83(3): 366-373.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y.J. (1999): Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Science and Technology*, 10: 37-51.
- Shahidi, F., Kamil, J., Jeon, Y.J., Kim, S.K. (2002): Antioxidant role of chitosan in cooked cod (*Godus morhua*) model system. *Journal of Food Lipids*, 9: 57-64.
- Shi, C., Cui, J., Yin, X., Luo, Y., Zhou, Z. (2014): Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during chilled storage: Effect on lipid and protein oxidation. *Food Control*, 40: 134-139.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001): The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470.
- Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., Luo, Y. (2011): Effect of sodium alginate-based edible coating containing different antioxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22: 608-615.
- Stuchell, Y.M. & Krochta, J.M. (1995): Edible coatings on frozen King salmon: effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 60: 28-31.
- Sultanbawa, Y. (2011): Plant antimicrobials in food applications: Minireview, In: *Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances* (Ed. by Mendez-Vilas, A.). Formatex: Spain: 1084-1093.
- Tammineni, N., Ünlü, G., Min, S.C. (2013): Development of antimicrobial potato peel waste-based edible films with oregano essential oil to inhibit *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 211-214.
- Tharanathan, R.N., Kittur, F.S. (2003). Chitin- the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1): 61-87.
- Tual, C., Espuche, E., Escoubes, M., Domard, A. (2000): Transport properties of chitosan membranes: Influences of cross linking. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 38(11): 1521-1529.
- Turhan, S., Sagır, İ., Temiz, H. (2009): Oxidative stability of brined anchovies (*Engraulis encrasicolus*) with plant extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 386-393.
- Vásconez, M.B., Flores, S.K., Campos, C.A., Alvarado, J., Gerschenson, L.N. (2009): Antimicrobial activity and physical properties of chitosan- tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42: 762-769.
- Wang, J.X., Liu, Q.H., Teng, Y. (1994): Research on coatings of frozen mussel flesh. *Food Science*, 2: 70-72.
- Wanstedt, K.G., Seideman, S.C., Donnelly, L.S. (1981): Sensory attributes of precooked, calcium alginate-coated pork patties. *Journal of Food Protection*, 44: 732-735.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorny, J. (2006): Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108: 776-793.
- Yeşiltaş, M. (2012). The effect of alginate coating on smoked fish quality. Master's degree-Thesis in Institute of Graduate Studies in Science and Engineering,

Istanbul University, Supervisor: Prof. Dr. Nuray Erkan.

Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S., Siripatrawan, U. (2006): Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packaging Technology and Science*, 19(3): 149-157.

Yu, X.L., Li, X.B., Xu, X.L. (2008): Coating with sodium alginate and its effect on the functional properties and structure of frozen pork. *Journal of Muscle Foods*, 19: 333-351.

Zeng, Q., Xu, Q. (1997): Study on preservation techniques of fish, shrimp, scallop of edible coating. *Journal of Dalian Fish*, 12: 37-42.

Zhou, G.H., Xu, X.L., Liu, Y. (2010): Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, 86: 119-128.

Zolfaghari, M., Shabanpour, B., Fallahzadeh, S. (2009): Quality preservation of salted, vacuum packaged and refrigerated mahi sefid (*Rutilus frisii kutum*) fillets using an onion (*Allium cepa*) extract. *Aquaculture Research*, 41(8): 1123-1132.

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

ORIGINAL ARTICLE/ORİJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

DEĞİŞİK İŞLEME PROSELERİNİN BROİLERLERDE KULLANILAN LASALOSİT KALINTI DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Namık BİLİCİ

Karabük Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, Beslenme ve diyetetik Bölümü Balıklar Kayası Mevkii, Karabük, Türkiye

Received: 30.11.2014

Accepted: 16.12.2014

Published online: 20.12.2014

Corresponding author:

Namık BİLİCİ, Karabük Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, Beslenme ve diyetetik Bölümü Balıklar Kayası Mevkii, Karabük, Türkiye

E-mail: namikbilici@gmail.com

Öz:

Kanatlı *Koksidiyozisi eimeria* türlerinin neden olduğu önemli bir protozon hastalığıdır. Kanatlı endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Koksidiyozisin kontrolünde nikarbazin, halofuginon, robenidin, diklazuril, monensin, salinomisin, narasin, lasalosit ve maduramisin gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçların kalıntıları izlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması insan sağlığı açısından büyük bir önem taşımaktadır. Bu çalışmada İstanbul'da tüketime sunulan tavuk eti ve yumurtalardan aldığımız 150'şer adet numune de lasalosit kalıntı ve düzey izlemesi yapılmıştır. Genel olarak broilerlerdeki (tavuk) yedirme koşullarında lasalosit 75–125 µg/g ile sınırlandırılmıştır. Bu şartlarda yapılan yedirme denemeleri sonrasında 1. 3. ve 5. ve 7. günlerde alınan dokularda analizler yapılmış, 1. 3. 5. gün dokularındaki lasalosit kalıntı düzeyi önemli bulunmuştur. Kalıntı miktarı yüksek olan 1. 3. ve 5. gün dokuları kızartma, haşlama, +4°C muhafaza ve dondurmaya işleme ve depolama proseslerine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak lasalosit giderek hızla azalan bir rezidüye sahip olduğu ve dokudaki kalıntılarının ısı işlemlerden etkilendikleri tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler:

Lasalosit, İyonofor antikoksidiyal ilaç, Kalıntı düzeyi, Isıl işlem

Abstract:

Effect of the Lasalosit used in Broilers and Different Heat Treatment Process on its Residual Levels

Avian coccidiosis is an important disease caused by protozoa of the genus *Eimeria*. It leads to significant economic losses in the poultry industry. For control of coccidiosis in avian, using pharmacological active substance such as nikarbazin, halofuginon, robenidin, diclazuril, monensin, salinomycin, naracin, lasalocit and maduramicin. Residues of used drugs are significant for human healthy. In this study, we have taken from the poultry meat and eggs available for consumption in Istanbul with 150 specimens were screened for lasalosit. In general, the optimal feeding conditions has been limited 75-125 µg/g for lasalosit. After the feeding under these circumstances 1st, 3rd, 5th, and 7th day the tissues was analyzed. 1st, 3rd, 5th days detected tissue residues were considered important. High residue including which 1st, 3rd and 5th day tissues treated fried, boiled, held on +4°C and freezed. Consequently it was confirmed that lasolocid residue have decreasing and affected by heat treatment of residues in tissues.

Keywords:

Famagusta, coastal fishery, gillnet, trammel net, longline

Giriş

Koksidiyozis birçok hayvan türünde çok ciddi sağlık problemleriyle seyreden ve kanatlı hayvanlarda ölümlere kadar varabilen protozoonlardan kaynaklanan bir hastalıktır. Kanatlılarda alimenter yollardaki bozunumlar ishalden kanlı ishale ardından da ölümlere hatta sürü ölümlerine yol açabilmektedir. Eimeria türleri tarafından meydana getirilen, proventrikülden başlayarak kolona kadar olan emilim yollarının harabiyeti ve şiddetli ishale karakterize olan bu hastalığın tedavi edilmediği takdirde ölümle sonuçlanması kaçınılmazdır. Tedavisinde değişik antibiyotiklerin yanı sıra genelde antikoksidial olarak karboksilik iyonoforlar kullanılmaktadır (Parelman, 1993; Rokka, 2005).

Ulusal kalıntı kontrol planı 2007'de yapılan gruplandırma antikoksidial iyonoforlar "B2b" grubunda değerlendirilmiş olup buna ilişkin laboratuvar alt yapısı, analiz yetkinliği ve referans olarak Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü (PVKAE) gösterilmiştir. Lasalosit için kontrol limitini izleme; tespit seviyeleri için 10 µg/kg, analizleri LC-MS ile doğrulama da LC-MS/MS ile 2 µg/kg düzeyleri olarak deklere edilmiştir (Bories, 2007; Resmi Gazete, 2007; GKGM, 2007).

Lasalosit özelliklerinden ve halk sağlığında direk kullanılmıyor olmasından ötürü Dünya Sağlık Örgütü (WHO) eksperlerince kritik önemde değerlendirilmiş dolayısıyla Office International des Epizooties (OIE) tarafından Veteriner Hekimlik açısından koksidiyozun kontrolünde çok önemli bir antibiyotik olarak listelenmiştir (EFSA, 2007; EFSA, 2004; Bishop, 1996; Jordan, 1990; Dubois, 2004).

Daha önce kanatlı dokularında ilaç kalıntı düzeylerinin ısı karşısındaki tepkisi Baydan ve ark. tarafından 2001 yılında sülfadiazin yine aynı araştırmacılarca 2002'de sülfadimetoksin, sülfakinoksalin ve sülfadoksin kalıntıları üzerine yapılmış olup farklı pişirme işlemlerinin sülfadimetoksin, sülfakinoksalin ve sülfadoksin üzerine önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Baydan ve

ark., 1998; Baydan ve ark., 2001). Pişirme ve dondurma işlemlerine ilişkin ise çok az sayıda çalışma olduğu görülmüş (Baydan ve ark., 2001), Dehai ve ark. (1996) kanatlı dokularında sülfadiazin kalıntılarının çeşitli pişirme, -20C'de dondurma ve bekletme ile azaldığını bildirmişlerdir (Dehai, et al., 1996).

Günümüzde LC-MS ile iyonofor antikoksidiallerin 1ppb' nin altında bile tespitleri ve LC-MS/MS ile de doğrulamaları çok daha büyük duyarlılık oranlarında mümkün olmaktadır. Bu çalışma broilerlerde lasalositin kalıntı bırakma düzeylerinin belirlenmesi ve ısı stabilitesinin ortaya konması amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma; İstanbul ilinden numune bazlı tarama testleri, yedirme sonrası doku ve karaciğer rezidüe seviyeleri ile yüksek düzeylerdeki kalıntının ısı işlemlere tepkisinin belirlenmesini içermektedir.

