

J Food Health Sci

Vol. 1 Issue 3 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**

© 2015 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. Herbert W. Ockerman

Ohio State University, Department of Animal and Food Sciences, USA

Prof. Dr. Ayşe Emel ÖNAL,
University of Istanbul, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Public Health, Turkey

Prof. Dr. Peter RASPOR
University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Institute for Food, Nutrition and Health, Slovenia

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

Dr. Rene' E SCOTT
Texas Woman's University, Nutrition and Food Science, Visiting Professor, USA

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: J Food Health Sci

© 2015 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

Vol. 1 Issue 3 Page 109-165 (2015)

Table of Contents/İçerik

1. **ET KURUTMA TEKNOLOJİSİ VE DÜNYADA TÜKETİLEN BAZI KURUTULMUŞ ET ÜRÜNLERİ (Meat Drying Technology and Some Dried Meat Products Consumed In the World)**

Sena Özbay Doğu, Cemalettin Sarıçoban

pp. 109-123

DOI: 10.3153/JFHS15011

2. **FARKLI KETEN TÜR VE ÇEŞİTLERİNİN BESİN BİLEŞENLERİ, YAĞ ASİTLERİ VE MİNERAL İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI (Comparison of Proximate, Fatty Acids and Element Composition of Different Varieties (Cultivars) and Species of Flax Seeds)**

Abdullah Öksüz, Nadire Pelin Bahadırılı, Mehmet Uğur Yıldırım,
Ercüment Osman Sarıhan

pp. 124-134

DOI: 10.3153/JFHS15012

3. **THE EFFECT OF PICKLING ON TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 10 VEGETABLES**

F. Kübra Sayın, S. Burçin Alkan

pp. 135-141

DOI: 10.3153/JFHS15013

4. **FISH OILS AND HUMAN HEALTH**

Eda Özer Andız, Mustafa Ünlüsayın

pp. 142-149

DOI: 10.3153/JFHS15014

5. EVALUATION OF BIOGENIC AMINE DEVELOPMENT OF ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus*) MUSCLE COMPARED TO ITS QUALITY CHANGES AT DIFFERENT CHILLING CONDITIONS

Serkan Koral, Sevim Köse

pp. 150-165

DOI: 10.3153/JFHS15015

ET KURUTMA TEKNOLOJİSİ VE DÜNYADA TÜKETİLEN BAZI KURUTULMUŞ ET ÜRÜNLERİ

Sena ÖZBAY DOĞU¹, Cemalettin SARIÇOBAN²

¹Aksaray Üniversitesi Tuz Gölü Su ve Çevre Uygulama ve Araştırma Merkezi, Aksaray, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 42075 Konya, Türkiye

Received: 10.03.2015

Accepted: 01.04.2015

Published online: 02.04.2015

Corresponding author:

Sena ÖZBAY DOĞU, Aksaray Üniversitesi Tuz Gölü Su ve Çevre Uygulama ve Araştırma Merkezi, Aksaray, Türkiye

E-mail: sena_ozbay@hotmail.com

Öz:

Kurutma, gıdaları muhafaza etmek için kullanılan en eski metotlardan birisidir. Çiğ etin raf ömrünün kısa olması ve soğuk zincirde depolanması zorunluluğu, etin kurutulmasına yönelmenin temel sebebinin oluşturmaktadır. Ayrıca tüketiciler, lezzetli, aroması gelişmiş ve uzun ömürlü et ürünlerini üreticilerden talep etmektedir. Bu faktörler ile kurutma sürecinin ekonomik avantajları bir arada değerlendirildiğinde, kurutulmuş et ürünleri hem üretici hem de tüketici için iyi bir seçenek olabilmektedir. Kurutulmuş et ürünleri, farklı bölgelerde çok farklı şekillerde üretilmektedir. Etin elde edildiği hayvan, etin kesim metodu, ete uygulanan ön işlemler (kürleme, tütsüleme vb.), kurutma metodu ve ete eklenen ingrediyenler, kurutulmuş et ürünlerinin farklılığına sebep olmaktadır. Bu bağlamda dünyanın birçok bölgesinde geniş bir ölçekte yer alan pek çok farklı geleneksel kurutulmuş et ürünü bulunmaktadır. Bu ürünlerin bazıları tüketime hazır olarak tüketilirken, bazıları ise çeşitli ön işlemlere (kızartma, rehidrate etme vb.) tabi tutularak tüketilebilmektedir. Ayrıca bölgeye has baharatlar kullanılması da farklı ürünlerin elde edilmesinde önemli bir anahtar olmaktadır. Bu tip ürünler, yerel halk tarafından doğal yollarla (güneşte) küçük ölçekli, ev tipi olarak veya endüstriyel tipte (fırınlar veya kurutma odaları) büyük miktarlarda üretilmekte ve bazıları uluslararası gıda pazarında satışa sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler:

Et kurutma, Geleneksel kurutulmuş et ürünleri, Gıda kurutma

Abstract:

Meat Drying Technology and Some Dried Meat Products Consumed In the World

Drying is one of the oldest methods used to preserve food. The main reasons of dried meat trends are short shelf life of raw meat and its storage requirements in the cold chain. In addition, consumers demand meat products that delicious, aromatic and shelf stable from the manufacturer. When these factors and economic advantages of drying process are considered together, dried meat products can be a good option for parties (producers and consumers). Dried meat products are produced in many different ways in different regions. Diversity of dried meat products is affected by several factors such as animal, meat cutting method, pre-treatments applied to meat (curing, smoking, etc.), drying method and ingredients added to meat. In this context, there are many different traditional dried meat products located on a large scale in many parts of the World. Some of these products are beaten directly because of they are ready for consumption, while others can be consumed with various pre-treatment (roast or to rehydrate etc.). Furthermore, the use of unique spices is an important key to obtain different products. These products are produced by the local people in small-scale (as household) and with a natural way (in the sun) or they are produced with industrial type (ovens or drying chambers) in large quantities. And some of them are offered for sale in the global world food market.

Keywords:

Meat drying, Traditional dried meat products, Food drying

Giriş

Et, besleyici değeri ve sağlıklı bir diyetin parçası olması açısından önemli bir gıda grubunu oluşturmaktadır. Et, yüksek biyolojik değerli proteinin, B grubu vitaminlerin ve minerallerin de önemli bir kaynağı olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda et ürünlerinin tüketimi, sağlık açısından da fayda sağlamaktadır. Ancak et, yüksek su aktivitesi sebebi ile bozulmaya elverişli bir gıda maddesidir. Ayrıca etin uzun süre depolanarak tüketilebilmesi büyük önem taşımaktadır.

Etin korunması ve yeni ürüne işlenebilmesi için hızlı, basit, ucuz, sağlıklı ve tekrarlanabilir yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Et kurutulması özellikle eski çağlarda tüm bu olumlu etkileri ve uygulanabilir olması açısından geliştirilmiş ve bu işlem günümüze kadar gelmiştir. Özellikle sıcak iklim bölgelerinde ya da gelişmekte olan ülkelerde et muhafazası ile ilgili sorunların yaşanması ve bunu gerçekleştirmek için oluşan yüksek maliyetler, et kurutulmasının hâlâ geçerli bir et muhafaza yöntemi olmasını sağlamaktadır.

Kurutma ile aynı zamanda, etin hacmi küçültmekte, bu durum, taşıma ve depolama sürecini kolaylaştırıp bu süreçlerin maliyetini minimize etmektedir. Ayrıca, soğuk zincir gerektirmeyen kurutulmuş et ürünleri, uzun süreli taşıma ve depolama şartlarına dayanarak dünya ticaretinde pazarlanmaya uygun olmaktadır. Eti muhafaza etmesinin yanı sıra, etin kurutulması ile geliştirilen yeni ürünler, farklı ürünlere (hazır çorba vb.) bir katkı olarak katılarak da önem taşımaktadır.

Etin su miktarının düşmesi, tuzlama ve kürlenme gibi ön işlemlerle sinerjistik bir etki oluşturmakta ve bunun sonucunda kurutulmuş et ürünleri, mikrobiyal olarak güvenli et ürünleri olarak değerlendirilmektedir.

Dünyanın farklı bölgelerinde farklı hayvanların etleri kullanılarak ve farklı işlemler uygulanarak çok çeşitli kurutulmuş et ürünleri elde edilmektedir. Ayrıca bu ürünler hem et menşei hem de işlenme tarzı ve bölgesel talepler ile şekillenerek bir coğrafi işaret gibi o bölgelerin kültürünü yansıtmakta ve bölge ekonomilerine katkı sağlamaktadır.

Yapılan bu çalışma ile et kurutma teknolojisi ile ülkemizde ve dünyada tüketilen farklı geleneksel kurutulmuş et ürünlerinin yapılışı ve bu ürünlerin taşıdığı özellikler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Gıdalarda Kurutma Teknolojisi

Gıda koruma metodlarının en eskilerinden biri olan gıdaların kurutulması eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Gıdaların kurutulmasının, özellikle sıcak iklime sahip bölgelerde, gıdanın uzun süre depolanabilmesi için uygulanan en eski ve kolay gıda muhafaza yöntemlerinden birisi olduğu bilinmektedir. Günümüzde dahi soğutma ekipmanlarının kısıtlı olduğu ve soğuk zincirin sağlanamadığı bölgelerde, kurutma iyi bir gıda muhafaza alternatifi olarak karşımıza çıkmaktadır. Sıcak iklime sahip bölgelerde yapılan güneşte kurutma ile de maliyeti düşük bir kurutma işlemi gerçekleştirilmektedir. Ayrıca etin kurutulması ile elde edilen et ürünleri, özel bir tekstür, aroma ve lezzete sahip oldukları için tüketiciler tarafından da yeni bir ürün olarak tercih edilmektedir.

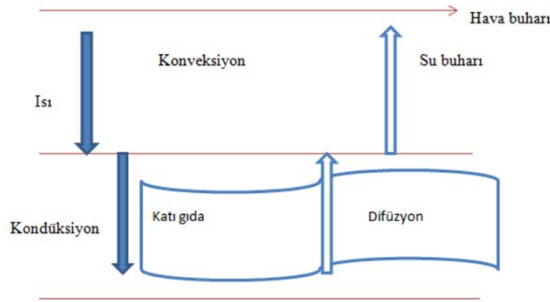
Kurutmanın temel amacı, ürünün raf ömrünü uzatmak veya yeni bir ürün elde edebilmektir. Bu bağlamda gıda endüstrisinde üretilen ürünlerin çoğunluğu, kurutulmuş ya da orta nemli gıdalardan oluşmaktadır. Çünkü böylelikle gıdanın raf ömrü arttırılabilmektedir. Tanım olarak kurutma, maddeden buharlaşma, süblimleşme ya da osmotik bir işlemle suyun hareket etme süreci olarak tanımlanmaktadır (Lewicki ve ark., 2014). Gıda endüstrisinde kurutma ise ham, işlenmiş ya da yarı işlenmiş katı, sıvı, yarı sıvı gıdaların yapılarındaki su oranının azaltılarak belirli düzeylere düşürülmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır (Saldamlı ve Saldamlı, 2000). Nemin gıdadan hızla uzaklaştırılması, mikrobiyal gelişim açısından önem taşımaktadır. Bu anlamda gıdalarda tuzlama ve kurutma yöntemleri ile gıdayı korumak, ideal bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Bennani ve ark., 2000).

Et gibi katı gıdaların kurutulmasında, gıdadaki mevcut su etrafa doğru buharlaşmaya başlamaktadır. Bu aşamada iki temel süreç gerçekleşmektedir;

- Enerji transferi
- Katının yüzeyine doğru su transferi

Katı gıdalarda suyun transferi ise iki adımda gerçekleşmektedir. Birinci aşama, suyun katının yüzeyine doğru taşınması, ikinci aşama ise suyun, katının yüzeyinden çevreye doğru buharlaşmasıdır. Şekil 1.'de katı gıdaların kurutulması sürecinde oluşan ısı ve kütle transferi gösterilmektedir. Katıların kurutulmasında ısı transferi süreci konvektif ve kondüktif şekilde gerçekleşmektedir. Bu bağlamda transfer iki farklı dirençle karşılaşmaktadır. Kondüktif ısı transferine direnç, genelde

konvektif ısı transferine dirençten daha büyük olmakta ve büyük oranda gıdanın su içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Su aktivitesinin düşmesi ile kondüktif ısı transferine karşı direnç de artmaktadır. Bu bağlamda katı gıdaların kurutulmasında, kurutmanın son aşamaları, başlangıç aşamalarından zor olmaktadır (Lewicki ve ark., 2014). Havanın sıcaklık derecesi, nemi, akış yönü ve hızı, yüzey alanı, ortamın basıncı ve ürünün kendine has özellikleri (şekil ve büyüklük) kurutma sürecini etkileyen faktörlerdir (Saldamlı ve Saldamlı, 2000; Lewicki ve ark., 2014).



Şekil 1. Katı gıdanın kurutulmasında ısı ve kütle transferi (Lewicki ve ark., 2014)

Figure 1. Heat and mass transfer during solid food drying (Lewicki ve ark., 2014)

Gıdaların kurutulması ev tipi geleneksel üretimlerle, doğal yollarla güneş altında yapılırken, büyük ölçekli kurutulmalarda kurutucular ve kurutma odaları kullanılmaktadır. Bu şekilde üretim hızlı ve yüksek miktarlarda ürün verirken aynı zamanda açık havanın dezavantajları olan iklim koşulları değişkenliği (yağmur, rüzgâr vb.), mikrobiyal ve çevresel kontaminasyon (mikroorganizmalar, sinek, toz vb.) sorunlarını da bertaraf etmektedir. Endüstriyel tip pek çok kurutucu bulunmaktadır. Bunlar aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

1. Sıcak havalı (konveksiyon) kurutucular
 - a) Fırın kurutucular
 - b) Kabin (dolap) kurutucular
 - c) Tünel kurutucular
 - d) Bantlı kurutucular
 - e) Sandık kurutucular
 - f) Püskürtmeli kurutucular
2. Valsli (kondüksiyon) kurutucular
3. Vakum kurutucular
4. Dondurarak kurutucular (freze-driers)
5. Mikrodalgalı kurutucular (Saldamlı ve Saldamlı, 2000).

Kurutma ile gıdaların raf ömrü uzamakta, ağırlık kaybından dolayı taşınması kolaylaşmakta, depolama ve taşıma maliyetleri minimize edilmektedir. Ayrıca ürünün mikrobiyal kontaminasyon riski de azalmaktadır (Karabacak ve ark., 2014). Katı gıdaların kurutulması, pek çok faktörden etkilenen zor bir süreç olmakla birlikte, çeşitli ön işlemlerin uygulanması ile suyun katıdan daha rahat uzaklaştırılması ve buna bağlı olarak da katının daha hızlı kurutulması sağlanabilmektedir. Katı gıdaların kurutulmasında uygulanan ön işlemler, kıyım, ısıtma veya dondurma şeklinde sıralanabilmektedir (Lewicki ve ark., 2014).

Et Kurutma Teknolojisi

Eti korumak için tuzlamak ve kurutmak yüzyıllar öncesinde soğutma için buzdolapları yokken, özellikle sıcaklığın yüksek olduğu bölgelerde kullanılmaya başlanmıştır (Bennani ve ark., 2000). Günümüzde etin raf ömrünü uzatmak için modern metotlar bulunmaktadır. Ancak hava sıcaklığının yüksek olduğu tropikal bölgelerde ve gelişmekte olan ülkelerde bu ekipmanları yaygın kullanmak maliyeti artırmaktadır. Böylece kurutulmuş et ürünleri hâlâ önemini sürdürmektedir (Jones ve ark., 2001; Heinz ve Hautzinger, 2007). Ayrıca kurutulmuş et, bir aroma ingrediyesi olarak yenilmeye hazır çorba, bebek mamaları veya evcil hayvan yemleri gibi farklı gıdalarda kullanımıyla da önem taşımaktadır (Karabacak ve ark., 2014). Kurutulmuş et ürünleri günümüzde tüm dünyada hem diyetin bir parçası olarak hem de farklı ve yeni gıda ürünlerinin bir aroma ingrediyesi olarak önemini sürdürmekte, yeni ürün geliştirme çalışmalarında alternatif bir kullanım alanı doğurmaktadır.

Et, besleyici değerinden dolayı sağlıklı bir diyetin önemli bir parçası olmakta ve bu bağlamda dünyada birçok toplumda farklı şekillerde tüketilmektedir. Bunun yanı sıra çiğ etin raf ömrünün kısa olması ve soğuk zincirde depolanması zorunluluğu karşımıza çıkmaktadır. Heinz ve Hautzinger (2007)'a göre ise tüketiciler lezzetli, aroması gelişmiş ve uzun ömürlü et ürünlerini üreticilerden talep etmektedir. Bu faktörler bir arada değerlendirildiğinde, tüketiciye, kaliteli, sağlıklı, uzun ömürlü ve lezzetli et ürünleri sunmak önem taşımakta, kurutulmuş et ürünleri de bu faktörler çerçevesinde iyi alternatifler olarak kabul edilmektedir.

Et koruma yöntemleri, coğrafyaya bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Örneğin Akdeniz Bölgesi'nde iklimden dolayı et, genelde kurutulmakta

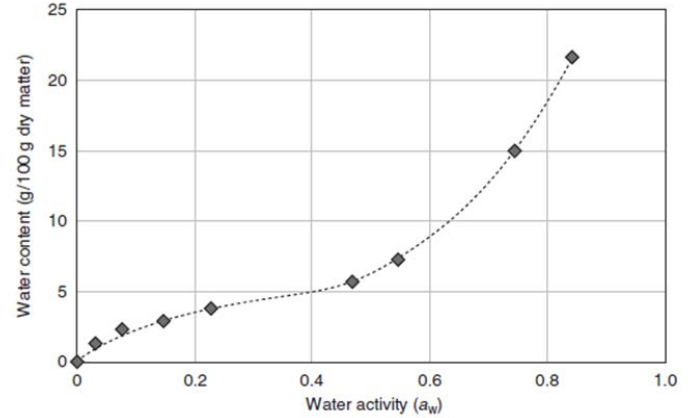
ve bazı durumlarda tütsüleme işlemi de yapılmaktadır. Akdeniz bölgesindeki güneşli günler uzun kurutma süreci için uygun olup etin su aktivitesini (a_w) düşürmeyi kolaylaştırmaktadır. Avrupa'da ise et muhafaza yöntemi olarak tütsüleme ve fermentasyon gibi yöntemler daha sık kullanılmaktadır (Toldra ve Hui, 2015). Ülkemizde ve dünyada tuzlu ve kürlenmiş etin açık havada kurutulması ile elde edilen pek çok kurutulmuş et ürünü bulunmaktadır (Öztaş, 1999).

Terim olarak kurutma, et ve et ürünlerinden suyu uçurulması işlemidir. Mikrobiyal gelişimi durdurmak için gerekli olan düşük a_w bu şekilde elde edilmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007). Türk Gıda Kodeksi (TGK)'i Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre ise kurutma, üretim sırasında ürünün teknolojisi gereği suyunun bir kısmının uzaklaştırılması işlemi olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2012). Et kurutma, hayvan kesimi ile başlayan, bunu takiben trimming, hammadde seçimi, ön işlemlerle devam eden ve uygun kurutma yönteminin seçilip uygulanması ile sona eren karmaşık bir süreç olarak kabul edilmekte, sürecin ilk aşaması olan hayvan seçiminde, orta yaşlı, yağsız ve sağlıklı et, kurutulma işlemi için uygun bir seçim olarak görülmektedir (Anonymous, 1990). Sığır, manda, keçi ile geyik ve antilop gibi av hayvanları kurutulmaya en uygun hayvanlar olmaktadır. Bazı bölgelerde kullanılan Tibet öküzü, koyun ve domuz etinin kurutulması uygun sonuçlar vermemektedir. Yağsız bölgelerden alınan etler bile kas içi yağ dokusu yoğunluğundan dolayı aroma da ransit tada sebep olabilmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007). Et yağının oksidasyonu, kuru etin tipik tadına katkı sağlamakla birlikte aşırı ransit tat tüketiciler için problem oluşturabilmektedir (Anonymous, 1990).

Et kurutulması öncesinde, ürünün raf ömrünü artırmak, aromasını ve tekstürünü geliştirmek amacıyla, tuzlama, kürlenme, fermentasyon, tütsüleme veya marinasyon gibi yöntemler uygulanabilmektedir. Et ürünlerinin a_w 'si uygulanan bu işlemler ve katkı maddelerine bağlı olarak değişmektedir. Etkili a_w düşüren maddelerden birisi tuz (NaCl)'dur ve tuzlayarak kurutma bu bağlamda kurutmanın etkinliğini artırmaktadır (Lewicki ve ark., 2014). Bu tip kurutma, lezzete katkı sağlamakta, aynı zamanda teknolojik ve hijyenik avantajları da beraberinde getirmektedir (Anonymous, 1990).

Kürleme veya tütsüleme ile de etin mikrobiyal, aromatik ve fiziksel özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Kürleme nitritle etin muamele edilmesi

işlemiyken, tütsüleme ise yanan özel ağaç dumanına etin maruz bırakılması işlemidir (Anonymous, 1990). Fermentasyon ise ürünlere hem raf ömrü hem de aroma sağlamaktadır (Heinz ve Hautzinger, 2007). Et çiğ olarak veya dondurulduktan sonra da kurutma sürecine tabi tutulabilmektedir (Greensmith, 1998). Şekil 2.'de kurutulmuş sığır etine ait sorpsiyon izotermi gösterilmektedir.



Şekil 2. Kurutulmuş sığır etinin sorpsiyon izotermi eğrisi (Lewicki ve ark., 2014)

Figure 2. Water sorption isotherm of dried beef (Lewicki ve ark., 2014)

Kurutmada fiziksel olarak etin nem içeriği aşamalı olarak düşmektedir. Etin dip bölgelerindeki su, aşamalı olarak migrasyona uğrayarak etin üst kısımlarına geçer ve oradan da buharlaşarak eti terk eder (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Kurutma boyunca oluşan ağırlık kaybı, aroma gelişimi ve ürünün yumuşaklığı, kurutma ile ilgili önemli kalite faktörlerini oluşturmaktadır (Feiner, 2006). Et kurutulurken et parçalarının birbiri ile temas etmesi istenmemektedir. Böyle bir durum, temas eden bölgelerin uzun süre kurumamasına ve bunun sonucu olarak da mikroorganizmalar ve böcekler için elverişli ortam oluşmasına sebep olmaktadır (Anonymous, 1990). Et kurutulmasında oluşan iç ve dış ısı transferi direnci, kurutulmuş et ürünlerinin kalitesi ve kurutma sürecinin gidişatı açısından büyük önem taşımaktadır. Yüksek dış ısı akışı etkin olarak katının içini etkileyememektedir. Bu durumda katının yüzeyi enerjinin büyük kısmını absorplamaktadır. Bunun bir sonucu olarak yüzeyde su hızla buharlaşmakta ve yüzeyde kuru bir bölge oluşmaktadır. Bu kuru bölgenin su geçirgenliği daha az olduğundan su buharlaşması yavaşlamakta ve kuruma hızı düşmektedir. Bu gibi durumlarda katının yüzeyi kavrulabilmektedir (Lewicki ve ark., 2014).

Daha geniş ölçekli üretimlerde solar kurutma kullanılmaktadır. Bu tip kurutmada et, direkt güneş

ışığına maruz kalmayarak indirekt şekilde solar radyasyona maruz bırakılmaktadır. Solar kurutmada, solar kollektörlerin vasıtasıyla ısıtılan hava ile et kurutulmaktadır. Bu tip kurutmada et, daha kontrollü kapalı ortamlarda bulunduğu için mikrobiyolojik olarak daha güvenilir et ürünleri elde edilmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Kurutma odalarında yapılan kurutmada, odaların ve et parçalarının boyutu gibi faktörler kurutma hızını etkilemektedir (Feiner, 2006). Kalın et parçalarının kurutulması, merkezi nem içeriğinin geç düşmesi ve mikrobiyal gelişime elverişli olması açısından randımanlı olamamaktadır. Bu bağlamda fileto et kurutmak, daha iyi sonuçlar vermektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Etin yavaş ve buna bağlı olarak uzun süreli kurutulması sürecinde fazla proteoliz olması sebebiyle yumuşak ve hamurumsu bir tekstür elde edilebilmektedir. Ancak bu durum bazen ette acımsı metalik bir tat oluşumuna da sebep olmaktadır. Yine bu şekilde kurutulmuş etlerde, yüksek proteaz aktivitesi sonucu oluşan alkali metabolik ürünler pH değerini 6,2'nin üzerine çıkarabilmektedir. Bu durum aroma ve yumuşaklığın değişiminde önemli rol oynamaktadır (Feiner, 2006). Aynı zamanda ette fiziksel değişimler, kısılma, büzüşme ve tekstürde sertleşme de gözlemlenmektedir. Ancak kurutma sürecinde etin tüm besleyici özellikleri ve protein içeriği değişmeden kalmaktadır (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Geleneksel olarak et kurutulması güneş altında doğal yollarla yapılmaktadır. Bu durum bazı doğal tehlikeleri de beraberinde getirmektedir. Toz, rüzgâr, yağmur, böcek, fare ve kuşlardan kaynaklanan kontaminasyonlar başlıca sorunlar olmaktadır. Güneşte kurutma, düşük ölçekli ev tipi üretimler için uygun ve ekonomik olmakla birlikte bahsedilen riskleri içeren bir metot olmaktadır. Doğal yollarla kurutma giderek azalırken, özel iklimlendirme odalarında belli nem ve sıcaklık içeriği ile fazla miktarda ürün veren, endüstriyel tip kurutma işlemi yaygınlaşmaktadır. Çalışmamıza konu olan geleneksel et ürünleri, sıklıkla ev tipi üretimlerle elde edilmektedir. Ancak bu et ürünleri içerisinde endüstriyel boyutta ve kurutma ekipmanları ile üretilen çeşitleri de mevcut olmaktadır. Bu açıdan et kurutma amacı ile kullanılan pek çok farklı kurutucu tipi bulunmaktadır.

Kabin kurutucular sıklıkla kullanılan kurutma ekipmanları arasında yer almaktadır. Kabin içerisine hava fanlar ile sağlanmaktadır. Hat boyunca düzenli hava akışı, ısı ve kütle transferi açısından

pozitif etkiler oluşturmaktadır (Lewicki ve ark., 2014).

Bantlı kurutucularda ise genelde sıcak hava konveksiyon metodu ile yapılmaktadır ve taşıyıcı bant kurutucular bu işlem için kullanılmaktadır (Grensmith, 1998). Bant kurutucular kesilmiş gıdaların küçük parçalarının kurutulması açısından uygun olmaktadır (Lewicki ve ark., 2014).

Kurutulmuş et ürünleri uzun raf ömrü sağlamak için sıklıkla vakum ambalaj ile ambalajlanmaktadır (Engez ve Ergönül, 2009). Kurutulmuş et ürünlerinin paketlenmesinde çok çeşitli materyaller kullanılmaktadır. Kâğıt, plastik veya alüminyum folyo, selefon ve bezler kullanılan ambalaj materyalleridir. Ayrıca depolama sürecinde kurutulmuş et ürünleri en azından ayda bir kez kontrol edilerek duysal veya kalite açısından değişiklikler incelenmeli, ortam sıcaklık ve nem değerleri sürekli takip edilmelidir (Anonymous, 1990).

Kurutulmuş Et Ürünlerinin Özellikleri

Kurutulmuş et ürünleri, farklı bölgelerde çok farklı şekillerde üretilmektedir. Bu farklılıklarla birlikte, et rengi, aroması, mikrobiyolojisi ve kalitesi açısından her ürünün taşınması gereken genel özellikler bulunmaktadır.

Kurutulmuş et ürünlerinin duysal özellikleri büyük önem taşımaktadır. Aroma ve renk gibi duysal özellikler, et kalitesi, etin mikrobiyolojik yükü ve ete uygulanan işlemler açısından ipuçları vermektedir.