Numune çalışması

İki aşamalı olan çalışmamızın birinci evresinde İstanbul'un Anadolu ve Avrupa yakalarında 15 ilçesinden (Bahçelievler, Bağcılar, Bakırköy, Küçükçekmece, Gaziosmanpaşa, Fatih, Eminönü, Beyoğlu, Şişli, Güngören, Tuzla, Maltepe, Pendik, Kadıköy, Beykoz) topladığımız 150 adet yumurta ile 150 adet broiler eti örneği alınarak "Pendik Veteriner Kontrol Ve Araştırma Enstitüsü" (PVKAE) kalıntı laboratuvarına etler soğuk zircirde, yumurtalar ise satış koşullarında en fazla 3 saat içerisinde taşındı. Numuneler alınırken yumurtalarda bir adet viyolden bir adet yumurta alınmasına, aynı firma aynı adres ve aynı parti malı olması durumunda ikinci bir numunenin alınmasına özen gösterilmiştir (**Tablo 1**).

Piliç eti numuneleri alınırken de olabildiğince farklı parti, farklı kesim ve/veya firma olmasına dikkat edildi. Böylece yumurta ve piliç eti numunelerinin imkânlar dâhilinde farklı seçimi öngörülmüştür (**Tablo 2**).

Tablo 1. Yumurta örneği alım tablosu**Table 1.** Egg samples reception table

Numune No:	1-150 adet yumurta
Cinsi	Yumurta
Ortalama ağırlığı	50-60gr/ad. yumurta
Alındığı Yer	B.Evler,Bağcılar,Bakırköy,K.çekmece,Gaziosmanpaşa,Fatih,Eminönü,Beyoğlu,Şişli,Güngören,Tuzla, Maltepe,Pendik,Kadıköy,Beykoz,
Özel İşareti	Yok
Saklama koşulları	Normal satış reyonları
Organolepsisi	Kendi yapı ve özelliklerinde,
Satışa arz	Satışa arzedilmiş halde
Düşünceler	Deformasyon, çatlak, kırık, delik olup olmadığı ve görünümü

*İlk- son kullanım süreleri tarihleri aralığı

Tablo:2. Piliç eti örneği alım tablosu**Table 2.** Chicken meat sample table

Numune No:	1-150 ad.arası numaralandırılmış Piliç eti numunesi
Cinsi	Piliç eti
Miktarı	Piliç eti: 230-350gr/ad. numune
Hangi dokular	P.eti:deri+but+göğüs (yarım piliç)
Alındığı Yer	B.Evler,Bağcılar,Bakırköy,K.çekmece,Gaziosmanpaşa,Fatih,Eminönü,Beyoğlu,Şişli,Güngören,Tuzla, Maltepe,Pendik,Kadıköy,Beykoz,
Özel İşareti	Yok
Isısı	Piliç eti:-4, +2°C
Organolepsisi	Kendi yapı, kıvam, görünüş doku ve özelliklerinde
Satışa arz	Satışa arzedilmiş halde
Düşünceler	Halka satışa arz şeklinde reyon dolabından alınmasına dikkat edildi

Ekstraksiyon Yöntemi olarak PVKAE'nin de kullandığı "Antikoksidiyal İlaç Kalıntılarını Tarama Analiz Talimatı" diye adlandırılan EFSA'nın ve AB referans laboratuvarlarının da (Berlin) kullandığı aşağıdaki analiz yöntemi uygulanarak kalıntı düzeyleri belirlenmiştir.

Kullanılan Materyal, Standart ve Kimyasallar:

Materyal:

200mL' lik cam beher ve 15mL' lik deney tüpü,
50 ve 75mL'lik silifli kaplı santrifüj tüpleri,
Vorteks karıştırıcı,
Ultrasonik su banyosu,
Soğutmalı santrifüj,

N (azot) evaporatörü,
Gold-Tandem MS/MS
Thermo Finnigan® MSQ LC-MS/MS sistem,

Kimyasallar;

- 1-Metanol, HPLC grade, (Merck®),
- 2-Asetonitril, HPLC grade, (Merck®),
- 3-Amonyum Asetat (J.T.Baker®)
- 4-NaOH, (J.T.Baker®)
- 5-n-Hekzan Reagent grade,(Riedel®)
- 6-Toluen Reagent grade, (Merck®)
- 7-Tetrahidrofur, (Riedel de Haen®)
- 8-Formik asit, (Merck®)

Standartlar;

İsim: Lasalocid A sodium salt

Açık Formül:

Kapalı Formül: $C_{34}H_{53}NaO_8$

Molekül Ağırlığı: 612.77 g/mol

Erime Noktası: 180 °C (dec.) (lit.)

Saklama Koşulları: Standart madde -20 °C de saklanabilir.

Stabilite: Stok çözeltiler metanolde hazırlanır ve - 20 °C de muhafaza edilir. Çalışma çözeltileri +4°C de 1 hafta stabil olarak saklanabilir.

Çözünürlük: Metanol de çözünür. Seyreltmeler metanol ile yapılabilir.

Tablo 3. Antikoksidiallerin Analizlerinde Cihaz Ayarları

Table 3. Device Settings in the anticoccidial Analysis

LC Kolon	Phenomenex Synergy Max RP 2.1x150mm 5u						
Mobil Faz	%60ACN + %25 0.1M amonyum asetat + %10 MeOH + %5 THF + %0.2 Formik Asit						
Autosampler Sartlari							
İnjection volume	25ul						
Flush Volume	1000ul						
Wash Volume	500ul						
Tray Temperature	4°C						
Column Oven Temperature	40°C						
LC Pump Sartlari							
Program	0-35dk isokratik						
Flow	0.25ml/dk						
MS Şartları							
İyonizasyon Modu	ESI (+)						
Tarama Tipi	SIM						
Prob Temperatur	400°C						
Aranacak İyonlar ve Diğer Ayarlar	İsim	Kütle	Span	Time Range	Dwell Time	Polarity	Cone voltage
	Lasolacid	613.5	2	5.00-12.00	1.00	+	95.00

Numunenin Hazırlanması

Analizi yapılacak yumurtanın tamamı bir mikser ile broiler etinin 200g'ı homojenizatör yardımıyla iyice parçalanıp numune numuneler ayrılmış, herhangi bir bulaşmayı engellemek için tüm teçhizatın her işlem sonrası gerekli temizlikleri ileri düzeyde su, asetonitril, metanol ile yapılmıştır.

Ekstraksiyon

Elli veya 75 mL'lik santrifüj tüpüne 10g doku örneği, 15mL asetonitril ve 2mL saf su eklenerek 30sn vorteks karıştırıcı ile homojen hale getirildi. Homojenizatörde iyice parçalanan örneklerin olası parçacıkların yetersiz ayrışmasını önlemek amacıyla ortalama 10 dk ultrasonik banyoda ileri düzeyde parçalanmaları sağlanmış, sonraki aşamada ısı ayarlanabilir bir santrifüj ile 4°C'de 3000 rpm'de 10 dk askudaki partiküllerin çökmesi sağlanmıştır. Santrifüj sonrası üst fazdan 2,5 mL'lik kısmı 25mL'lik santrifüj tüpüne alınarak buna 4mL 0,5M NaOH, ile 10mL Hekzan: Toluen (1:1) çözeltileri ilave edilmiştir. Otuz saniye vortekste karıştırılıp 3000rpm'de 10dk santrifüj sonrası üst fazın tamamı ayrılarak 15mL'lik deney tüpüne örnekler alınmıştır. Üst fazın yumurtada en fazla ve doku kızartma numunelerinde en az olduğu gözlemlenmiştir. Kalan alt faza 5mL Hekzan:Toluen (1:1) eklenerek santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz ayrılarak birinci üst faz ile birleştirilmiş, elde edilen bu faz azot gazı altında 60°C'de uçurularak elde edilen geri kazanım örnekleri 500µl asetonitril:su (75:25) ile insört vialle alınarak LC-MS te analize alınmıştır.

Doğrulama testleri için yine yukarıdaki yöntem ile analitlerin tesbit limitleri kadar standart enjeksiyon yapılarak geri kazanım (recovery) ları test edilmiştir. Lasalositin kas dokusundan ayrıştırılması, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile analitlerin kirlilikten ayrıştırılması yapılarak LC-MS-MS sistemi ile doğrulaması aynı analiz peosedürleri içerisinde gerçekleştirilmiştir.

Analiz için Thermo Finnigan Surveyor LC pump, otomatik enjektör (Thermo Finnigan Surveyor Autosampler), LC kolon (Phenomenex Synergy Max RP 2,1x150mmx5µ), 400°C Kolon Fırın Isısı, 25 µL Enjeksiyon Hacmi, 0.3 mL/dk Akış Hızı, 0-25dk Diagonal Akış programında ve %60 asetonitril + %25 0.1M Amonyum asetat + %10 Metanol + %5 Tetrahidrofuran + %0,2 Formik asit olan mobil faz şartları oluşturularak çalışma yapılmıştır.

Besleme sonrası elde edilen doku örneklerinde ekstraksiyonu

Çalışmanın ikinci evresi broyler temini, gruplandırma, yedirme, kesim ve ekstraksiyonundan oluşmuştur. Bursa'da ticari bir işletmeden alınan 150 adet Ross ırkı 16 günlük broyler pilici Bilecik ili İnhisar ilçesi Tarpak beldesine kafeslerde sorunsuz ve kayıp vermeden naklendilmiştir. Daha önceden hazırlanmış, ayrılmış, Lasalosit için "L" "kontrol için de "C" yazılarak işaretlenmiş bölmelere yerleştirilerek besleme grupları oluşturulmuştur. Muhtemel aksaklıkların (ölüm, hastalık v.b.) tolere etmek amaçlı L ve C grubu dışında kalanlar ayrı bir bölme alınarak, beş gün boyunca kendi normal rasyonları, antikoksidiyal içermeyen rasyonları ile beslenme sürdürülmüş böylece eliminasyona neden olabilecek olası risklerden kaçınılmıştır.