Duysal olarak kurutulmuş ette lezzet ve aroma en önemli kriterlerdendir. Kurutulmuş ette kötü koku olmamalıdır. Kurutulmuş et renginin ise tek tip ve koyu kırmızı olması istenmektedir. Periferik bölgenin koyu renk, merkezin parlak kırmızı olması, etin hızla kurutulduğunun göstergesidir ve bu durum paketleme ve depolama aşamaları boyunca etin mikrobiyolojik bozulmaya yatkın olduğunu göstererek istenmeyen bir durum yaratmaktadır (Anonymous, 1990).

Ham etin yapısal özelliklerinin (yaş, genotip, cinsiyet, post-mortem ve ante-mortem uygulamaları) olduğu kadar işleme teknolojisinin de kas enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi bulunmaktadır (Toldra, 1998). Kasta bulunan özellikle proteolitik ve lipolitik enzimler (Toldra, 1998) ve kas içi lipitler, kurutulmuş et ürünlerinin duysal özelliklerinin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Lipaz enzim aktivitesi ile yağlardan, gliserol ve stearik, linoleik, palmitik ve oleik asit gibi serbest

yağ asitleri, aminopeptitazlardan da serbest aminoasitler meydana gelmektedir (Feiner, 2006). Oluşan bu kimyasal yapılar, etin lezzet ve aromasına katkı sağlamaktadır.

Ayrıca kurutulmuş et ürünlerine ön işlem olarak tuzlamanın yapılma süresi de ette oluşacak serbest aminoasit ve serbest yağ asidi miktarını değiştirmesinden dolayı aroma ve tadı da etkilemektedir (Lorenzo ve ark., 2015). Tuzlama, mikrobiyal gelişimi ve kurutmanın etkinliğini artırması açısından da önem taşımaktadır.

Kurutulmuş et, yapısındaki düşük nem içeriği ve sert tekstürüne rağmen mikrobiyal kontaminasyona açık olabilmektedir. *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Neisseria* sp, *Acinetobacter* sp, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus* sp ve *Penicillium* sp. kurutulmuş bir et ürününden izole edilmiş mikroorganizmalardır (Ajiboye ve ark., 2011). Ayrıca *Salmonella* spp. ve *S. aureus*, hava ile kurutulmuş ürünlerde iki büyük mikrobiyolojik risk olarak görülmektedir (Feiner, 2006). Ancak yapılan bir çalışmada, kuru fermente sosisin yüzeyinde gelişen *Penicillium* spp., üründe istenmeyen mikroorganizmalara karşı koruyucu bir görev yaptığı bildirilmiştir. Aynı zamanda bir antioksidan gibi davranarak kurutma risklerini de minimize etmektedir. Proteinlerin, serbest yağ asitlerinin ve laktik asidin yapısını da bozarak aromanın gelişmesine katkı sağlamaktadır (Ludemann ve ark., 2004). Ancak mikotoksijenik türlerin kuru kürlenmiş et ürünlerinde gelişimi, tüketiciler açısından sağlık riskleri oluşturmaktadır. Bu açıdan fungal türler, kuru kürlenmiş et ürünleri için doğru şekilde tanımlanmalı ve mikotoksijenik etkisi olmayan türler belirlenmelidir. Tuz, nitrit, nitrat, baharat ve fermente ürünlerde starter kültür sayesinde oluşan asitlikle birlikte kurutma işleminin gerçekleştirilmesinin, patojenik bakteri gelişimini inhibe ettiği bilinmektedir (Little ve ark., 1998). Bunlara ek olarak kurutulmuş et ürünlerinde önem taşıyan kritik noktalar şu şekilde sıralanabilmektedir;

- Ürünler düşük mikrobiyal seviyede (her ürün için en fazla 10^2 - 10^4 kob/g) olmalıdır.
- Ürünün pH değeri 5,5-5,8 arasında olmalıdır.
- Donmuş et ile kurutma işlemi yapılacaksa, çözündürme işlemi yapılırken bakteriyel gelişme önlenmelidir.
- Kurutulmuş ürüne işlenecek et seçimi yapılırken, DFD (koyu-sert-kuru) sorunu olan etlerden kaçınılmalıdır.

- Tuzun et içerisine penetrasyonunu artırmak için mümkün olduğunca bağ doku miktarı azaltılmalıdır.
- Nitrit, izin verilen seviyeler doğrultusunda kullanılmalıdır.
- Dilimlenmemiş ürünler vakum altında paketlenmeli ve bu ürünlerin su aktivitesi 0,89 altında olmalıdır.
- Dilimlenmiş ürünlerde ise MAP teknolojisi kullanılmalı, eğer vakum altında ambalajlama yapılmak durumundaysa, 4 °C'nin altında depolama yapılmalıdır (Feiner, 2006).

Ayrıca bu tip ürünlerin üretiminde hijyen uygulamalarına önem verilerek, üretim süreci ve sonrasında, ete kontaminasyonun önlenmesi sağlanmalıdır (Little ve ark., 1998). Kalite sistemleri, hayvan kesiminden, üretim, paketlenme ve depolama aşamaları boyunca uygulanmalıdır. Kurutulmuş et ürünlerinde yağın etten dikkatli bir şekilde ayrılması da önem taşımakta ve ransiditeyi önleyerek kurutulmuş et ürününün raf ömrünü de artırmaktadır.

Dünyada Tüketilen Kurutulmuş Bazı Et Ürünleri

Dünyanın birçok bölgesinde geniş bir ölçekte yer alan pekçok geleneksel kurutulmuş et ürünü bulunmaktadır. Bu ürünler kullanılan hayvan, etin kesim şekli (parça, şerit vb.), ete uygulanan ön işlemler (tütsüleme, kürlenme vb.), kurutma şekli (askı, yığın vb.) gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Bu ürünlerin bazıları tüketime hazır olarak direkt yenebilirken, bazıları ise kızartma veya rehidrate etme gibi ön işlemlere tabi tutularak tüketilebilmektedir. Ayrıca bölgeye has baharatlar ve aromaların kullanılması da farklı ürünlerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Ülkemizde tüketilen "pastırma", Afrika'da "biltong", Brezilya'da "charqui" gibi ürünler, bilinen geleneksel kurutulmuş et ürünleridir. Bu tip ürünler, yerel halk tarafından küçük ölçekli olarak ev tipi doğal yollarla veya endüstriyel tipte büyük miktarlarda üretilmekte ve bazıları dünya gıda pazarında satışa sunulmaktadır.

Kurutma işlemi, bozulmaya yatkın çiğ eti uzun süre soğuk zincir olmaksızın depolamamıza olanak verirken, mikrobiyolojik olarak da güvenli bir gıda üretimini sağlamaktadır. Aynı zamanda bu ürünler, bölgelerin geleneksel tüketim alışkanlıklarını temsil eden birer coğrafi işaret gibi de kabul edilebilmektedir. Bu bağlamda bu ürünlerin dünya

gıda pazarında çevrimleri, kültürel alışverişi sağlaması, boyut olarak küçük olması, bozulmaya dayanıklı ve soğuk zincir gerektirmemesi gibi avantajları dolayısıyla büyük önem taşımaktadır.

Pastırma

‘‘Pastırma’’ kelimesi Türkçe ‘‘bastırma’’ fiilinden gelmektedir. Pastırma, ülkemize has, kürlenmiş, kurutulmuş, baskıya alınıp çemenle kaplanan geleneksel bir et ürünüdür (Kilic, 2009). Sonbahar ayları, pastırma üretiminde düşük sıcaklık ve nemden, ayrıca sinek olmayışı gibi sebeplerden dolayı uygun zamanlardır (Burfoot ve ark., 2010). Pastırma, Orta Doğu ülkelerinde de yapılmaktadır. Bu bölgelerde pastırma yapımında deve veya koyun eti kullanıldığı da bilinmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Karkasın yaklaşık %40-45’lik bir bölümü pastırma olarak işlenebilmektedir (Öztan, 1999). Farklı kaslarla, farklı pastırma çeşitleri elde edilebilmektedir. Bu farklılıkla elde edilebilen 26 farklı çeşit pastırma bulunmaktadır (Akköse ve Aktaş, 2014).

Sığır eti, kesimden sonra oda sıcaklığında 10-12 saat, soğuk depoda ise 8-10 saat arasında bekletilmektedir. Bu süreçte rigor mortis sonlanmakta ve etler yumuşamaktadır. Bundan dolayı tuz ve katkıların ete penetrasyonu artmaktadır (Öztan, 1999). Sonrasında bu etler, 500-600 mm uzunlukta ve 50 mm’yi geçmeyecek çapta kesilmektedir. Parçalar potasyum nitrat içeren tuz ile kaplanmakta ve bu aşamada tuzun ete penetrasyonunu artırmak amacıyla et yüzeyinde yarıklar açılmaktadır. Sonrasında parçalar 1 m yüksekliğinde yığınlar haline getirilerek oda sıcaklığında bir gün dinlendirilmektedir. Oluşturulan bu yığın, alt üst edilerek süreç tekrarlanmaktadır. Bu sürecin sonunda et yıkanıp, 2-3 gün kurutulmaktadır. Soğuk havalarda bu süreç 15-20 gün sürebilmektedir. Bu kurutma prosesinden sonra parçalar 300 mm yükseklikte yığınlar haline getirilerek, ağırlıklarla birlikte 12 saat baskıya alınmaktadır. Baskı işleminden sonra 2-3 gün daha kurutma işlemi gerçekleştirilip tekrar 12 saatlik baskı işlemine geçilmektedir. Son olarak 5-10 gün arasında süren son kurutma süreci gerçekleştirilir. Daha sonra et yüzeyi

3-5 mm kalınlıkta çemen adı verilen özel bir macunla kaplanır. Bu macunla birlikte yığın 5-12 gün daha kurutulur. İyi havalandırılan durumlarda, 80 kg sığır etinden 50 kg pastırma elde edilebilmektedir. Pastırma son ürün olarak 0.88 a_w ’ye sahip ve % 30-35 nem ve % 4.5-6.0 tuz içermekte, bu bağlamda pastırma stabil olarak oda sıcaklığında 9 ay süreyle saklanabilmektedir (Anonymous, 1990; Gök ve ark., 2008; Burfoot ve ark., 2010).

Kuru kürlenme aşamasında, her kg et için 50 g kürlenme karışımı kullanılmaktadır (Gök ve ark., 2008). Kürlenme karışımında, NaCl, NaNO₂, sakaroz ve glikoz bulunmaktadır. Bu süreç etin büyüklüğüne bağlı olarak 5 güne kadar sürebilmektedir. Bu aşama, suyun etten kolay ayrılmasını sağlamaktadır. Kürlenme aşamasında tuz miktarı arttıkça etin su içeriği ve a_w ’si düşmektedir. Ayrıca kürlenme sıcaklığı, et üzerine açılan yarıklar, pastırma üretim süreci ve konsantrasyon gibi faktörler de tuz – su dengesini etkilemektedir (Akköse ve Aktaş, 2014). Tuzla birlikte a_w düşer, mikrobiyolojik stabilite ve kas proteinlerinin çözünürlüğü artar, böylece tuz, hem ürün güvenliğine, hem tekstür oluşumuna, hem de aromaya katkı sağlamaktadır.

Türk Gıda Kodeks (TGK)’inde çemenleme, pastırma üretiminde; buy otu tohumu unu, toz kırmızıbiber ve sarımsak karışımının tuz ve su ile karıştırılıp koyu hamur haline getirildikten sonra ürünün dış yüzeyinin kaplanması işlemi olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2012). Pastırma üretiminde kullanılan çemen ve sarımsağın patojen gelişimini inhibe ettiği bildirilmektedir. Bu durum çemende bulunan ingrediyenlerin sinerjistik etkisinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca çemende boya bulunmaması, kokuşma, kurtlanma ve küf oluşumu görülmemelidir (Öztan, 1999). Pastırmanın sahip olduğu özellikler Tablo 1.’de gösterilmektedir.

Pastırmada bulunan yağ asitleri, palmitik, stearik, oleik, linoleik şeklinde sıralanmaktadır ve yağ asitleri kompozisyonundaki değişimin büyük bir kısmı, kurutma aşamasında gerçekleşmektedir (Aksu ve Kaya, 2002). Pastırmanın MAP (modifiye atmosferde paketlenme) teknolojisi ile paketlenmesi et rengini ve ürünün kalitesini korumak için tavsiye edilmektedir (Gök ve ark., 2008)

Tablo: 1. Kurutulmuş et ürünlerinin bazı özellikleri**Table 1.** Some properties of dried meat products

Ürünler	Nem (%)	Protein (%)	Yağ (%)	Kül (%)	Tuz (%)	a _w	pH	Sodyum nitrit (ppm)	Kaynaklar
Pastırma	30-35	52.41	2.36	6.70	4.5-6	0.88	5.75-6.10	150	Anonymous, 1990; Nizamlioğlu ve ark., 1998; Öztan, 1999; Aktaş ve Gürses, 2005; Anonim, 2012
Charqui	46.4	26.3	2.5	23.3	10-20	0.75	5.75		Youssef ve ark., 2003; Youssef ve ark., 2007; Salvá ve ark., 2012
Biltong	20-30	65	1.9	12.5	3-8	0.7-0.75	5.6-5.9		Lewis ve ark., 1957; Bender, 1992; Burfoot ve ark., 2010
Kilishi	10.00	60.33	14.24	8.78	9.8	0.59	5.81		Jones ve ark., 2001; Ogunsola ve Omojola, 2008; Olusola ve ark., 2012
Kaddid	10.38				10.21	0.54	5.32		Bennani ve ark., 1995
Jerky	55	64		18.3		0.78	5.76	50	Pinto ve ark., 2002; Konieczny ve ark., 2007; Yang ve ark., 2009)

Charqui

“Charqui” veya “Charque”, Brezilyada tüketilen tuzlanıp kurutulmuş elde edilen geleneksel bir et ürünüdür (Pinto ve ark., 2002). Geleneksel charqui yapımı, kuru kürlenmiş bacon yapımı ile benzerlikler göstermektedir. Sığır eti kesilip parçalanmaktadır. Bu parçalar oda sıcaklığında bir saat askıya alındıktan sonra, bir saat salamuraya ve arkasından kuru tuza batırılmaktadır. Elde edilen etler, 1-1.5 m yüksekliğinde yığınlar halinde dizilerek tuzla kaplı halde bir gece bekletilmektedir. Bu aşamada yığınlar, günlük olarak alt üst edilmektedir. Bu alt üst etme işlemi ile yığın dört gün bekletilmekte ve sonunda yığın tekrar tuz ile kaplanmaktadır. Beşinci gün kurutma işlemine başlanmaktadır. Etler askılara alınarak ve 1-2 saati geçmeyecek şekilde güneşe maruz bırakılmaktadır. Bu süreci takiben askıdan alınan etler tekrardan yaklaşık 1 m yüksekliğinde yığınlar haline getirilerek bir muşamba altında 2-3 gün daha bekletilir ve bu aşamada etin kürlenmesi gerçekleşir.

Etin ağırlığı %40 azalana kadar (ortalama 5-7 kez) bu şekilde kürlenme işlemine devam edilmektedir (Burfoot ve ark., 2010). Tablo 1.’de “Charqui”nin özellikleri gösterilmektedir.

Bir lama türü olan alpakadan (*Vicugna pacos*), tuzlama ve güneşte kurutma işlemleri uygulanarak elde edilen “andean charqui” olarak isimlendirilen geleneksel bir et ürünü de bulunmaktadır. Bu geleneksel et ürünü, Peru, Bolivya, Arjantin ve Şili’de sıklıkla tüketilmektedir (Salvá ve ark., 2012).

“Carne-de-sol” de yine Brezilya’nın kuzey doğusunda geniş ölçüde tüketilen “güneşin eti” anlamına gelen, kurutulmuş bir et ürünüdür. Carne-de-sol yapımında genellikle sığır ve keçi eti kullanılmaktadır, ancak raf ömrü oda sıcaklığında 3-4 gün ile sınırlı olmaktadır (Anonymous, 2013).

Biltong

“Biltong” kelimesinin kökeni, bil (hayvan butu) ve tong (şerit) anlamlarını taşımaktadır. Bu ürünün Afrika’da yüzyıllar öncesinde özellikle göçebe insanlar tarafından tüketildiği bilinmektedir (Lewis ve ark., 1957).

Biltong yapımında karkastaki tüm kaslar kullanılabilirlikle birlikte geniş olan kaslar, biltong üretimine en uygun olanlar olarak görülmekte (Burfoot ve ark., 2010) ve et kesimi fibril boyunca yapılmaktadır (Lewis ve ark., 1957).

Biltong yapımı, etin 1-2 cm kalınlığında uzun şeritler halinde kesilmesi ile başlamaktadır. Sonrasında bu etler, salamura veya kuru tuzla muamele edilmektedir. Genelde iri tuz veya tuz-biber karışımı (her 50 kg et için 1-2 kg tuz) bu işlem için kullanılmaktadır. Ayrıca aromayı artırmak için şeker, kişniş, anason, sarımsak ve baharat, renk için nitrit ve nitrat, koruyucu olarak da potasyum sorbat (%0.1) eklenmektedir. Biltong için etler bu şekilde 12 saati geçmeyecek süre boyunca kürlenmektedir. Bu aşamadan sonra kürlenmiş et parçaları, su ve sirke (10:1) içeren karışıma daldırılmakta ve güneşte kurutulmaktadır. Uygun hava şartları altında kurutma 1-2 hafta civarında sürebilmektedir (Anonymous, 1990).

Biltong kürlenme işlemi gerçekleştirilirken temel girdi tuz olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte çeşitli baharatlar da kullanılmaktadır. En basit şekliyle, tuz, karabiber ve esmer şeker kullanılarak biltong kürlenmektedir. Bunlara ilaveten sirke ve kişniş eklenmesi veya nitrit, nitrat, pimarisin ve potasyum sorbat gibi koruyucular da eklenebilmektedir (Burfoot ve ark., 2010). Tuzlama işlemi genelde avuç dolusu tuzun ete sürülmesiyle gerçekleşmektedir (Lewis ve ark., 1957). Son ürün olarak biltong, Tablo 1.’de belirtilen kriterleri taşımaktadır. Ayrıca biltong yapımının tüm aşamaları boyunca taşınması gereken karakteristik özellikleri aşağıdaki şekilde sıralanmaktadır;

- Biltong’un et kaynakları, sığır, antilop, devekuşu, fil ve zürafa gibi hayvanlar olabilmekte birlikte temel kaynağı sığır oluşturmaktadır.
- Ürünün sert olmaması için genç hayvanların eti sıklıkla kullanılmaktadır.
- Hem taze hem de çözülmüş et, biltong yapımında kullanılabilirliktedir.
- Özellikle yağsız etler tercih edilmektedir. Böylece oksidasyondan kaynaklanan istenmeyen aroma oluşumu engellenebilmektedir.
- Biltong yapımında kullanılan et, karkasın fileto, kalça ve bonfile gibi bölgelerinden elde

edilmekle birlikte en çok tercih edilen karkas bölümü, butlar olmaktadır.

- Tuz, karabiber, kişniş, esmer şeker ve sirke sıklıkla kullanılmakla birlikte mevsime ve tüketici tercihlerine bağlı olarak katkıları çeşitlenebilmektedir (Burfoot ve ark., 2010).

Biltong, yemeye hazır bir üründür ve tüketiminden önce herhangi bir rehidrasyona veya ısıtma işlemi gerek görülmemektedir (Lewis ve ark., 1957; Burfoot ve ark., 2010; Petit ve ark., 2014). Bunlara ek olarak 100 g biltong 416 kalori enerji vermektedir (Lewis ve ark., 1957). Mikrobiyolojik olarak pH ve a_w değerlerinden dolayı güvenilir bir gıda olarak değerlendirilmektedir. Ancak tüketicilerin talepleri doğrultusunda üretilen nem oranı yüksek yumuşak biltongda mikrobiyal gelişim gözlemlenmiştir (Mhlambi ve ark., 2010). Bu bağlamda son ürünün nem içeriği halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Kilishi

“Kilishi”, başta Nijerya’da olmak üzere Afrika’da binlerce yıldır tüketilmektedir (Prabhakaran ve Mendiratta, 2013). Kilishi, kaliteli sığır etinin ince parçalara ayrılarak güneşte kurutulması ve arkasından marine edilmesi, son olarak tekrar kurutulmasıyla elde edilen geleneksel bir et ürünüdür. Tüketiminden önce kızartılmaktadır (Jones ve ark., 2001). Farklı bir çalışmada kilishi yapımında balık eti kullanılmış ve araştırma sonucunda duyuşsal olarak kabul edilemez bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Jega ve ark., 2013). Kilishi yapımında keçi veya kuzu eti kullanıldığı da bilinmektedir (Anonymous, 1990). Kilishi yapımında birçok baharat da kullanılmaktadır. Bunlar, zencefil, karanfil, karabiber, kırmızıbiber, soğan, sarımsak, Afrika muskatı, köri, tuz ve şeker şeklinde sıralanmaktadır (Ogunsola ve Omojola, 2008). Tablo 1.’de kilishinin özellikleri gösterilmektedir

Kilishi, yüksek oranda protein ve mineral madde kaynağı olarak da bildirilmektedir (Prabhakaran ve Mendiratta, 2013). Ayrıca geleneksel yöntemler dışında, fırında kurutma ile kurutma süresinin düştüğü ve bu şekilde kurutmanın ürünün kimyasal kompozisyonu ve tekstürü üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Egbunike ve Okubanjo, 1999). Bu bağlamda kilishi üretiminde fırında kurutma büyük ölçekli üretimlerde zaman tasarrufu ve hijyen sağlayabilmektedir.

Kilishi paketlemesinde düşük yoğunluklu plastik paketler kullanılmakta ve bu paketlerin ürünü stabil şekilde oda sıcaklığında 1 yıl boyunca korunduğu bilinmektedir (Anonymous, 1990).

Cecina

‘‘Cecina’’, sıklıkla İspanya ve Meksika’da tüketilen, tuzlanmış, tütsülenmiş ve kurutulmuş ortanem içeriğine sahip bir et ürünüdür (Lorenzo, 2014). Tuz (NaCl) cecina yapımında en önemli girdi olarak kabul edilmektedir. Tuz, su bağlama kapasitesi, a_w ’yi düşürmesi, mikrobiyal aktiviteyi azaltması ve bazı proteinlerin çözünürlüğünü artırması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu durum üründe lipoliz, proteoliz, lipid oksidasyonu gibi bazı kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonları da oluşturarak ürünün aroma ve tekstürüne de katkıda bulunmaktadır (Lorenzo ve ark., 2015). Lipoliz cecinada meydana gelen en önemli reaksiyon olarak kabul edilmekte ve ayrıca proteolizin bir sonucu olarak kurutma aşamasında pH değeri keskin bir artış göstermektedir (Lorenzo, 2014). Cecina’nın tay etinden üretildiği de bildirilmektedir (Lorenzo ve ark., 2015).

Kaddid

‘‘Kaddid’’ Afrika ve Güney Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilen, geleneksel, kurutulmuş, tuzlanmış bir et ürünüdür (Bennani ve ark., 1995). Özellikle Tunus’ta yerel halk tarafından çok tercih edilmektedir (Zaier ve ark., 2011).

Kaddid geleneksel olarak salamura veya kuru tuzlama, baharatlama ve güneşte kurutma ile elde edilmektedir. Geleneksel kaddid üretimi sığır etinden de yapılmakla birlikte (Zaier ve ark., 2011) koyun veya kuzu da tercih edilmektedir. Hayvan kesimini takiben rigor mortis sürecinden sonra et, iki gün süreyle oda sıcaklığında olgunlaştırılmaktadır. Bu işlemden sonra et kemiklerinden ayrılarak uzun parçalar halinde kesilmektedir. Sonrasında et, kuru tuz, kimyon ve sarımsak içeren karışımla, tuzlanıp baharatlanmaktadır. Bunu takiben bir olgunlaştırma aşaması gelmekte ve bu aşama, 8-10 saat arasında sürmektedir. Daha sonra tuzlanmış et, geleneksel olarak güneş altında kurumaya bırakılmaktadır. Bu süreç 7-10 gün arasında sürebilmektedir (Bennani ve ark., 1995). Baharatlama sürecinde etin su içeriği düşmekte ve mikrobiyal flora da bu durumdan etkilenmektedir. Baharatlama aynı zamanda ürünün kuruma oranını artırmakta ve son ürünün daha düşük neme sahip olmasını sağlamaktadır (Chabbouh ve ark., 2013). Buna ek olarak salamura konsantrasyonu ve tuzlama metodu da etin su kaybını, NaCl miktarını ve rehidrate olma durumunu etkilemektedir

(Chabbouh ve ark., 2012). Kaddid’in özelliklerinin ortalama değerleri Tablo 1.’de gösterilmektedir.

Kaddid, hemen hemen bir yıl boyunca oda sıcaklığında depolanabilmektedir (Chabbouh ve ark., 2011). Geleneksel olarak güneşte kurutulmuş kaddid dışında endüstriyel olarak kontrollü üretim de yaygın olarak yapılmaktadır. Endüstriyel tip konveksiyonel kurutmanın kaddidin pH ve a_w değerlerini fark edilir ölçüde etkilemediği, ancak mikrobiyal olarak daha güvenli kaddid üretimini sağladığı, buna bağlı olarak da depolama sürecinde daha iyi mikrobiyal güvenlik sağladığı bildirilmektedir (Zaier ve ark., 2011). Ayrıca konveksiyonla kurutmada, kurutma zamanı %33-77.5 arasında bir düşüş göstermektedir (Chabbouh ve ark., 2013). Bu faktörlere ek olarak güneşte kurutulma sürecinde haşere istilası da bir sorun olmaktadır. Bu bağlamda kaddid üretiminde üreticiler, kontrollü ve mekanize sistemlere yönelmektedirler (Chabbouh ve ark., 2011).

Jerky

‘‘Jerky’’ ya da ‘‘jerked beef’’, Kuzey Amerika orijinli, tütsülenmiş, güneşte veya ateş üzerinde kurutulmuş, tütsü aromasına sahip geleneksel bir et ürünü olarak kabul edilmektedir (Burfoot ve ark., 2010). Jerky’nin genel bir üretim teknolojisi bulunmamakla birlikte, ev tipi basit üretimden endüstriyel uygulamalara kadar pek çok çeşidi bulunmaktadır (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Jerky yapımı için kullanılan et, genelde sığırdan elde edilmektedir. Ancak bizon, geyik, antilop ve hindi eti de jerky yapımında kullanılmaktadır (Heinz ve Hautzinger, 2007). Bunlara ek olarak kümes hayvanları veya av etinden ayrıca timsah etinden de jerky üretimi yapılmaktadır. Kullanılan etin elde edildiği hayvan, ince veya kalın şeritli kesilmesi ve marinasyon tekniklerindeki farklılıklar (ingrediyenler, hacim, zaman, sıcaklık vb.) farklı jerky çeşitlerinin oluşmasına sebep olmaktadır (Burfoot ve ark., 2010).

Yapımında, et, öncelikle 0,5 cm kalınlıktan fazla olmayan 1-2 cm genişliğinde 15-20 cm boyunda parçalara ayrılmaktadır. Bu aşamada etin, tamamen yağdan ayrılması önem taşımaktadır. Daha sonra et, tuz, soya sosu, karabiber, taze sarımsak veya soğan ve kırmızıbiber ilavesi ile ovularak 12 saat boyunca marine edilmektedir. Sonrasında kütleme aşaması gelmektedir. Kütleme, tuz, şeker ve bazen renk için sodyum nitrit ilave edilmesi ile yapılmaktadır. Sonrasında et, kaynayan suda yü-

zeyi beyazlaşmaya kadar (1-2 dakika) bekletilmektedir. Bundan sonra et terbiye edilerek kurutulma işlemi gerçekleştirilir. Etin terbiyesi için kırmızıbiber, kekik, güvey otu, reyhan kullanılmaktadır. Kurutma, güneşte, solar kurutma, fırınlarda veya kurutma odalarında olabilmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007).