Yem karışımı 20. günde Lasalosit için ton üzerinden hesaplama yapılarak lasalositin 90 µg/g miktarına denk gelen ilaç kısmı bir ön karışıma tabi tutulmuştur. Bu ön karışım ikinci bir karışımla homojen dağılımın sağlanacağından emin olunduktan sonra 100'er kg'lık pellet olmayan yemlere karıştırılmıştır. Bir sonraki gün (21.gün) yedirme sabahtan başlatılmış başlangıçtan itibaren kontrol grubunda belirgin olmakla birlikte tüm gruplarda yem alımında kesime kadar artarak devam etmiştir. Beşinci gün sonunda total yem tüketiminde artışa paralel olarak gözlemlenebilir ağırlık artışı da gözlemlenmiştir. Beş günlük besleme sonrası kesimlere başlanmış (1., 3., 5. ve 7. kesim günleri) yapılarak analiz prosedürleri tüm gruplara aynen uygulanmıştır. gün boyunca konuya ilişkin değerlendirmeleri değiştirebilecek herhangi bir olumsuzluk meydana gelmemiştir.

Ekstraksiyon işlemi kontrol ve ısıl işlem uygulanmış broiler örneklerinde dinlendirme işlemi sonrası (24 saat) başlatılmıştır.

Doku ve ısıl işlem ekstraksiyonları bir arada ve uygun dinlendirme koşullarında 24 saat sonra başlatılmıştır. Ekstraksiyon için yöntem aynen korunurken doku ayırımına gidilmeden but ve göğüs-ten ortak alınan numuneler ile karaciğerden 10'ar gr'lık numuneler eş zamanlı ve paralel çalışılıp 3/4 parça da ısıl işlemler için ayrılmıştır. Bu ısıl işlemlere saklanmış kısım göz kararı üç eşit parçaya bölünerek -20°C'de 10 gün tutulduktan sonra -20°C'den alınarak 0 - +4 °C şartlarında 12-24 saat çözündürülerek ekstraksiyona alınmıştır. İkinci parça toplumsal yemek kültürümüzden örneklenecek alışkanlıklarımıza paralel olarak fakat

ısı ve basınç ayarlanabilir bir kapta pişirmeye tabi tutulup pişmiş et ve et suyu ayrı, ayrı ekstrakte edilerek numaralandırılıp analizi yapılmıştır. Pişirme esnasında örnekle beraber pişirme kabına 250 gram doku için 50 ml su ilave edilerek pişirme süresi 25 dakika ile sınırlandırılmıştır. Son 1/4 parça ise yine beslenme alışkanlıklarımıza paralel olarak kızartılıp ekstraksiyonu yapılarak analize alınmıştır. Kızartma işlemi elektrikli kızartıcı kullanılarak ve tüketilebilir nitelikte kızarma kıvamına geldiğinde işleme son verilerek tamamlanıp, ekstraksiyona gidilmiştir. Hem pişirme hemde kızartma işleminde tüketim alışkanlıklarıyla birebir paralellik sağlanmasına azami riayet edilmiştir.

Ekstraksiyon sonrası numunelerden elde edilen kısım organik bir çözücü yardımıyla SPE ve LLE teknikleriyle ile dokulardan ayrıştırılmıştır. İlaç kalıntılarını çözen organik bir solvent içinde var olan eluatlar azot gazı (N₂) altında kuruluğa kadar uçurulmuştur.

Örnek zenginleştirme olarak ifade edilen Sample Concentratör sistemiyle ekstraksiyon sonucu dokulardan ayrılarak organik çözücüye geçen ilaç kalıntıları cihaza verilinceye kadar vida kapaklı tüplerde 4 °C de muhafaza edilmiştir.

Bu çalışmanın deneysel kısmı çalışmaları için 31.10.2006-2006/175 tarih ve sayı numarası ile İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'ndan kurumundan "Etik Kurul" izni alınmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kuzey İrlanda'da yumurtacı tavuklarda 6ay boyunca kullanılan lasalositin kalıntı miktarı olarak 1994'te %66 den 1995'te %21'e inmesinin nedenlerinin başında granüler formun kullanımı gösterilmiş ve toz formun kullanımının azalması kalıntı olarak da bir azalmaya neden olmuştur. Buna karşılık İngiltere'de lasalosit yumurta tavuklarında daha az tesbit edilmiştir. 1994'te %10.7' sinde 40 µg/g olarak yumurtada tesbit edilirken bu oran 1998'de %1.1 düzeyinde saptanmış fakat bu oran inandırıcı bulunamamıştır. Çünkü 2000 yılında %33'ünde ortalama 40 µg/g oranında taşıdığı tesbit edilmiştir. Yine Kuzey İrlanda'da Temmuz-Ekim 2001 tarihleri arasında yapılan başka bir çalışmada 148 adet yumurta numunesinden 3 adedinde (%2) sadece 40 µg/g düzeyinde kalıntı taşıdığı bulunmuş ve düşük düzeyde kirlenme ise 20 adette, %13.5' inde, 2 ile 27 µg/g olarak tespit edilmiştir. İngiltere'de bildircinlerde 20 kas doku

ve 10 yumurta üzerinde yapılan bir çalışmada lasalosit rezidüsü 6 kas doku ve 10 yumurtada 120 ile 5400 µg/g arasında tespit edilmiştir (Jordan ve ark., 1990; Kennedy ve ark., 1998; Kennedy ve ark., 1996).

İsveçte 1999 yılında Rosen (2001) tarafından yapılan bir taramada 100 adet broiler karaciğerinin beşerli olarak bir araya getirilmesi yoluyla yapılan 20 örnek analizinde 11 örneğin narasinin kalıntısının 0.04–0.67 µg/g arasında değiştiğini tespit etmiştir. Kuzey İrlanda'da yapılan bir başka çalışmada 40 adet yem rasyonundan %22.5' inde monensinin prevantif dozun çok üstünde 5 mg/kg düzeyinde bulunduğu en yüksek buluna örneğin ise 44 mg/kg olduğu bildirilmiş sebepleri araştırıldığında ise yem fabrikalarındaki gerek normal gerekse pellet yapımı esnasında makine ve ekipmanların bulaşıklığı, personelin dikkatsizliğinin ana nedenler olduğu anlaşılmıştır (EFSA, 2004; Mc Evoy, 2002).

Yapılan piyasa araştırması İstanbul ilinden 15 ilçeden (Bahçelievler, Bağcılar, Bakırköy, Küçükçekmece, Gaziosmanpaşa, Fatih, Eminönü, Beyoğlu, Şişli, Güngören, Tuzla, Maltepe, Pendik, Kadıköy, Beykoz) değişik noktalardan numuneler alınmıştır. Yumurta ve doku numuneleri alınış şekil ve kriterleri olarak TGHB'nin numune alma formatı da göz önünde tutularak aşağıda tablolatırılmıştır.

Yukarıda belirtilen yöntem ile PVKAE'de analize aldığımız 150 adet yumurtadan Lasalosit tespit edilebilir limitler dahilinde herhangi bir kalıntıya rastlanmamıştır. Yine broiler etinden mix olarak (deri + but + göğüs) hazırlanan karışımlardan da aynı yöntem ve tarama şartlarında negatif sonuç alınmıştır.

Broilerlerde antikoksidiyal ve zooteknik olarak da verim arttırıcı, yemden yararlanmayı yükseltici bir başka ifade ile yemin ete dönüşüm oranını pozitif yönde değiştirici olarak kullanılan Lasalosit için yedirme denemeleri süresince yem tüketiminde artış gözlemlenmiştir. Bu; gözlem sonuçlarının kalitatif olması literatür olarak verilen ve amaç dışında olduğu için verilmemiş zooteknik ve parazitolojik araştırmalar ile paralel meydana gelmiştir (EFSA, 2004; Kennedy ve ark., 1996; Şanlı, ve ark.,1993; Mattabudul, 2002).

Kesimin 1., 3., 5., 7., günlerde yapılması hem ekstraksiyon periyodu hemde yapılagelen otoriter uygulamalarla paralellik arzetmesini sağlamıştır (EFSA, 2006, EMEA, 1999, EMEA, 2004).

Negatif sıcaklık etkisi dışında diğer ısı işlemler için bir bekletmeye gerek görülmemiştir. Ulusal mevzuatda antikoksidiyallerin B2b grubunda değerlendirilmesi AB laboratuvarına atıfla PVKAE'nin antikoksidiyal kalıntı için temel referans alınmasını gerekli kılmıştır (Resmi Gazete, 2005; GTHB, 2007; Resmi Gazete, 2007; Elliot, 1998; McDouglas, et.al.,1998; Mortier et.al., 2005; Oehme et.al., 1998). Yöntemin ülkemizde ve AB'de eş güdümlü kabul görmesi ve aynı ölçütlerin tekrarı, kontrol edilebilirliği ve

doğrulanabilirliği açısından büyük önem taşımaktadır (Regulation EC, 2003).

Lasalosit için yapılan tespit düzeyi çalışmaları, recovery ve validasyon işlemleri sonrasında 1ppb düzeyinde kalıntı tespiti yapılabildiği bunun da EFSA, EMEA ve ulusal verilerle paralel olduğu görülmüştür.