Jerky de biltong gibi herhangi bir ön işlem gerektirmeksizin yemeye hazır bir et ürünü olarak atıştırmalık bir gıda gibi tüketilmektedir (Petit ve ark., 2014). Ancak jerky'nin biltong'dan daha yüksek sıcaklıklarda kurutulması, onu biltong'dan ayırmaktadır (Burfoot ve ark., 2010). Tablo 1.'de Jerky'nin özellikleri gösterilmektedir. Ayrıca bu ürün vakum ambalaj ile paketlenmelidir (Pinto ve ark., 2002).

Kurutulmuş Diğer Et Ürünleri

Farklı kültürlerde çok daha farklı geleneksel ürünlerin üretilip tüketildiği bilinmektedir. Bu başlık altında daha az yaygınlıkla tüketilen kurutulmuş et ürünlerine de değinilmektedir. Tasajo, pemmican, nikku, qwanta, coppa, odka, kundi vb. ürünler incelenmektedir.

“**Tasajo**”, charquinin Küba'da üretilen bir versiyonu olarak pek çok Güney Amerika ülkesinde de tüketilen tuzlu, geleneksel bir üründür. Tasajo geleneksel olarak, etin tuzlanması ve güneşte kurutulması ile elde edilmektedir. Bu önemli proses en az üç hafta sürmektedir (Chenoll ve ark., 2007).

Çin sosisi olarak bilinen “**lap cheong**”, kış aylarındaki düşük sıcaklıktan faydalanılarak üretilmektedir. Genelde domuz eti ve yağından elde edilmekle birlikte bazen bölgesel farklılıklar gözlemlenmektedir. Domuz etine, soya sosu, alkollü içecekler, şeker ve baharat ilave edilip iplerde asıya alınması ve etin bu şekilde kurutulması ile elde edilmektedir. Tüketilmeden önce pişirilmektedir. Raf ömrünü uzatmak için yağ içinde soğukta depolamak kullanılan bir yöntem olmaktadır. Domuz eti yerine ördek ciğeri kullanılarak aynı işlemlerle üretilen bir diğer ürün de “**aap gon cheong**”dur. Bu ürün, ördek ciğerinin lap cheong gibi marine edilip kurutulması ile elde edilmektedir (Toldra ve Hui, 2015).

“**Pemmican**” ise Amerika yerlileri orijinli, geleneksel bir et ürünüdür. Etin kurutulması, sonrasında yağ ilave edilerek depolanması temeline dayanmaktadır. Depolama esnasında hava geçirmez şekilde tutulması yağların okside olmaması ve mikrobiyal gelişimin önlenmesi açısından pemmican üretiminde kritik bir öneme sahiptir. Pem-

micana, kuru meyvelerin eklenmesi ile aroma verilmesi de mümkün olabilmektedir (Burfoot ve ark., 2010).

Gam (altın) ngan (gümüş) cheong (sosis) farklı ve özel bir üretim süreci ile elde edilen, Uzak Doğu'da tüketilen geleneksel kurutulmuş bir et ürünüdür. Domuz yağı parçalarının ince bir domuz ciğerine sarılarak, tuz ve şekerle marine edilip doğal yollarla kurutulması ile elde edilen bir üründür (Toldra ve Hui, 2015).

“**Nikku**” ise özellikle Eskimolar tarafından tüketilen, çiğ veya kısmen pişmiş av etlerinden elde edilen, kurutulmuş bir et ürünüdür. Sıklıkla ren geyiği eti ile yapılmaktadır. Geyik eti parçalanarak kuruyana kadar güneşte bekletilmektedir. Fok etinden yapıldığı da bilinmektedir (Burfoot ve ark., 2010).

“**Goon Chiang**” da Uzak Doğu'da tüketilen özel bir kurutulmuş et ürünüdür. Domuz etinin nitritle marine edilip 24 saat dolapta dinlendirilmesini takiben domuzla doldurulması ve bunun 60°C'de kurutulması temeline dayanmaktadır. Bu ürün tüketilmeden önce pişirilmektedir (Toldra ve Hui, 2015).

“**Qwanta**” ise, Etiyopya ve diğer Doğu Afrika ülkelerinde tüketilen, geleneksel kurutulmuş et ürünüdür. Yağsız sığır eti, uzun şeritler halinde kesilerek (20-40 cm) 24-36 saat arasında kurumaya bırakılmaktadır. Sonra bu parçalar, %25 tuz, %25 aroma maddeleri ve %50 oranında acı biber içeren bir sosla kaplanmakta ve bu halde et parçaları hava ile kurutulmaktadır. Son kurutma işlemi sonrasında hafif tütsüleme veya kızartma işlemi gerçekleştirilmekte ve et bu haliyle herhangi bir ön işlem gerektirmeksizin tüketilebilmektedir (Anonymous, 1990).

“**Coppa**”, İtalya'da tüketilen kurutulmuş bir İtalyan salamıdır. Domuz etinin 7-10 gün tuzlanıp, 2-4 hafta kurutulması ile elde edilmektedir (Toldra ve Hui, 2015).

“**Dendeng**”, ince dilimlenmiş et veya kıymaya, Hindistan cevizi, şeker, tuz ve baharat karıştırılarak güneşte veya kurutucularda kurutulması ile elde edilen Endonezya'da tüketilen orta nem içeriğine sahip geleneksel kurutulmuş bir et ürünüdür. Yapımında sığır, kanatlı, domuz veya balık etleri kullanılabilir (Sarıçoban ve Aybek, 2009).

“**Odka**” da Somali ve diğer Doğu Afrika ülkelerinde tüketilen kurutulmuş bir et ürünüdür. Somali'de göçebeler için önemli olan bu geleneksel

ürün, yağsız sığır etinin kuru tuz ile muamele edilip, bu parçaların 4-6 saat güneşte kurutulduktan sonra ufak parçalara ayrılarak kızartılması ve bu işlemleri takiben tekrar kurutulması ve baharatlanması süreçleri sonucunda elde edilmektedir. Ürünün raf ömrü 12 aydan fazla olabilmektedir (Anonymous, 1990).

Sri Lanka'da üretilen bir tip sosis ise domuz eti ve yağının marine edilip tütsülenmesi ve 30 °C'de bir kaç saat kurutulması ile elde edilen, tüketiminden önce pişirilmesi gereken geleneksel bir üründür (Toldra ve Hui, 2015).

“**Kundi**”, Nijerya'da deve etinden üretilmektedir. Bu süreçte deve eti, küp şeklinde kesilmekte ve arkasından et, 100°C'de 20 dakika haşlanmaktadır. Bu işlemi takiben et, 60°C'deki havayla kurutulmakta ve son olarak 170°C'lik fırında 3 saat daha ısı işlem görmektedir. Deve etinin protein miktarının sığır etinden yüksek, yağ miktarının ise düşük olması, deve etinin kurutulması ve besleyiciliği açısından avantaj sağlamaktadır (Fakolade, 2012).

“**Sou Gan**”, Çinliler tarafından üretilen ve bilinen en az 30 farklı çeşidi bulunan geleneksel bir et ürünüdür. Kullanılan et türü, üretim teknolojisi çeşitliliği ve kullanılan baharatların farklılığına bağlı olarak bu çeşitlilik oluşmaktadır. Aroması, hafifliğinden dolayı taşınmasındaki kolaylık ve buzdolabı olmaksızın depolanabilmesinin yanı sıra, besleyici değeri yüksek bir ürün olarak kabul edilmektedir. Son ürünün a_w değeri, 0,6-0,9 arasındadır (Burfoot ve ark., 2010).

Thai sosisi de (**Sai ua**) domuz etinin Thai macunu (soğan, limon yağı, maydanoz kökü, kulunçotu, zerdeçal, kırmızıbiber, karideste püre edilmiş tuz) ile kaplanıp kurutulması ile elde edilen geleneksel bir et ürünüdür. Tüketiminden önce kızartılmaktadır (Toldra ve Hui, 2015).

Bunlara ek olarak yaygın olarak tüketilen kuru kürlenmiş et ürünleri ve fermente sosisler de özel kurutucularda veya kurutma odalarında kurutularak ürüne dönüştürülmektedir (Lewicki ve ark., 2014).

Sonuç

Et, besleyici değeri ve sağlıklı bir diyetin parçası olması açısından önemli bir gıda grubunu oluşturmaktadır. Etin korunması ve yeni ürüne işlenebilmesi için hızlı, basit, ucuz, sağlıklı ve tekrarlanabilir yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Et kuru-

tulması bu pozitif özellikleri kapsayan, eski çağlardan günümüze kadar uzanan temel bir et muhafaza tekniğidir.

Çalışmamızda bahsedildiği gibi et kurutulmasının olumlu özelliklerine karşılık kurutulmuş et ürünlerinin ev tipi küçük ölçekli üretilmeleri, sağlık sorunlarına sebep olabilmekte, bilinçsiz kişilerce üretilme durumunda halk sağlığı tehlikeye atılabilmektedir. Ayrıca bu geleneksel üretim tipinde, doğal yollarla, güneş altında kurutma, maliyet açısından büyük avantajlar sağlamakla birlikte, yağmur, rüzgâr, toz ve bunlarla birlikte gelen mikrobiyal ve haşere bulaşlarına karşı ürünü korumasız bırakabilmekte, bu durum da tehlikeyi artırmaktadır.

Bu bağlamda bu tip ürünlerin bölgesel üretimleri ile ilgili gerekli yasal düzenlemeler ve yaptırımlar belirlenip uygulanmalıdır. Ürünlerin standartları ve taşınması gereken özellikler belirlenip yasallaştırılmalıdır. Böylece uluslararası et ticaretinde ürün güvenliğinin artması sağlanmalıdır. Bu ürünlerin üretimlerinden tüketimlerine izleme sistemleri oluşturulmalı ve bu geleneksel ürünlerin güvenliği sağlanarak uluslararası gıda pazarına çıkarılmalıdır.

Bu tip ürünlerin endüstriyel ve kontrollü şekillerde üretilmeleri desteklenmeli, ancak ürünün geleneksel yapısını bozmayacak şekilde uygulanan işlemler Ar-Ge çalışmaları ile geliştirilmelidir. Ev tipi üretim süreci ile ilgili olarak da halk bilinçlendirilmeli ve üretim süreci ile ilgili tehlikeler konusunda farkındalık oluşturulmalıdır.

Bu şekilde kurutulmuş et ürünlerinin taşıma ve tüketimde sağladığı kolaylıkla birlikte besleyici değeri göz önüne alınarak askeri uygulamalarda ve özellikle okullarda tüketimleri desteklenmelidir.

Farklı et seçenekleri (balık, tavuk vb.) veya farklı üretim prosesleri ile alternatif, yenilikçi kurutulmuş et ürünleri üretimi desteklenmeli ve bununla ilgili Ar-Ge çalışmaları geliştirilmelidir.

Sonuç olarak kurutma süreci hızlı, ucuz ve basit bir gıda muhafaza yöntemi olmakta ve bu yöntemin ette uygulanması, pek çok çeşitli kurutulmuş ürünün doğmasına sebep olmaktadır. Güvenli şekilde üretilen bu tip ürünlerin tüketimi, sağlık, ekonomi ve ürüne has özellikler (lezzet, dayanıklılık vb.) gibi faktörler açısından tüketiciye faydalar sağlamaktadır.

Kaynaklar

- Ajiboye, E.A., Alhassan, S., Adedayo, R.M., Kolawole, M.O., Oladosu, O.T. (2011): Physicochemical properties and microorganisms isolated from dried meat obtained in Oja- Oba market in Ilorin, Nigeria. *Pelagia Research Library*, 2(4): 391-400.
- Akköse, A., & Aktaş, N. (2014): Curing and diffusion coefficient study in pastırma, a Turkish traditional meat product. *Meat Science*, 96: 311–314.
- Aksu, M., & Kaya, M. (2002): Effect of Commercial Starter Cultures on the Fatty Acid Composition of Pastırma (Turkish Dry Meat Product). *Journal of Food Science*, 67(6): 2342-2345.
- Aktaş, N., & Gürses, A. (2005): Moisture adsorption properties and adsorption isosteric heat of dehydrated slices of Pastırma (Turkish dry meat product). *Meat science*, 71(3), 571-576.
- Anonim. (2012): *Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği Tebliğ No: 2012/74 Sayı: 28488*. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı .
- Anonymous. (1990): Manual on simple methods of meat preservation. *FAO Animal Production and Health Paper 79*. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Anonymous. (2013, Kasım 10): *Carne-de-sol*. Mart 2, 2015 tarihinde Wikipedia The Free Encyclopedia: <http://en.wikipedia.org/wiki/Carne-de-sol> adresinden alındı.
- Bender, A., (1992): Meat and meat products in human nutrition in developing countries. *FAO Food Nutr. Pap.*, 53, Rome. In Temelli, S. (2011): Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Kurutulmuş Et Ürünleri. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*, 30(2): 61-66.
- Bennani, L., Faid, M., & Bouseta, A. (2000): Experimental manufacturing of kaddid, a salted dried meat product: control of the microorganisms. *Eur Food Res Technol*, 211:153–157.
- Bennani, L., Zenati, Y., Faid, M., & Ettayebi, M. (1995): Physico-chemical and microbiological characteristics of a dried salted meat product (Kaddid) in Morocco. *Z Lebensm Unters Forsch*, 201: 528-532.
- Burfoot, D., Everis, L., Mulvey, L., Wood, A., & Betts, R. (2010): *Literature Review on Microbiological Hazards Associated With Biltong and Similar Dried Meat Products*. London: Food Standards Agency (Project Officer: Nicholas Laverty).
- Chabbouh, M., Ahmed, S. B., Farhat, A., Sahli, A., & Bellagha, S. (2012): Studies on the Salting Step of Tunisian Kaddid Meat: Experimental Kinetics, Modeling and Quality. *Food Bioprocess Technol*, 5:1882–1895.
- Chabbouh, M., Hajji, W., Ahmed, S. B., Farhat, A., Bellagha, S., & Sahli, A. (2011): Combined Effects of Osmotic Dehydration and Convective Air Drying on Kaddid Meats: Kinetics and Quality. *Drying Technology*, 29: 1571–1579.
- Chabbouh, M., Sahli, A., & Bellagha, S. (2013): Does the spicing step affect the quality and drying behaviour of traditional kaddid, a Tunisian cured meat? *J Sci Food Agric*, 93: 3634–3641.
- Chenoll, C., Heredia, A., Segui, L., & Fito, P. (2007): Application of the systematic approach to food engineering systems (SAFES) methodology to the salting and drying of a meat product: Tasajo. *Journal of Food Engineering*, 83: 258–266.
- Egbunike, G., & Okubanjo, A. (1999): Effects of processing upon the quality of Nigerian meat products. *Livestock Production Science*, 59: 155–163.
- Engez, S. T., & Ergönül, B. (2009): Kurutulmuş Et Üretiminde HACCP Sisteminin Uygulanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3): 12-19.
- Fakolade, P. O. (2012): Proximate composition of ‘Kundi’, a nigeria meat product from camel meat compared with ‘Kundi’, made from 3 breeds of cattle. *International Journal of AgriScience*, 2(10): 923-927.
- Feiner, G. (2006): *Meat Products Handbook Practical Science and Technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