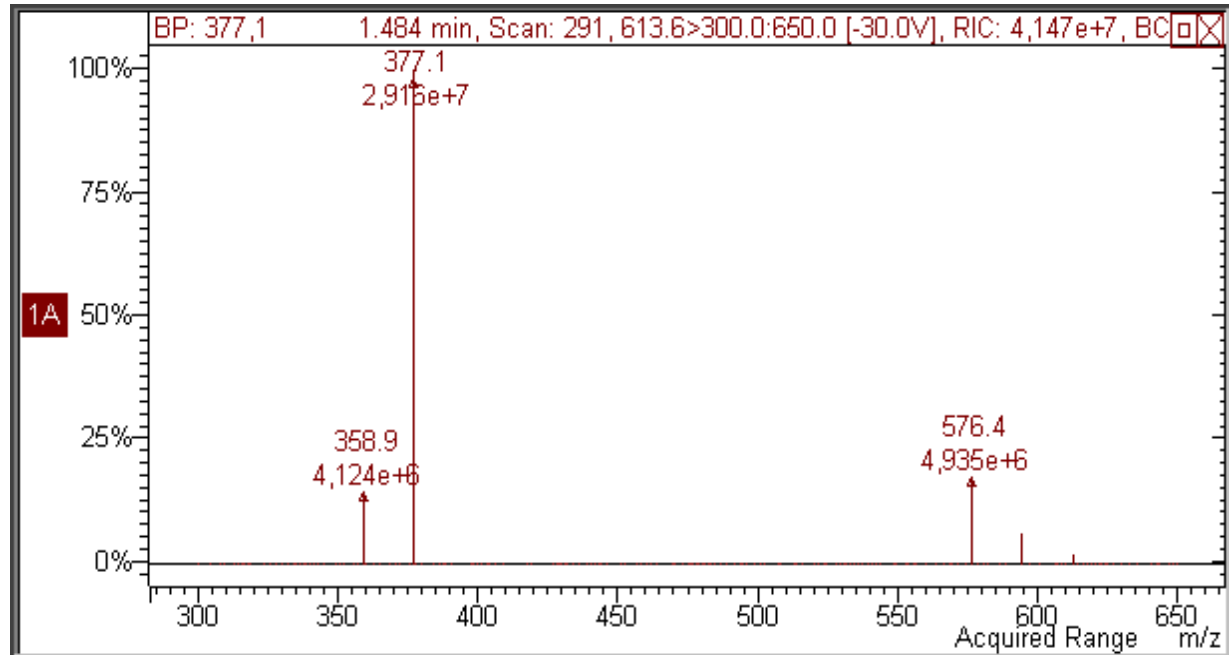
Lasalosit için yapılan tespit ve doğrulama çalışma sonuçları aşağıdaki gibidir;

Tablo 4. Lasalosit analiz ve doğrulama parametreleri

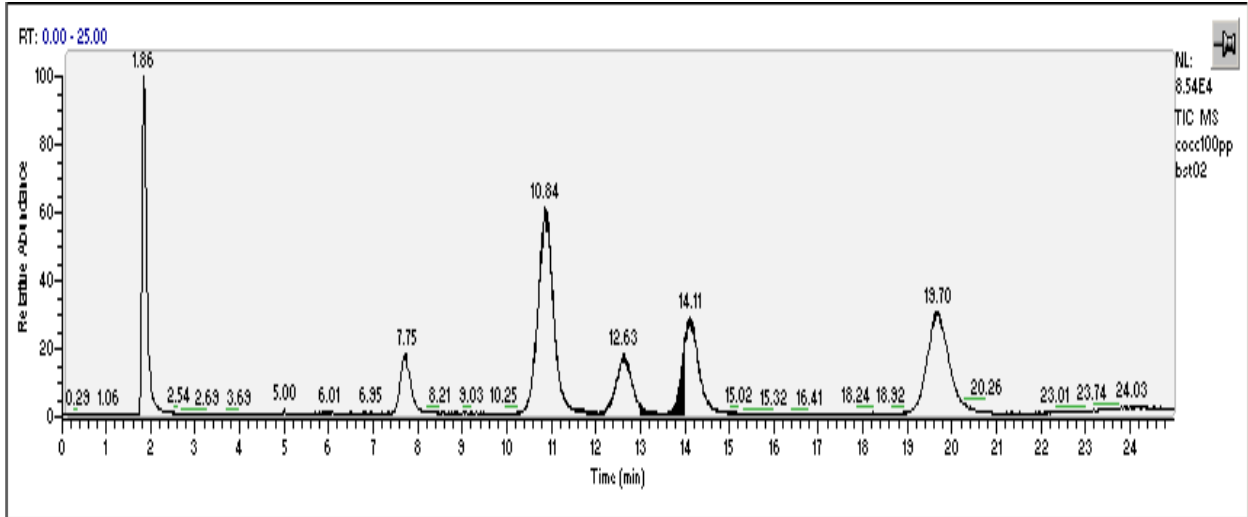
Table 4. Lasalosit analysis and validation parameters

Lasalosit için tarama analiz parametreleri				
İyonofor	Tespit Limiti (ppb) (LOD)	Hesaplanabilir Limit (ppb) (LOQ)	Dedektör	Cone Voltajı
Lasalosit	2	4	ESİ(+)	90
Lasalosit için doğrulama analiz parametreleri				
Lasalosit	1	2	ESİ(+)	30

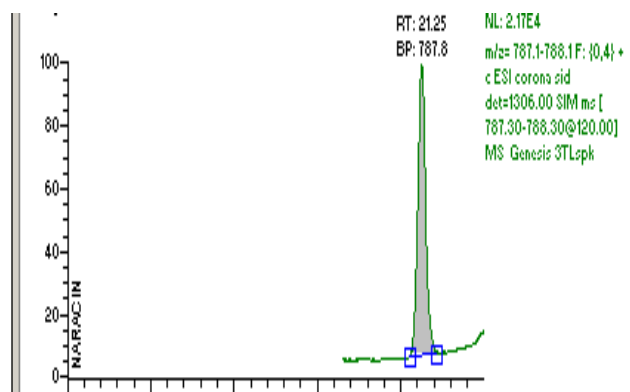
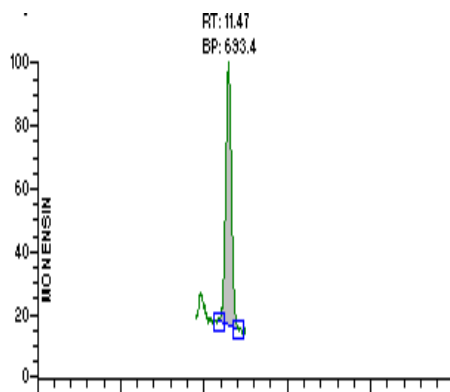
Lasalosit LC-MS/MS Spektrumu:



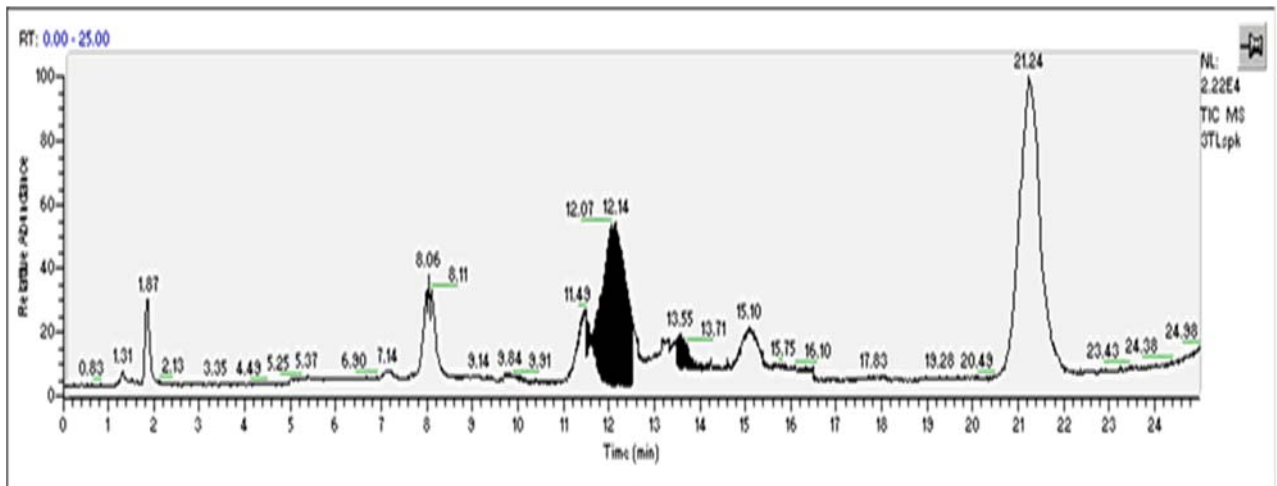
100ppb Mix Standart Kromotogramı:



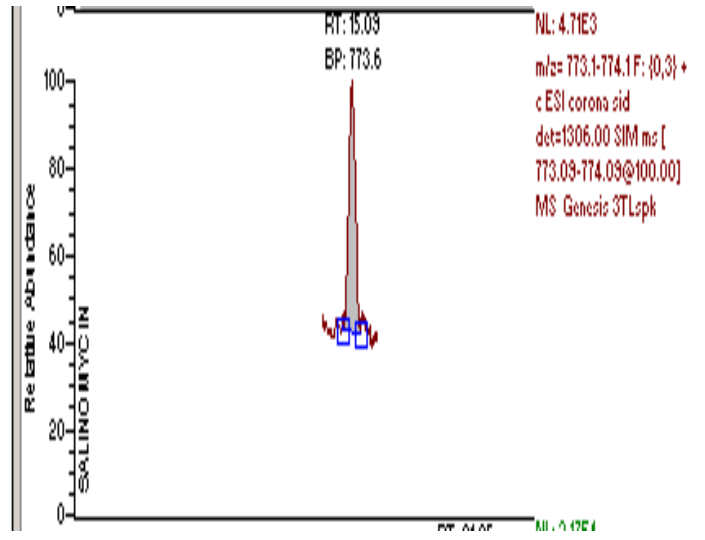
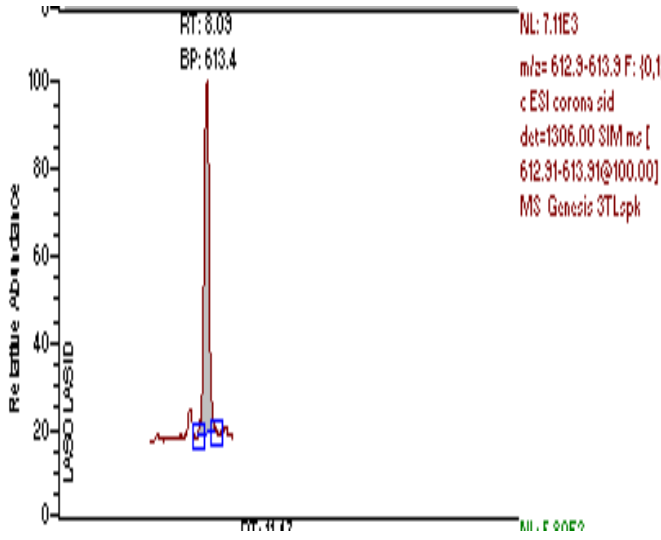
100ppb Mix Standart Kromotogramı:



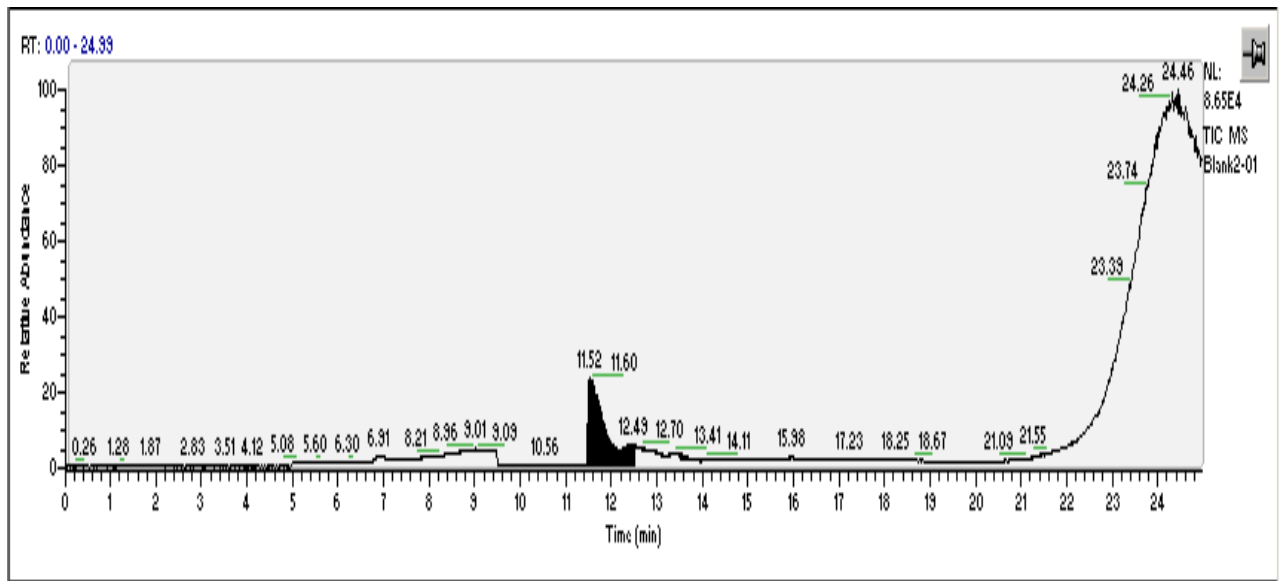
Spike yapılmış doku kromatogramı tespit limiti:



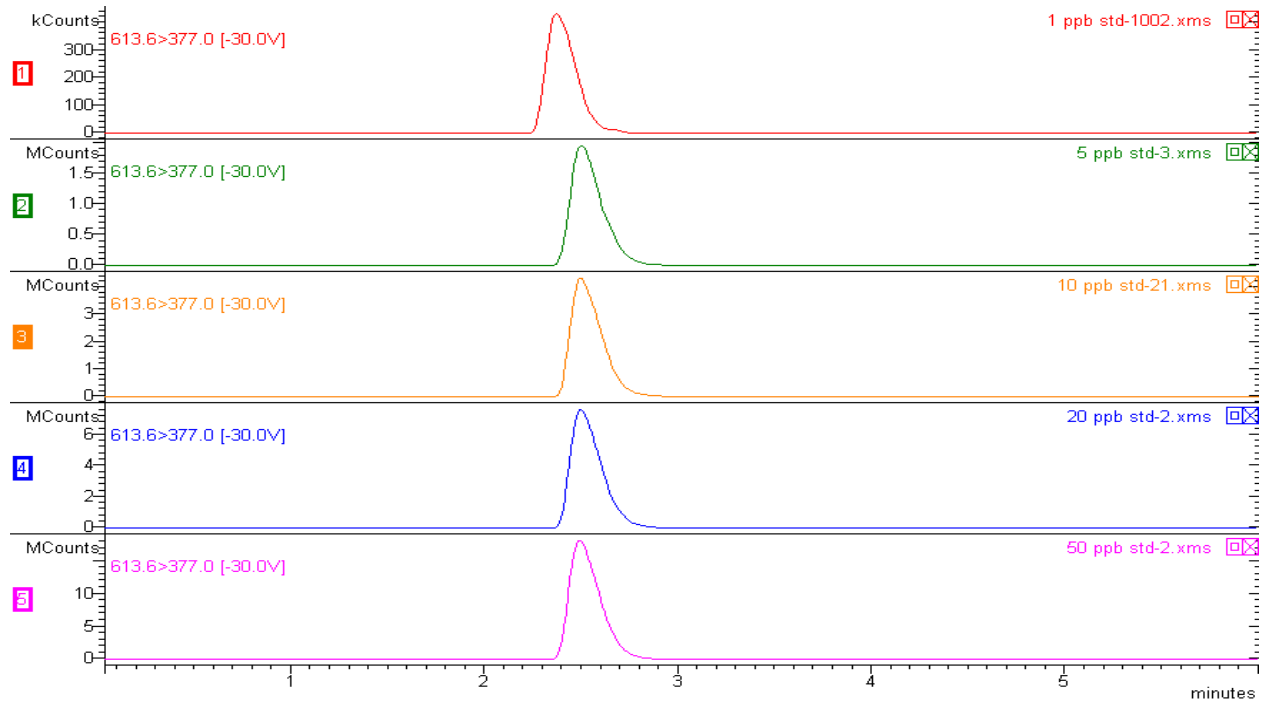
Lasalosit Kromatogramları:



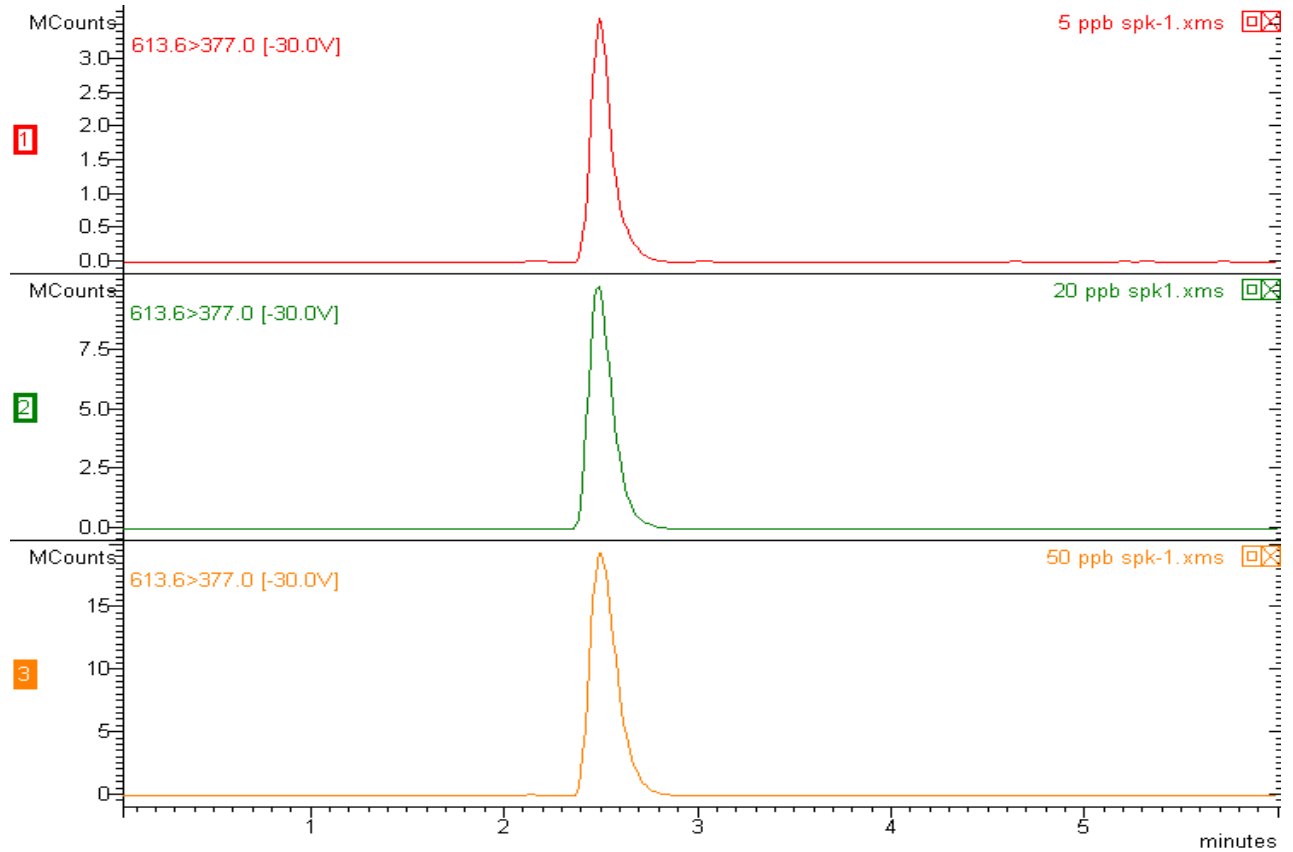
Blank Doku Kromatogramı:

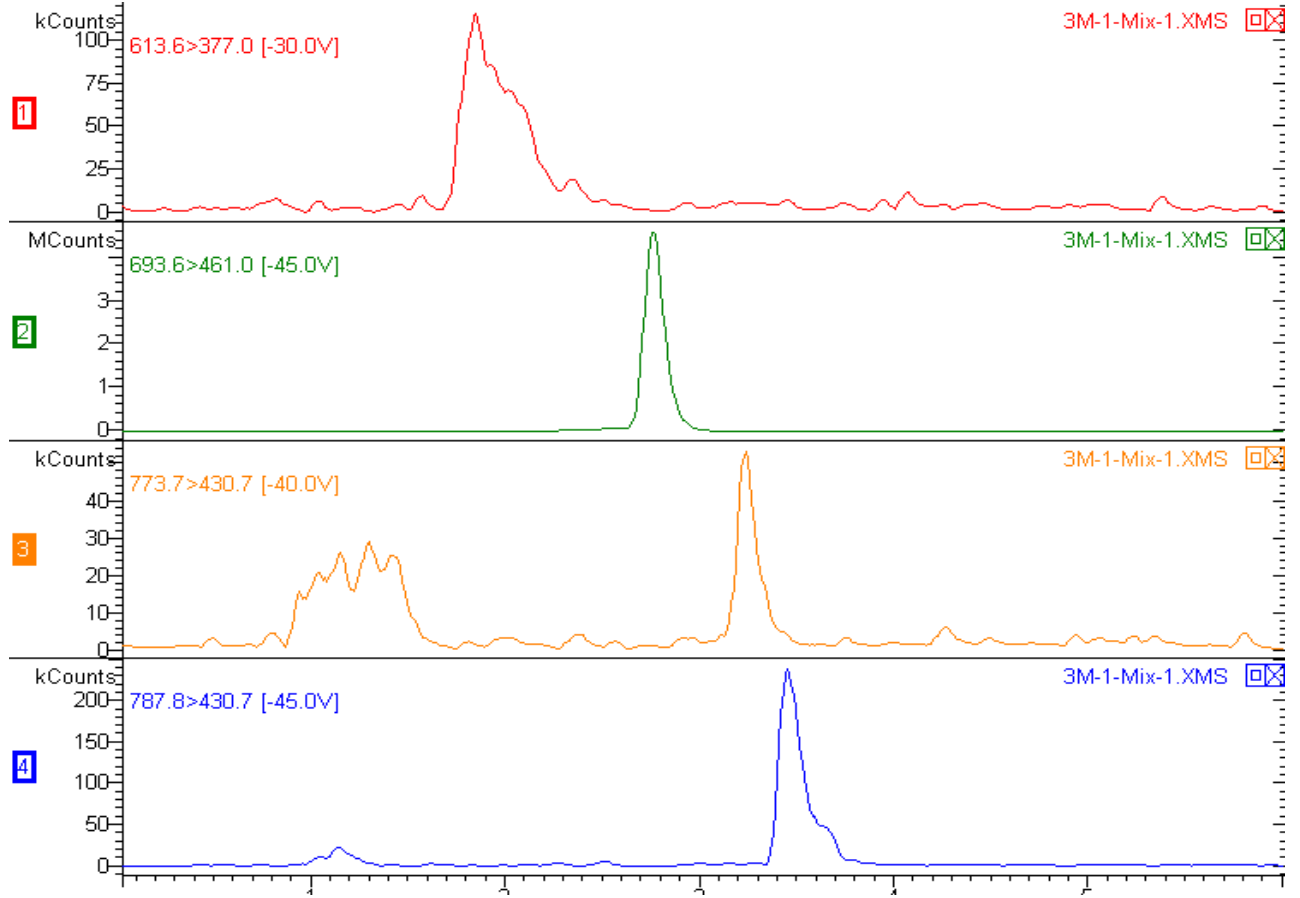


Lasalosit Linearitesi:



Spike Yapılmış Dokulardan Elde Edilen Lasalosit Kromatogramı:



Örnek Numune Kromatogramları:

Standart enjeksiyonlardan sonra elde edilen geri kazanım lasalositte %98, olmuştur. Bu yüksek değere ulaşılma nedeni lasalosit için çift değerli iyonları bağlama kapasitesi, kaybın daha az şekillenmesi ile makinaların yüksek performansta çalışabilmeleri ve yeni teknikler olmaları yanısıra özgün yapısının metotla iyi sonuç vermesine bağlanmıştır. Lasalosit için EMEA tarafından MRL kas, deri+yağ, karaciğer, böbrek ve yumurtada sırasıyla 20, 100, 100, 50, 150 µg/kg olarak verilmiş ve ulusal mevzuatımızda da aynı oranlar aynı dokular için aynen alınmış ve kabul edilmiştir.

Ulusal otorite PVKAE'nin yapacağı izlemeyi LC-MS ile doğrulamayı ise LC-MS-MS ile tesbit seviyesini 10 µg/kg ve doğrulama seviyesini ise 2 µg/kg ile yasal olarak düzenlemiş ve karar limiti olarak Lasalosit için >20 µg/kg olmasını kararlaştırmıştır (Resmi Gazete, 2007, GTHB,2007). Bu ulusal ve AB yasal mevzuatının yanısıra kullanımı devam edegelen Lasalosit' in

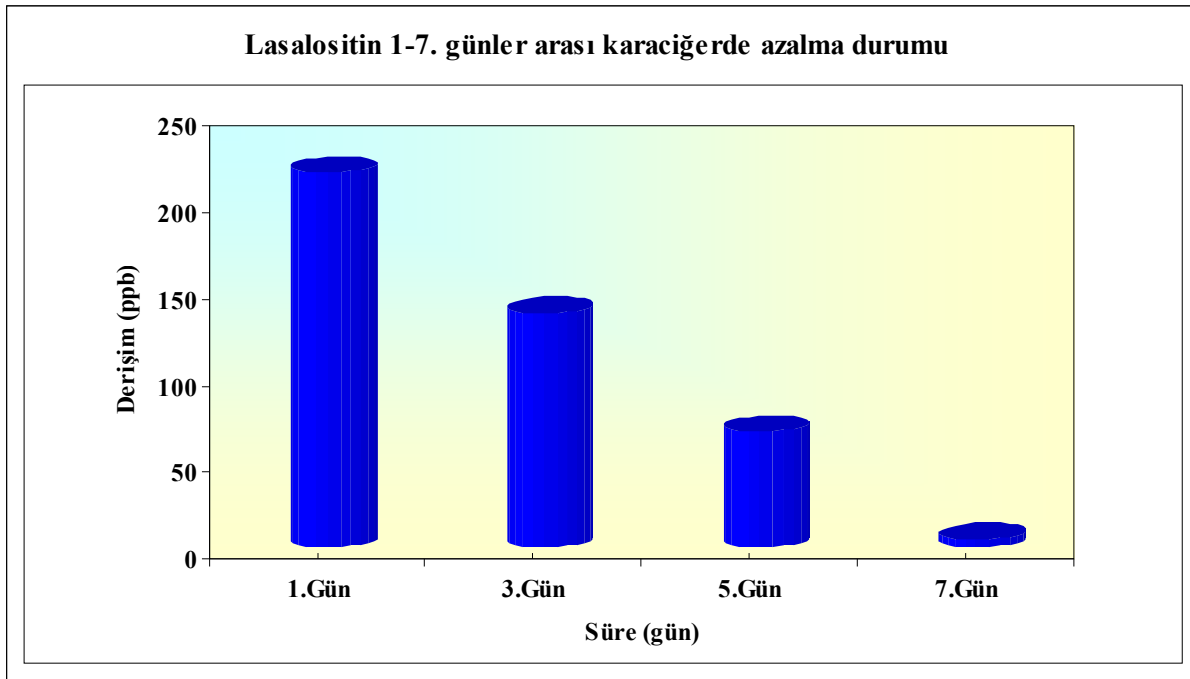
de dahil olduğu karboksilik iyonoforlar için kullanım parametreleri hususunda ülkemizde herhangi farklı bir saha taramasına rastlanmamıştır. Bu sayılanların ışığında lasalositin de içinde bulunduğu karboksilik iyonoforların mevcut kullanımları, yapıları, direnç oluşturma periyotlarının uzunluğu, koksidi etkenlerine etkin ve özgün etkimelerinden ötürü kullanımlarının devam edeceği kanaati bir çok literatürce de desteklenmektedir (Ebrahimezhad, 2005; Rokka ve Peltonen., 2006; Elliot, ve ark., 1998). Lasalosit için yapılan LC-MS tespit ve LC-MS/MS doğrulama analizleri sonucunda alınan örneklerden bir kaçını aşağıda verilmiştir. Verilen analiz raporları günlere bölünerek ortalama ideal olan, aynı grup örnekleri temsil edebilen, analizlerden sadece birer adedi konulmuştur. Bu örnek analizler 1., 3., 5. ve 7. günlerden birer adet olmak üzere alınarak karboksilik iyonoforun düzeyi, günlere göre azalma durumu ve düşüş trendi hakkında bilgi vermesi açısından son derece

çarpıcı oldukları değerlendirilmiştir. Burada Lasalosit' in yüksek seviyelerde bulunabilme eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Analiz örnekleri 7. günü raporları tespit ve doğrulama limitlerimizin çok altında bulunmuştur.

Lasalosit broiler mix dokusunda 1-7. günler arasında bulunan kalıntı değerleri aşağıda verilmiştir.