- Gök, V., Obuz, E., & Akkaya, L. (2008): Effects of packaging method and storage time on the chemical, microbiological, and sensory properties of Turkish pastirma – A dry cured beef product. *Meat Science*, 80: 335–344.
- Greensmith, M. (1998): *Practical Dehydration*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Heinz, G., & Hautzinger, P. (2007): *Meat Processing Technology for Small-To Medium-Scale Producers*. Bangkok: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Jega, I. S., Magawata, I., Ipinjolu, J. K., & Jibir, M. (2013): Evaluation of Slurry Formulations for Kilishi Processing of African Lungfish (Protopterus Annectens, Owen). *Pakistan Journal of Nutrition*, 12(7): 673-677.
- Jones, M. J., Tanya, V. N., Mbofung, C. M., Fonkem, D. N., & Silverside, D. E. (2001): A Microbiological and Nutritional Evaluation of the West African Dried Meat Product, Kilishi. *The Journal of Food Technology in Africa*, 6(4): 126-129.
- Karabacak, M. S., Esin, A., & Cekmecelioglu, D. (2014): Drying Behavior of Meat Samples at Various Fiber Directions and Air Conditions. *Drying Technology*, 32: 695–707.
- Kilic, B. (2009): Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 1581–1589.
- Konieczny, P., Stangierski, J., & Kijowski, J. (2007): Physical and chemical characteristics and acceptability of home style beef jerky. *Meat science*, 76(2), 253-257.
- Lewicki, P., Arboix, J. A., Botó, P. G., Beringues, J. C., & Moreno, I. M. (2014): Drying. M. Dikeman, & C. Devine içinde, *Encyclopedia of Meat Science (Second Edition)* (s. 471-479). London: Elsevier Ltd.
- Lewis, H. E., Masterton, J. P., & Ward, P. G. (1957): The food value of biltong (South African dried meat) and its use on expeditions. *British Journal of Nutrition*, 11(01): 5-12.
- Little, C., H.A. Monsey, G. N., & Louvois, J. D. (1998): The microbiological quality of ready-to-eat dried and fermented meat and meat products. *International Journal of Environmental Health Research*, 8: 277-284.
- Lorenzo, J. M. (2014): Changes on physico-chemical, textural, lipolysis and volatile compounds during the manufacture of dry-cured foal “cecina”. *Meat Science*, 96: 256–263.
- Lorenzo, J. M., Fonseca, S., Gomez, M., & Domínguez, R. (2015): Influence of the salting time on physico-chemical parameters, lipolysis and proteolysis of dry-cured foal “cecina”. *LWT - Food Science and Technology*, 60: 332-338.
- Ludemann, V., Pose, G., Pollio, M. L., & Segura, J. (2004): Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of Penicillium strains isolated from Argentinean salami. *International Journal of Food Microbiology*, 96: 13– 18.
- Mhlambi, S., Naidoo, K., & Lindsay, D. (2010): Enterotoxin-Producing Staphylococcus Strains Associated With South African Biltong at Point of Sale. *Journal of Food Safety*, 30: 307–317.
- Nizamlioglu, M., Doğruer, Y., Gürbüz, Ü., & Kayaardı, S. (1998): Çeşitli Çemen Karışımlarının Pastırma Kalitesine Etkisi I: Kimyasal Ve Duyusal Nitelikler. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 22: 299–308.
- Ogunsola, O. O., & Omojola, A. B. (2008): Qualitative evaluation of Kilishi prepared from beef and pork. *African Journal of Biotechnology*, 7 (11): 1753-1758.
- Olusola, O. O., Okubanjo, A. O., & Omojola, A. B. (2012): Nutritive and Organoleptic Characteristics of Kilishi as Affected by Meat Type and Ingredient Formulation. *Journal of Animal Production Advances*, 2(5), 221-232.
- Öztan, A. (1999): *Et Bilimi ve Teknolojisi*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 19.
- Petit, T., Caro, Y., Petit, A.-S., Santchurn, S. J., & Collignan, A. (2014): Physicochemical and microbiological characteristics of biltong, a traditional salted dried meat of South Africa. *Meat Science*, 96: 1313–1317.
- Pinto, M., Ponsano, E., Franco, B., & Shimokomaki, M. (2002): Charqui meats as fermented meat products: role of bacteria for some sensorial properties development. *Meat Science*, 61: 187–191.

- Prabhakaran, P. P., & Mendiratta, S. K. (2013): Development and Quality Evaluation of a Ready to Eat Meat Snack-Chevon Kilishi. *Progressive Research*, 8(2): 305-308.
- Saldamlı, İ., & Saldamlı, E. (2000): *Gıda Endsütrisi Makinaları*. Ankara: Savaş Yayınevi.
- Salvá, B. K., Fernández-Diez, A., Ramos, D. D., Caro, I., & Mateo, J. (2012): Chemical composition of alpaca (*Vicugna pacos*) charqui. *Food Chemistry*, 130: 329–334.
- Sarıçoban, C., & Aybek, T. (2009): Geleneksel Orta Rutubetli Et Ürünlerinden Endonezya Dendeng. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, (s. 754-757). Van.
- Toldra, F. (1998): Proteolysis and Lipolysis in Flavour Development of Dry-cured Meat Products. *Meat Science*, 49(1): 101-110.
- Toldra, F., & Hui, Y. (2015): Dry-Fermented Sausages and Ripened Meats: An Overview. F. Toldrá, Y. H. Hui, I. Astiasarán, J. G. Sebranek, & R. Talon içinde, *Handbook of Fermented Meat and Poultry* (s. 3-6). Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.
- Yang, H. S., Hwang, Y. H., Joo, S. T., & Park, G. B. (2009): The physicochemical and microbiological characteristics of pork jerky in comparison to beef jerky. *Meat science*, 82(3), 289-294.
- Youssef, E. Y., Garcia, C. E. R., & Shimokomaki, M. (2003): Effect of salt on color and warmed over flavor in charqui meat processing. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(4), 595-600.
- Youssef, E. Y., Garcia, C. E., Yamashita, F., & Shimokomaki, M. (2007): Chemical Basis for Beef Charqui Meat Texture. *Brazilian Archives of Biology and Technology An International Journal*, 50(4): 719-724.
- Zaier, A., Essid, I., Chabbouh, M., Bellagha, S., & Sahli, A. (2011): Physico-Chemical and Microbial Characteristics of Traditional and Industrial Kaddid. *European Drying Conference*. Palma. Balearic Island, Spain.

FARKLI KETEN TÜR VE ÇEŞİTLERİNİN BESİN BİLEŞENLERİ, YAĞ ASİTLERİ VE MİNERAL İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Abdullah ÖKSÜZ¹, Nadire Pelin BAHADIRLI², Mehmet Uğur YILDIRIM³
Ercüment Osman SARIHAN⁴

¹ Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Konya, Türkiye

² Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Tayfur Sökmen Kampüsü, Hatay-Türkiye

³ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Hava Tahminleri Dairesi, Ankara- Türkiye

⁴ Uşak Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Uşak-Türkiye

Received: 10.03.2015

Accepted: 18.04.2015

Published online: 14.05.2015

Corresponding author:

Abdullah ÖKSÜZ, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Büyük İhsaniye Mah. Kazım Karabekir Cad. No: 82, 42040 Selçuklu, Konya, Türkiye
E-mail: aoksuz@konya.edu.tr

Öz:

Farklı keten çeşitlerinin ve türlerinin protein, yağ, yağ asitleri ve mineral içerikleri karşılaştırıldı. Yabani keten türünün, Sarı 85 ve Vera çeşidinden daha az yağ içerdiği belirlenmiştir. Kültür çeşidi olan Sarı 85 ve Vera çeşidinin protein oranı, yabani ketenden daha yüksek bulunmuştur. Nem oranı ise yabani ketende daha yüksek bulunmuştur. Keten tohumlarının hepsinde linolenik asit en fazla oranda bulunan yağ asiti olmuştur. Yağ asitlerinden palmitik, oleik ve linoleik asit keten tohumlarında farklılık gösterirken, linolenik asit en fazla oranla yabani keten türü ve Sarı 85 çeşidinde bulunmuştur. Yağ asitlerinde n3:n6 oranı en fazla Sarı 85 çeşidinde hesaplanmıştır. Makro elementler arasında en bol bulunan sırasıyla potasyum, fosfor, magnezyum ve sodyum olmuştur. Mikro elementler içerisinde ise çinko en yüksek düzeyde var olan element olup yabani ketende ise bariz bir şekilde diğerlerinden daha fazla bulunmuştur. Belirlenen elementler arasında P, Na, Ca, Zn, Ni, Pb elementleri, yabani keten türünü diğer kültür çeşitlerinden ayırt edici özelliğe sahip olmuşlardır.

Anahtar Kelimeler: Keten tohumu, Yağ içeriği, Yağ asitleri, Besin bileşenleri, Mineral içeriği

Abstract:

Comparison of Proximate, Fatty Acids and Element Composition of Different Varieties (Cultivars) and Species of Flax Seeds

Proximate, fatty acid, and mineral composition of different flax species and cultivars were compared. Lipid content of wild flax was much lower than Sarı 85 and Vera cultivars. Protein content of wild flax was also much lower than Sarı 85 and Vera cultivars. However, moisture content of wild flax was much higher than Sarı 85 and Vera. Linolenic acid was the major fatty acid in all flax seeds with a different ratios. Considering the fatty acids, palmitic, oleic and linoleic acids showed significant difference ($P<0.05$) among the flaxseeds samples. Whereas, wild flax species and Sarı 85 cultivar contained the highest level of linoleic acid compare to Vera cultivar. Sarı 85 cultivar had highest n3:n6 ratio with a level of 4.1, and lowest ratio was observed in Vera cultivar. Among the macro elements, K, P, Mg, and Na were predominant elements and Zn was the most abundant element in the microelements, in particular in wild flaxseed sample. The elements such as, P, Na, Ca, Zn, Ni and Pb in wild flaxseed were significantly different from Sarı 85 and Vera cultivars ($P<0.05$).

Keywords: Flaxseed, Fatty acids, Proximate composition, Minerals

Giriş

Linaceae ailesi (familyası) 22 cins (Vromans, 2006) ve ortalama 300 türden (Hickey 1988; Heywood 1993) oluşmaktadır. Ailenin en önemli üyelerinden olan *Linum* cinsinin yaklaşık 230 türü bulunmaktadır (Heywood, 1993).

Linum cinsi daha çok Akdeniz havzası olmak üzere, Amerika'nın güneybatısı ve kuzeyinde, Asya'nın ılıman ve subtropikal bölgelerinde yayılış göstermektedir (Zohary ve ark, 2012). Ancak *Linum* cinsinin asıl yayılış alanının olduğu iki önemli bölgeden birisi Kuzey Amerika Kıtası, diğeri ise Balkan Yarımadası ve Anadolu'dur (Robertson, 1972; Davis, 1967). *Linum*'un Türkiye'de tür, alttür ve varyete düzeyindeki takson sayısı 53'tür ve bunlardan 25'i endemiktir (Güner ve ark., 1996; Yılmaz ve ark., 2003; Yılmaz ve Kaynak, 2006, 2008, 2010).

Ertuğ'un (1998) bildirdiğine göre keten bitkisi M.Ö. 5.000 yıllarından itibaren Irak ve İran'da ekmeçlik buğday ve arpa ile aynı zamanda tarıma alınmıştır. Geçmişte keten bitkisinin tohumlarından elde edilen beziryağı; kandil yağı, ağrı kesici ve öksürük söktürücü olarak önem görmüştür; günümüzde de endüstriyel kullanımıyla önemlidir. Hindistan ve Mısır bölgelerinde elde edilen bulgular ile eski zamanlarda ketenin giysi ve yelken yapımında kullanıldığı belirtilmiştir (Duguid ve ark., 2007).

Halk arasında kırbaş tohumu, siyelek ve zeyrek tohumu olarak da bilinen *Linum usitatissimum* keten, lifi ve tohumundan elde edilen yağı için yetiştirilmektedir. Keten tohumu doymamış yağ asitleri (linoleik ve linolenik asitleri) açısından zengin olmasıyla birlikte lignanlar ve özellikle de *sekoisolarikiresinol diglukosid* açısından da zengin bir besin kaynağıdır. Sahip olduğu bu zengin içerik ile insan beslenmesindeki önemi gün geçtikçe artmaktadır. Ketenin bitki kaynaklı yağ asitlerinden alfa linolenik asit bakımından önemli bir kaynak olduğu belirtilmektedir (Harris ve ark. 2008). Bu durum keten türlerinin ıslah çalışmalarında gen kaynağı olarak değerlendirilmesini artırmıştır.

Keten yağ, protein ve lif açısından zengin bir kaynaktır. Keten yapısal olarak antioksidan olan *sekoisolarikiresinol diglukosid* (SDG) içeren mükemmel bir lignan kaynağı olarak bilinmektedir (Pan ve ark., 2007). Morris ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada Kanada kahverengi keteninde yapılan analizler ketenin ortalama %41 yağ, %20 protein, %28 total lif, %7,7 nem ve %3,4 külden

oluşturduğunu ortaya koymuştur (Morris, 2003). Sağlık açısından en önemli yağ asitlerinin başında omega-3 ve omega-6 yağ asitleri gelmektedir. Omega-3 yağ asitleri Linolenik asit, eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksanoik asit (DHA) 3 farklı gruba ayrılır ve beslenme açısından önemlidir. Bütün bu yağ asitleri kardiyovasküler hastalıkların engellenmesinde, farklı kanser tiplerinin önlenmesinde (meme, kan, kolon, cilt), akıl sağlığıyla ilgili bozuklukların (postpartum, depresyon, manik depresif psikoz, Alzaymır) engellenmesinde etki göstermektedir (Hurteau, 2004, Freemantle ve ark., 2006; Harris ve ark., 2008).