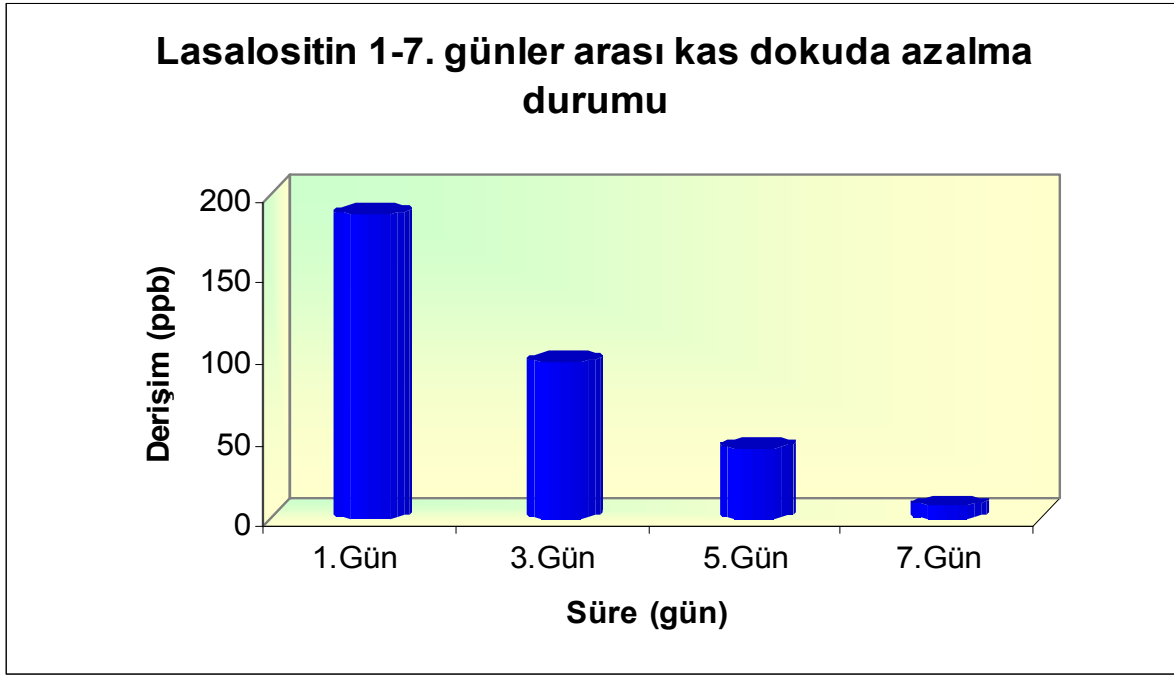
Yapılan kesimlerin 1., 3. ve 5. günlerinde kalıntı miktarın inen doğrusal bir eğim göstermesi, aradaki farklılıkların yüksek oluşu, Kinetiğinin; ilk geçiş etkisi ile büyük oranda atılımını sağladığı, kalan miktarın ise yapılmış çalışmalara

paralel olarak metabolizmada hızla degrade edildiği şeklinde yorumlanmıştır. 7. günde lasalosit için herhangi bir kalıntıya rastlanmazken 5. gün verileri AB otoritesine paralel olmuştur. Yapılan ısıt işlemlerde sırasıyla kızartma, kaynatma ve dondurmada ısıt her işlemde lasalositin yıkımlandığı görülmüştür. Yıkımlanma lasalositte daha orantılı bir düşüş kaydetmiştir. Lasalositin atılım bakımından doku konsantrasyonunun daha geç degradasyonu, ısıt işlemlerden de kaynatmanın lasalositi daha az yıkımlandığı aşağıda verilen grafiklerden de anlaşılacağı üzere lasalositin daha istikrarlı olma eğilimine sahip olduğuna tanık olunmuştur.



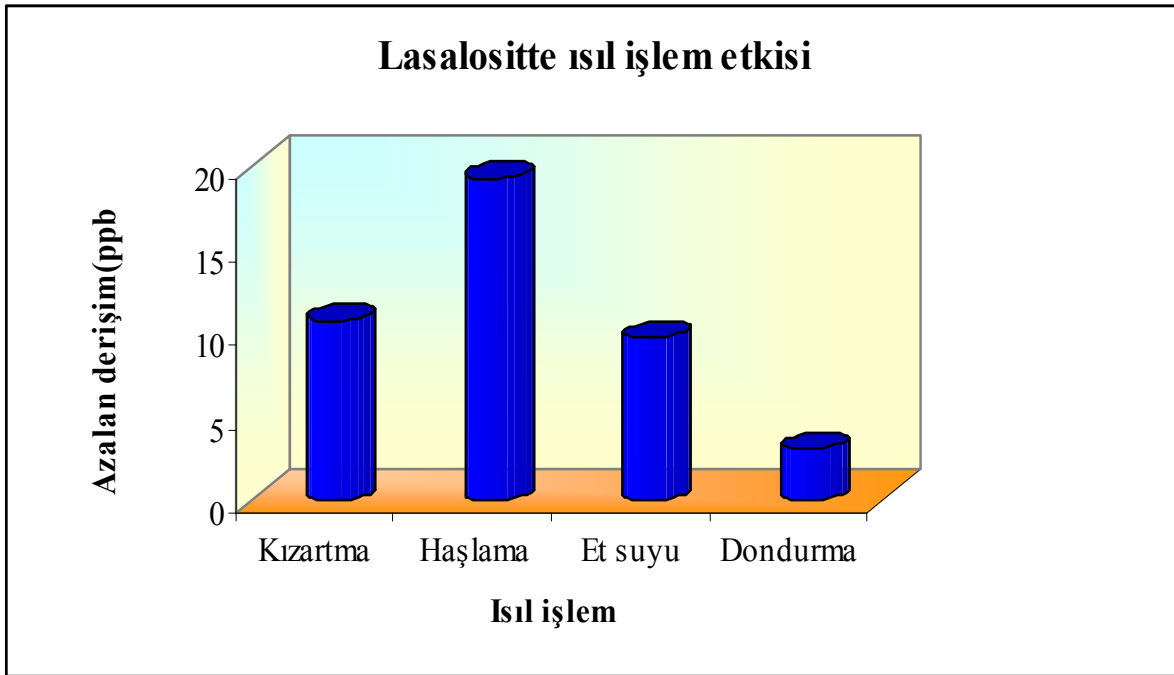
Şekil 1. Karaciğerde lasalositin zamana bağlı değişim konsantrasyonu

Figure 1. Lasalosit time-dependent concentration change in the liver



Şekil 2. Dokuda lasalositin zamana bağlı değişim konsantrasyonu

Şekil 2. Lasalosit time-dependent change in tissue concentration



Şekil 3. Isıl (kızartma, haşlama ve dondurma) işlemlerin Lasalosit kalıntı düzeyleri üzerine etkisi

Şekil 3. The effect of heat treatment on Lasalosit residue levels (fried,boiled and frozen)

Lasalosit içeren doku üzerine ısıtma işlemi uygulanması şeklinde şu ana kadar herhangi bir literatüre rastlamamıza karşın bir başka iyonofor olan narasin üzerine yapılan çalışma ile başkaca sülfadimetoksin, sülfakinoksalin, sülfadoksin ve sülfadiazin üzerine yapılan çalışmalarla da uyumlu olduğu, hassasiyet, tesbit limiti, özgünlük bakımından gözlem ve verilerin çok daha anlamlı olduğu görülmüştür (Baydan et.al., 1998, Dehai et.al. 1996, Rokka et.al., 2005).

İyonofor antikoksidiyallerden lasalosit içeren doku üzerinde ısıtma işlemi uygulanarak ısı

karşısındaki davranışlarına ilişkin benzer bir çalışmada Rokka'nın bir başka iyonofor olan narasin üzerinde yapmış olduğu çalışmaya paralellik arz etmiştir. Buna karşılık doku degradasyonuna ilişkin sonuçlar hem moleküllerin farklılığı hemde analiz metodunun farklılığına bağlı olarak değişim göstermiştir. Metod farklılığı ile beraber benzer sonuçlar ısıtma işlemlerinin iyonoforları belli düzeylerde yıkımladığı ve termo-labil olan iyonoforların etkilenmelerinin düşük ısıdan ziyade yüksek ısıda daha fazla olduğu müşahade edilmiştir.

Tablo 5. Lasalosit spike edilen dokuların kızartma, haşlama ve dondurma sonrası doku kalıntı miktarları

Table 5. Lasalocid spiked tissue residue levels (fried, boiled, frozen)

Lasalosit spike edilen dokularda kızartma sonrası düzeyler			
No	Konsantrasyon (µg/kg)	Tespit (µg/kg)	
1	100	73,487	
2	100	106,89	
3	100	89,798	
4	100	86,696	
5	100	81,752	
6	100	78,663	
7	100	90,504	
8	100	93,251	
9	100	83,545	
10	100	90,41	
	Ort. %	87,4996	
	Ort. %	87,5	
	Recovery %	98	
	Reel kzt. Doku mikt.	89,2857	
	Kayıp	10,7143	
Lasalosit spike dokuların haşlama sonrası kalıntı düzeyleri			
No.	Konsantrasyon (µg/kg)	Tespit (µg/kg)	Et suyu (µg/kg)
1	100	85,42	8,456
2	100	73,25	12,083
3	100	77,7	9,592
4	100	79,87	8,884
5	100	81,04	8,065
6	100	78,66	10,24
7	100	80,69	9,298
8	100	81,36	7,063
9	100	77,25	11,107
10	100	76,42	10,255
	Ort.	79,166	9,5043
	Reel ort. Doku	80,78163	9,698265
	Ort. Haşl. Et %	80,78	Et suyu % 9,7
	Recovery %	98	
	Reel haşl. Et dokuda kayıp	19,22	
	Et suyuna geçen %	9,7	

Table 5. Devamı		
Lasalosit spike dokuların -20°C de kalıntı düzeyleri		
No	Konsantrasyon (µg/kg)	Tespit(µg/kg)
1	100	95.212
2	100	99.812
3	100	93.693
4	100	93.628
5	100	92.928
6	100	96.780
7	100	97.743
8	100	94.155
9	100	87.644
10	100	98.988
	Ortalama %	95.058
	Ort. %	95
	Recovery %	98
	Reel değer %	96,93877551
	Reel kayıp %	3,06122449
	Ortalama	5.0 %
	Dondurma testinde kayıp %	3.06 %
	Normal dokularda Recovery: %	98.0%

Kayıp oranının lasalosit için kızartmada, kaynatma ette, -20°C'de dondurmada sırasıyla 10.71, 19.26, 3.06 ppb miktarlarında olduğu görülmüştür. Bu veriler ile şu ana kadar karboksilik iyonoforlardan lasalositin ısıtma işlemi karşısındaki tepkisinin miktar ve oranı ilk defa net ve ölçütlü ortaya konulmuştur. Kızartma işleminde dokudaki su kaybından dolayı ağırlık azalmasına bağlı olarak rezidüel değerler yüksek çıkması değerlendirme esnasında doku üzerinden işlem yapılarak olası bir karışıklığa neden olunmadığı gibi amacımız olan sosyal yemek kültürü şeklinde işleme esnasındaki kayıplar hedeflendiğinden amaç dışına da çıkılmamıştır.

Sonuç

Besleyici değeri, ucuz maliyeti ve yüksek tüketimi göz önüne alındığında broiler etlerinde önemli bir risk faktörü olan Lasalosit kalıntılarının izlenmesinin büyük önem taşıdığı ve Lasalosit kalıntısının ısıtma işlemlere son derece hassas olduğu görülmüştür. AB otoritelerince yürütülen kalıntı aktivite araştırmalarının karar noktalarının farklı bağımsız ve ciddi anlamda belirleyici araştırmalar sonucu ortaya konulduğu bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada elde edilen değerler itibarıyla tutarlılık ve hassasiyet olarak daha iyi sonuçlara ulaşılmış olmasının önemli bir gelişme olduğu düşünülmekte dahası bu durumun üzerinde çalışılan ana-

litik cihazların yeni ve yüksek hassasiyet değerlerine ulaşabilmesi, stabilitesini muhafaza edebilmesi bir diğer ifadeyle sistematığın farklı tarihlerde ve farklı uygulayıcı kişilerce kullanılmasında birbirine yakın sonuçlar alınabilmesi olarak da değerlendirilmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma doktora tezinden özetlenmiş olup çalışmaya İstanbul Üniversitesi BAP birimi tarafından Proje No: 1224 ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Baydan, E., Akkaya R., Traş. B., Bilgili A., Tanyıldızı S., Filazi A., Yarsan E. Özdemir. M. (1998): Etlik piliçlerde kullanılan çeşitli veteriner ilaçlarının kalıntıları üzerine pişirme, dondurma ve benzeri işlemlerin etkilerinin araştırılması: 1-Sülfonamid grubu bazı antibakteriyellerin incelenmesi, 2-Kinolon grubu bazı antibakteriyellerin incelenmesi. TAGEM HS/98/16/02.
- Baydan, E., Özdemir, M. Kanbur, M. (2001): Kanatlı dokularındaki sülfadiazin kalıntıları üzerine pişirme, dondurma ve benzeri işlemlerin etkileri, *Çiftlik Dergisi*, 203: 81-90.
- Bishop, Y.M. (1996): The veterinary formulary: Handbook of Medicines Used in Veterinary

- Practice, 5th ed., Royal Pharmaceutical Society of Great Britain and British Veterinary Association, London, pp.176-178.
- Bories, G., Brantom, P., Barberà, J.B., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Debski, B., Dierick, N., Franklin, A., Gropp, J., Halle, I., Hogstrand, C., Knecht, J., Leng, L., Haldorsen, A.K.L., Mantovani, A., Mézes, M., Nebbia, C., Rambeck, W., Rychen, G., Wright, A., Wester, P. (2007): Safety of Kokcisan 120G as a feed additive for chickens for fattening. Updated scientific opinion of the panel on additives and products or substances used in animal feed. European Food Safety Authority. *The EFSA Journal*, 547: 1-10.
- Dehai, X., Grizzle, J.M., Rogers, W.A., Santerre, C.R. (1996): Effect of cooking on residues of ormetoprim and sulfadimethoxine in the muscle of channel catfish. *Food Research International*, 29(3-4): 339-344.
- Dubois, M.G., Pierret, D. (2004): Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 813(1-2): 181-189.
- Ebrahimezhad, Y. (2005): Effects of ionophorous drugs, salinomycin and lasalocid, on the performance of broiler chicks and the relationship of these drugs to supplementary methionin. *Journal of Poultry Science*, 4(11): 911-916.
- EFSA, (2004): Opinion of the scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the re-evaluation of coccidiostat Sacox120® micro Granulate in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. *The EFSA Journal*, 76: 1-49.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/76.pdf>
- EFSA (2004): Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the reevaluation of coccidiostat Avatec in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. *The EFSA Journal*, 53: 1-44.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/53.pdf>
- EFSA (2004): Update of an opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the re-evaluation of coccidiostat Avatec in accordance with article 9G of council directive 70/524/EEC, *The EFSA Journal*, 77: 1-45.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/77.pdf>
- EFSA (2006): Update of the opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on a request from the European Commission related to the safety and efficiency of ‘Kokcisan 120G’ The *EFSA Journal*, 378: 1-12.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/378.pdf>
- 12-EFSA, (2007): Cross-contamination of non-target feedingstuffs by lasalocid authorised for use as a feed additive Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. European Food Safety Authority, *The EFSA Journal*, 553: 1-46.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/553.pdf>
- Elliot, C.T., Kennedy, D.G., McCaughey, W.J. (1998): Methods for the detection of polyether ionophore residues in poultry. *Veterinary Science Division*, 123: 45-56.
- EMEA (1999): Commission Directive 1997/76/EC. Annex. Determination of lasalocid sodium. 23 July 1999.
- EMEA (2004): Lasalocid Sodium. Summary Report of the Committee for Veterinary Medicinal Products. Summary Report. EMEA/MRL/912/04-Final, Oct.2004.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014596.pdf
- Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB), Gıda kontrol Genel Müdürlüğü (GKGM) (2007): GTHB Ulusal Kalıntı Kontrol Planı.
http://www.veterinerx.com/dosyalar/2007_ulusal_kalinti_izleme_plani.pdf

- Jordan, F.T.W. (1990): Poultry disease. Bailliere Tindal, Oval road London/England. ISBN 0-7020-1339-0/24-28.
- Kennedy, D.G., Hughes, P.J., Blanchflower, W.J. (1998): Ionophore residues in eggs in Northern Ireland: incidence and cause. *Food Additives & Contaminants*, 15(5): 535-541.
- Kennedy, D.G., Hughes, P.J., Blanchflower, W.J., (1996): The incidence and cause of lasalocid residues in eggs in Northern Ireland. *Food Additives & Contaminants*, 13(7): 787-794.
- Matabudul, D.K., Lumley, I.D., Points J.S. (2002): The determination of 5 anticoccidial drugs (nicarbazin, lasalocid, monensin, salinomycin and narasin) in animal livers and eggs by liquid chromatography linked with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). *Analyst*. 127(6): 760-768.
- McDouglas, L.R., Seibert, B.P. (1998): Residual activity of veteriner drugs in chickens after withdrawal of medicated feed. *Veterinary Parasitology*, 74: 91-99.
- McEvoy, J.D.G. (2002): Contamination of animal feedingstuffs as cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. *Analytica Chimica Acta*, 473: 3-26.
- Mortier, L., Daeseleire, E., Peteghem, C.V. (2004): Liquid chromatographic tandem mass spectrometric determination of five coccidiostats in poultry eggs and feed. *Journal of Chromatography B*, 820: 261-270.
- Mortier L, Huet, A.C., Charlier, C., Daeseleire, E., Delahaut, P., Van Peteghem, C. (2005): Incidence of residues of nine anticoccidials in eggs. *Food Additives & Contaminants*, 22(11): 1120-1125.
- Oehme, F.W., Pickrell, J.A. (1999): An analysis of the chronic oral toxicity of polyether ionophore antibiotics in animals. *Veterinary and Human Toxicology*, 41(4): 251-257.
- Pareman, B., Pirak, M., Smith, B. (1993): Effect on the accidental feeding lasalocid sodium to broiler breeder chickens. *Veterinary Record*, 132(11): 271-273.
- Regulation (EC), (2003): European Parliament and the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition E.C.No: 1831/2003/E-JC.
- Resmi Gazete (2005): GTHB, Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler İle Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik. Resmi Gazete: 19.01.2005, No: 25705.
- Resmi Gazete (2007): Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı(GTHB). Yem Katkı ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ. Yetki Kanunu: 1734, Yayımlandığı Resmi Gazete: 03.05.2007, sayı: 26511, Tebliğ No 2007/9.
- Resmi Gazete (2007): Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ. Tebliğ No: 2007/17, Resmi Gazete 09.03.2007, Sayı: 26457.
- Rokka, M., Eerola, S., Perttila, U., Rossow, L., Venalainen, E., Valkonen, E., Valaja, J., Peltonen, K. (2005): The residue levels of narasin in eggs of laying hens fed with unmedicated and medicated feed. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(1):38-42.
- Rokka, M., Peltonen, K. (2006): Simultaneous determination of four coccidiostats in eggs and broiler meat: validation of an LC-MS/MS method. *Food Additives & Contaminants*, 23: 470-478.
- Rosen, J. (2001): Efficient and sensitive screening and confirmation of residues of selected polyether ionophore antibiotics in liver and eggs by Liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analyst*, 126(11): 1990-1995.
- Şanlı, Y., Akar, F., Bilgili, A.,(1993): Et tipi piliçlerde althığı ıslatma sendromuna yol açan katılımcı etmenler üzerinde araştırmalar. Uluslararası Tavukçuluk Kongresi, 13-14 Mayıs 1993, İstanbul Bilimsel Tavukçuluk Derneği Yayınları, s. 376-389.