Ketenin yağ içeriği yaklaşık olarak %38-45'dir (Daun ve ark., 2003). Amerikan çeşitlerinde bu oran yaklaşık % 31.9-37.8 (Hettiarachchy ve ark., 1990), Etiyopya çeşitlerinde yaklaşık % 21.9-35.9 (Wakijira ve ark., 2004) ve Kanada çeşitlerinde ise yaklaşık %39.4-45.2 (Canadian Grain Commission, 2009) arasındadır.

Yetiştirilen birçok keten çeşidinin yağ içeriğine göre α -linolenik asidin (ALA) ketende ana bileşen olduğu belirtilmiştir. Yerel çeşitlerde yapılan araştırmalara göre total α -linolenik asit (ALA) Kanada keteninde % 55,7 (Canadian Grain Commission, 2009) ve Türk keteninde %56,5-61,5 (Bozan ve Temelli, 2008) arasında bulunmuştur.

Keten çeşitleri arasında protein içeriği (10-31 %) açısından geniş bir varyasyon olduğu Bhatti & Cherdklatgumchal (1990), Oomah & Mazza (1993) tarafından yapılan çalışmalarda bildirilmiştir.

Yetiştirilen keten çeşitlerinin birçoğu yazlık ve tek yıllık bitki olarak yetiştirilmektedir (Brutch, 2002). Çok düşük vernalizasyon ihtiyacına sahip olan bu ketenler için düşük bahar sıcaklıkları bile aynı dönemde çiçeklenmeleri için yeterlidir. Nadiren bu kışlık ketenler Orta Avrupa'da tohum ve lif için yetiştirilir (Elladi, 1940).

Çalışmada kullanılan ve yabani keten olarak adlandırılan *Linum bienne* Miller, türü tek yıllık, iki yıllık veya kısa ömürlü çok yıllıktır. Kışlık olarak bilinen ketendir. Genel olarak meralar, karışık kumullar, hendekler, kayalık tepe kenarları gibi bölgelerde bulunmaktadır. Endemik olmayan bu keten türü Akdeniz, Kuzey, Batı, Orta, Güney ve Güney Doğu Anadolu, Batı Avrupa, Akdeniz Sahaları, Kafkasya, Suriye Çölü, İran, K. Irak

coğrafi bölgelerinde yetişmektedir (TÜBİVES, flora of Turkey; Davis,1967).

Keten denilince akla ilk olarak *Linum usitatissimum* L. Türü, yani kültüre alınmış, tek veya iki yıllık bitki türü gelir. Bu türün diğer keten türlerinden ayrılan en önemli özelliği kavuzlarının kendiliğinden açılmasıdır. Endemik olmayan bu ketenin ülkemizde doğal olarak yayılışı geniş alanlara sahipken zirai olarak üretimi kısıtlıdır. TÜİK (2015) verilerine göre tohumu için yetiştirilen keten miktarı 2012 yılında 13 ton ve toplam ekili alan ise 180 dekar idi. Ancak, tohumluk keten için 2012 yılından itibaren günümüze kadar ekili alan ve üretim kaydına rastlanmamıştır.

Araştırmamızda, yabani keten ile kültür keteni (Sarı 85 ve Vera) tohumlarındaki yağ, yağ asitleri ve mineral maddeleri içeriklerinin dağılımını ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan keten türlerinden yabani keten (*Linum bienne* Miller) 2013 yılının Haziran ayında Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Sökmen yerleşkesinden (Hatay) hasat edilmiştir. Kültür keteni olarak (*Linum usitatissimum* L.) sarı renkli tohuma sahip, ve Türkiye’de tescilli olan Sarı 85 çeşidi ile Macaristan kökenli kahverengi tohumları olan Vera çeşidi kullanılmıştır.

Keten tohumlarındaki yağın belirlenmesinde Bligh & Dyer yöntemi (1959) ve Soxhlet yöntemi kullanılmıştır. Bligh ve Dyer yöntemine göre elde edilen yağlar yağ asitlerinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Organik çözücü içerisinde alınan yağlar dönerli buharlaştırıcıda vakum altında yaklaşık 40°C de buharlaştırılıp ve geriye kalan yağ 105°C de fırında 30 dakika süre ile kurutmaya tabi tutulmuştur. Daha sonra balonlar tartılarak elde edilen yağlar % olarak ifade edilmiştir. Yağların sıcaklığı oda sıcaklığında olacak şekilde bekletilerek refraktif indeksi ölçümü masa üstü tipi refraktometre ile ölçülmüştür (CETI, BELGIUM). Yağ asitleri metil esterlerin hazırlanmasında 30-40 mg yağ, ağız teflon vida kapaklı cam tüplere tartılarak sıcak metillendirme yöntemi ile yapılmıştır (Morrison ve Smith, 1964). Metillendirme işlemi tartılan yağ üzerine 0.5 N metanolik KOH (1.5 mL) eklendikten sonra 115°C de 7 dak. süre kaynatılmıştır. Soğutulduktan sonra üzerine 2mL %14 lük boron triflorid eklenip 5 dak. tekrar kaynatılmıştır. Soğutulduktan sonra üzerine 2 mL n-heptan eklenerek vorteks ile karıştırılıp metilesterler ekstrakte edilmiştir. Faz ayırımından

sonra üst faz pastör pipet yardımı ile viallere alınıp hemen GC-MS’de analize tabi tutulmuştur. Yağ asitleri metil esterlerin ayrıştırılması ve tanımlanması (Oksüz & Ozyılmaz, 2010) e göre yapılmıştır.

Keten tohumlarının nem içeriğinin belirlenmesi için darası alınmış petri kaplarına 2 gram keten tohumu tartıldıktan sonra cam çubuklar yardımı ile ezilerek üzerine analitik özellikte 5 ml etanol eklenip 105°C de 8 saat süre ile kurutulmuştur. Kuruma işleminden sonra desikatörde tartıldıktan sonra nem kaybı hesaplanmıştır.

Mineral Tayini: Keten tohumlarının mineral içeriği yağ yakma yöntemine göre yapılmıştır. Numunelerin asitle sindirim işlemi mikro dalga destekli yakma sistemine sahip olan MARS 5 cihazı ile yapılmıştır. Ağırlığı kesin olarak kaydedilen, 0.5 g civarında keten tohumları numuneleri asitle önceden yıkanmış vida kapaklı teflon tüplere konulduktan sonra 5 mL yoğunlaştırılmış HNO₃ (Merck %65) ilave edildikten sonra üzerine 2 mL 0.6 M perklorik asit ilave edilerek tüplerin kapakları gevşek bırakılıp bir müddet beklenmiştir. Yoğun asit dumanının çıkışından sonra teflon tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak cihaz içerisine yerleştirilip tedrici bir sıcaklık artış programı uygulanmıştır. Mikrodalga cihazının (CEM MARS EXPRESS) sıcaklığı 175°C kadar artırılarak bu sıcaklıkta 2 saat tutulmuş ve sonra sıcaklık kademeli olarak 250°C ye ulaşıp yakma işlemi tamamlanmıştır. Asitle yakılan numune kül içermeyen filtre kâğıtlarından (Schleicher & Schuell 589/3) süzülerek hacim ultra saf su (iletkenlik 18 Ω) ile 15 mL ye tamamlanmıştır. Aynı yöntemle, mineral tayininde kullanılmak üzere kör numune de hazırlanmıştır. Minerallerin tayini: K, Ca, Na ve Li, için Alev fotometresi (Jenway, UK) diğer elementler için ise MP-AES (Agilent Technology 4100) ve Cetac ASX-520 otomatik numune alım cihazı kullanılmıştır. Her iki cihaz da analiz öncesi belirlenecek olan elementler için farklı konsantrasyonlarda doğrusal kalibrasyon yapıldıktan sonra miktar tayini işlemi gerçekleştirilmiştir.

Karbon, Hidrojen ve Azot Tayini: Keten tohumlarının karbon hidrojen ve azot oranları Thermo Elemental Analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Keten tohumlarından 2-3 mg, cihaza özel kalay kapsüllerinin içerisine yerleştirilerek cihazın otomatik numune alma haznesine yerleştirilmiştir.(Thermo Scientific MAS 200R). Cihazın fırın sıcaklığı 950°C ye ve dedektör sıcaklığı ise 65°C ye ayarlanmıştır. Helyum taşıyıcı gaz olarak kullanılmış

ve akış hızı dakikada 100 mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Sulphanilamide referans standart materyal olarak kullanılarak C, H, ve N için doğrusal bir kalibrasyon elde edilmiştir. N, C, ve H tayini termal iletkenlik detektörü ile belirlenmiştir. Protein oranı, belirlenen azotun miktarının keten için kullanılan 5.41 protein faktörü ile çarpılarak elde edilmiştir (Oomah, Mazza, & Cui, 1994).

Bulgular ve Tartışma

Keten tohumunun besin bileşenleri: Yabani keten türü, Sarı 85 ve Vera çeşidi ketenlerin protein, yağ, nem, karbon, H ve N oranları Tablo 1 de verilmiştir. Keten bitki olarak endüstriyel bir bitki olup, tohumları yağ sanayinde, bitkinin sapları ise lif üretiminde kullanılır. Araştırmamızda, keten bitkisinin insan gıdası açısından önem taşıyan keten tohumunun besin bileşenleri, özellikle yağ içeriği Tablo 1' de ve yağ asitleri kompozisyonu ise Tablo 2' de yer almaktadır. Ayrıca keten tohumunun mikro ve makro element içerikleri ise Tablo 3' te sunulmuştur.

Keten tohumu da pek çok yağlı tohumlar gibi yağ içeriği yüksek bir tohumdur. Keten tohumu çeşidine göre %21 ile %37 civarında yağ içermektedir. Yağ oranı yabani ketende %16 bulunurken, bunu %24.4' lik oranla Vera ve %26.7' lik oranla ise Türkiye'nin tek tescilli keten tohumu olan Sarı 85 çeşidi izlemiştir. Elde edilen yağın rengi keten tohumunun renginin özelliğini göstermiştir. Yağ rengi, yabani ketende yeşilimsi, Vera'da ise kahverengimsi, Sarı 85 te ise altın sarısına yakın bir renkte olduğu gözlemlenmiştir. Tohum rengi, dış kabuktaki pigmentin çokluğu ile birlikte daha da koyu bir renk alır ve bu pigment maddeleri yağ ekstraksiyonu esnasında yağ ile birlikte organik çözücülere geçerek yağın kendine özgü rengini verir.

Keten tohumlarından yağ elde edilmesinde iki yöntem kullanılmış olup, Bligh ve Dyer yöntemi esas alınarak yağ çıkarılma işleminde tekrarlar arasında geniş standart sapma hesaplanmış ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilememiştir. Ancak yöntemdeki metanol/su oranının numunedeki su miktarına uygun bir şekilde uyarlanması ve iyi bir santrifüj işlemi gerçekleştiği takdirde bu yöntemle de keten tohumlarından yağ elde edilmesi mümkün olabilecektir. Bligh ve yöntemi ile elde edilen sonuçlarda da yağ içeriğindeki sıralama Sarı85>Vera>Yabani keten olarak gerçekleşmiştir. Bu yöntemle elde edilen yağlar, yağ asitleri metil esterlerin hazırlanmasında kullanılmış olup, Tablo 1 deki yağ oranı verileri

Soxhlet yöntemine göre elde edilen sonuçlardır. Keten tohumlarının çeşide göre yağ içerikleri istatistiksel olarak birbirlerinden önemli derecede ($p<0.05$) farklı bulunmuştur. Yağların refraktif indeksi keten tohum çeşitlerine göre 1.4765-1.4795 arasında değişmekle birlikte bu değerler arasında önemli bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Refraktif indeks değerlerinin keten yağlarının çeşidine göre ayırt edilmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılması zordur. Çünkü, keten tohumu yağlarının refraktif indeksi bazı yemeklik yağların refraktif indeksleri ile benzerlik göstermektedir. Örneğin aspir yağının refraktif indeksi 1.466, mısır yağının 1.4719-1.4740, zeytin yağının ise 1.4665-1.4679 arasındadır.

Yapılan bir çalışmada 11 çeşit keten çeşidinin verim, protein ve yağ verimleri incelenmiş, Sarı 85 çeşidinin yağ oranı %33.6 ile %31.3 arasında değişmiş, protein oranı ise keten türleri arasında değişiklik göstermiş olup, Sarı 85 çeşidinde %17 olarak bildirilmiştir (Tunçtürk, 2007). Araştırmada bildirilen değerler, yağ verileri ile benzerlik göstermekle birlikte, protein değeri Sarı 85 için çok düşük, yabani keten ile ise benzerlik göstermektedir. Bayrak ve ark. (2010) tarafından 81 keten tohumu genotipinde yapılan araştırmada Sarı 85 çeşidinin yağ içeriği %29.4 olarak belirtilmiştir. Belirtilen değer, bu araştırmadaki bulgulardan biraz yüksektir. Ancak bir önceki araştırmacının yaptığı çalışmada keten tohumlarından çift ekstraksiyon ile elde edildiğinden elde edilen yağda kısmen fazla olmuş olabilir.

Keten tohumunun protein içeriği %18 ile %28.7 civarında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Keten tohumu protein açısından zengin bir gıda olarak görülebilir. Her üç keten tohumunu da protein içeriği istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu ortaya çıkmıştır. En yüksek protein içeriği %27.9' luk bir pay ile Sarı 85 çeşidinde bulunmuştur. Yabani keten ise %16 protein içeriği ile en düşük proteine sahip tür olmuştur. Keten tohumunda ham protein oranının hesaplanmasında, bazı kaynaklarda protein faktörü verilmeden protein oranı verilmiştir. Eğer protein hesaplamasında protein faktörü olarak 5.71 yerine 6.25 kullanılacak olursa sonuçlar olması gerektiğinden yüksek hesap edilmiş olur. Protein hesaplamalarında azot miktarının protein katsayı ile birlikte verilmesi bazı yanlış hesaplamalar ve karşılaştırmaları da önlemiş olacaktır. Keten proteince zengin olmakla birlikte keten proteininde lizin, metiyonin ve sistinin sınırlayıcı amino asitler olduğu bilinmelidir (Ganorkan ve Jain, 2013).

Keten tohumlarının yağ asitleri kompozisyonu incelendiği zaman esas olarak 6 tane yağ asitine rastlanmakta ve bunların 5 tanesi 18 karbonlu doymuş ve doymamış yağ asiti türevleri bir tanesi ise 16 karbonlu doymuş bir yağ asiti olan palmitik asittir.

Bu yağ asitlerin bolluk derecelerine bakıldığı zaman herbir keten tohumunda azdan çoğa doğru sırası ile stearik asit, palmitik asit, linoleik asit (18:2n6; LA) ve LNA' dır. Keten tohumunda en fazla bulunan yağ asitinin α linolenik asit (18:3n3; LNA) olduğu görülmektedir (Tablo 2).

Tablo 1. Farklı Keten tür ve çeşitlerinin tohumlarının besin bileşenleri

Table 1. Proximate composition of flaxseed species and varieties

Bileşenler	Keten Tohumu Çeşitleri		
	Yabani Keten	Sarı 85	Vera
Yağ (%)	20.95±0.25 ^a	35.69±0.54 ^b	34.14±2.7 ^b
Protein (CHNS)	18.38±0.68 ^a	25.70±1.56 ^b	25.19±1.15 ^b
Nem (%)	7.79±0.06 ^a	4.93±0.26 ^b	4.87±0.55 ^b
N	3.39±0.13 ^a	4.75±0.29 ^b	4.65±0.21 ^b
C	54.9±0.15 ^a	56.47±0.84 ^b	55.97±0.45 ^{ab}
H	7.35±0.20 ^a	8.04±0.12 ^b	7.96±0.12 ^b
Refraktif Index	1.4795 ^a	1.4780 ^a	1.4765 ^a

Aynı satırdaki farklı harfler, çeşitler arası istatistiksel farklılığı ifade eder (n=3)

Tablo 2. Keten tohumlarının yağ asiti kompozisyonu

Table 2. Fatty acid composition of flaxseed species and varieties

FAME's	Flaxseed Varieties (Keten Tohum Çeşitleri)				
	Yabani keten	Sarı 85	Vera	RT	RI
C _{16:0}	7.95±0.03 ^c	6.86±0.11 ^a	7.45±0.11 ^b	12.29	2208
C _{18:0}	7.33±0.27 ^b	6.56±0.40 ^a	6.97±0.18 ^{ab}	14.15	2409
C _{18:1n9}	21.59±0.37 ^c	25.04±1.41 ^a	29.52±0.41 ^b	14.36	2436
C _{18:2n6}	15.16±0.17 ^c	11.96±0.08 ^a	15.97±0.06 ^b	14.76	2506
C _{18:3n3}	47.95±0.54 ^b	49.58±1.79 ^b	40.09±0.62 ^a	15.35	2551
SFA	15.29±0.29 ^b	13.41±0.47 ^a	14.42±0.28 ^b		
MUFA	21.59±0.37 ^c	25.04±1.41 ^a	29.52±0.41 ^b		
PUFA	63.11±0.5 ^a	61.54±1.86 ^a	56.06±0.67 ^b		
n-3:n-6	3.2±0.1 ^a	4.1±0.13 ^b	2.5±0.03 ^c		

Aynı satırdaki farklı harfler, çeşitler arası istatistiksel farklılığı (P<0.05) ifade eder (n=3).

Kısaltmalar: RT=Retention time; RI= Retention Index

Çeşit ve türler arası karşılaştırma yapıldığı zaman palmitik asit seviyelerinin her üç keten tohumunda da birbirinden tamamen farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Palmitik asit en düşük Sarı 85 çeşidinde bulunurken en fazla ise %7.95 olarak yabancı ketende bulunmuştur. Stearik asit ise yine en düşük (%6.56) seviyede Sarı 85 te bulunurken, en yüksek seviyede ise %7.33 oranla yabancı ketende bulunmuştur. Vera çeşidi hem yabancı keten ile hem de Sarı 85 çeşidi ile stearik asit içeriği bakımından benzerlik göstermiştir. Sarı 85 ile yabancı keten ise stearik asit içeriği bakımından birbirlerinden farklılık göstermişlerdir. Oleik asit ise en yüksek Vera çeşidinde bulunurken, bunu Sarı 85 ve yabancı keten çeşitleri izlemiştir. Oleik asit bakımından her üç keten çeşidi de birbirlerinde farklılık göstermiştir. Linoleik asit en düşük Sarı 85 çeşidinde gözlemlenirken, bunu yabancı keten ve Vera çeşidi izlemiştir. Her üç çeşitte linoleik asit içeriği bakımından farklılık göstermiştir. Keten tohumlarının en belirgin özelliği olan LNA miktarı en fazla Sarı 85 ve yabancı ketende bulunmuştur (Tablo 1). Vera çeşidi ise diğer iki keten tohumundan daha düşük LNA oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Sarı 85 çeşidinin LNA oranı yabancı keten ile benzerlik göstermiştir. Yağ ekstraksiyon yönteminin yağ asitleri üzerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, Süper Kritik CO₂ yöntemi ile elde edilen yağın Solvent ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağa göre daha fazla LNA içerdiği bildirilmiştir (Bozan & Temelli, 2002).

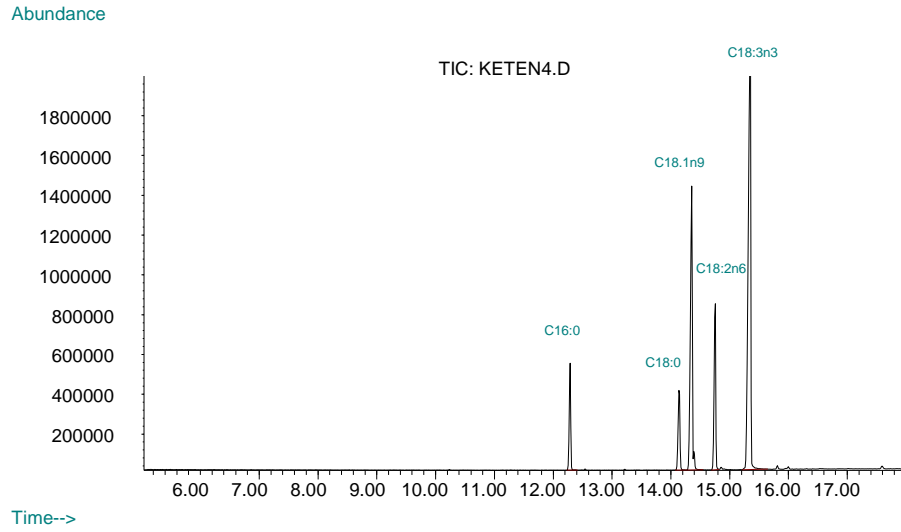
LNA besin açısından önemli bir yağ asiti olup bitkisel kökenli omega 3 yağ asitinin başlıca kaynağıdır. LNA sağlık açısından özellikle omega 3 kaynağını yalnız bitkisel kökenli gıdalardan temin eden vejetaryenler için önemli bir besin kaynağıdır. Hayvansal kökenli omega 3 yağ asitleri kaynaklarının başında balık ve diğer su ürünleri gelmektedir. Balık ve balık yağları LNA yerine daha çok stearedonik asit (18:4n3), EPA (20:5n3) ve DHA (22:6n3) gibi uzun zincirli çoklu doymamış omega 3 yağ asitlerini içerirler.

Keten tohumlarında toplam doymuş yağ asitleri %13 ile %15 arasında değişiklik göstermektedir. Toplam doymuş yağ asitleri bakımından Yabancı keten türü ve Vera çeşidi benzerlik gösterirken, Sarı 85 çeşidi diğerlerinden farklılık göstermektedir. Tekli doymamış yağ asiti olarak yalnız oleik asit olduğundan bu konu yukarıda bahsedilmiştir. Toplam çoklu doymamış yağ asitleri bakımından yabancı ve Sarı 85 çeşidi benzerlik gösterirken, Vera çeşidinde toplam çoklu doymamış yağ asitleri daha düşük seviyede

bulunmuştur. Toplamda ise çoklu doymamış yağ asitleri toplam yağ asitlerinin yaklaşık %60 seviyesinde daha fazla kısmını oluştururken tekli doymamış yağ asitleri %20-%30'luk bir dilimini oluşturmaktadır. Keten tohum çeşitlerinin n3:n6 oranları karşılaştırıldığı zaman bu oranda çeşitler arasında önemli farklılıklar olduğu ($p<0.05$) ortaya çıkmaktadır. En yüksek n3:n6 (4.1) oranı Sarı 85 çeşidinde bulunmuş, bunu 3.2' lik oranla yabancı keten izlemiş ve en düşük oran (2.5) ise Vera çeşidinde bulunmuştur (Tablo 2). Yapılan araştırmalarda ketenlerde LNA oranı ortalama %53 ve %49.4-56.4 aralığında bildirilmiştir (Bayrak et al., 2010; Kiralan et al., 2010). Yağ ekstraksiyon yönteminin, yağ asitleri üzerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, ekstraksiyon yönteminin toplam çoklu doymamış ve tekli doymamış yağ asitleri üzerine etkisinin olmadığı, superkritik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağların doymuş yağ asitlerinin diğer yöntemlere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Khattab & Zeitoun, 2013).

Keten tohumlarının mineral içerikleri Tablo 3'te sunulmuştur. Makro elementlerden miktar olarak en fazla bulunan makro element sırası ile potasyum, fosfor, sodyum, magnezyum ve kalsiyumdur. Keten çeşitleri arasında elementlerin miktarı bakımından farklılıklar bulunmuştur. Keten tohumları potasyum içeriği bakımından birbirlerine benzer özelliklere sahip olup, veriler keten tohumunun zengin bir potasyum kaynağı olduğunu göstermektedir. Fosfor önemli bir makro element olup, Sarı 85 ve Vera çeşidinde en yüksek oranda bulunmuştur. Yabancı ketende ise diğer ketenlere göre fosfor miktarı farklılık göstermiş olup, diğerleri daha düşük bir seviyede bulunmuştur.

Yabancı ketenin sodyum içeriği Sarı 85 ve Vera çeşidinden önemli bir derece farklılık göstermiş olup, diğer ketenlerin ancak yarısı kadar sodyum içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Magnezyum miktarı Vera çeşidinde diğer çeşitlere göre daha az bulunmuştur. Sarı 85 çeşidinin magnezyum içeriği yabancı keten ile benzerlik göstermiş olup Vera çeşidinden daha yüksek bulunmuştur. Kalsiyum miktarı ise Sarı 85 ve Vera çeşidinde düşük olup yabancı ketende ise diğer çeşitlerin kalsiyum miktarının yaklaşık iki katına yakın miktarda belirlenmiştir. Magnezyum vücutta en fazla bulunan dördüncü elementtir. Tavsiye edilen günlük magnezyum miktarı 320 mg'dır. Magnezyum eksikliği depresyon, IQ seviyesinin düşmesine ve bağımlılığa neden olmaktadır (Champagne, 2008).



Şekil 1. Keten tohumu yağ asiti kromatogramı

Figure 1. GC Fatty acid chromatogram of flaxseed

Tablo 3. Keten tohumu tür ve çeşitlerinin makro ve mikro element bileşenleri (µg/g)

Table 3. Macro and micro elements composition of flaxseed species and cultivars(µg/g)

Macro		Flaxseed		
Element	λ nm	Wild	Sarı 85	Vera
K*		3556.82±336.53 ^a	4402.68±1213.89 ^a	4228.86±1040.58 ^a
P	213.618	1866.73±36.69 ^a	2676.80±97.81 ^b	2568.33±323.42 ^b
Mg	285.213	429.55±22.76 ^b	421.01±10.32 ^b	398.68±7.80 ^a
Na*		311.60±43.76 ^a	714.36±54.96 ^b	732.96±147.85 ^b
Ca*		241.85±70.07 ^b	139.34±17.26 ^a	139.09±15.40 ^a
Zn	213.857	49.81±2.20 ^b	36.54±1.84 ^a	36.95±9.02 ^a
Mn	403.076	20.18±1.26 ^a	19.06±0.49 ^a	44.62±8.07 ^b
Fe	259.940	16.20±2.87 ^a	19.91±5.28 ^a	15.20±6.14 ^a
Cu	324.754	17.25±0.8 ^b	16.31±0.50 ^{ab}	14.69±1.99 ^a
Ni	305.082	2.39±0.40 ^a	6.32±0.35 ^b	7.18±1.18 ^b
Li*		5.50±0.93 ^a	4.20±0.64 ^a	4.93±1.10 ^a
Pb	405.781	4.04±0.64 ^a	4.97±0.14 ^b	4.84±0.74 ^b
Cd	228.802	0.22±0.23	ND	0.55±0.30
Cr	425.433	0.15±0.13 ^{ab}	0.06±0.04 ^a	0.55±0.51 ^b

Aynı satırdaki farklı harfler, çeşitler arası istatistiksel farklılığı ifade eder (n=5).

*Ölçümler Alev fotometre ile yapılmıştır.

İz elementler (F, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, I) biyolojik yapı için elzem olup, aynı zamanda biyolojik işlevler için gereksinim duyulandan fazlası toksik olabilmektedir (Fraga, 2005). Mikro elementler içerisinde keten tohumunda en fazla bulunan element çinkodur. Çinko miktarı yabani ketende diğer iki çeşide göre farklılık göstererek en yüksek miktarda bulunmuştur. Vera ve Sarı 85 çeşidinde ise çinko miktarı benzerlik göstermiştir. Çinko yaraların iyileşmesinde önemli bir rol alan element olup, vücut enzimlerinin 300'ünün metabolik faaliyetinde gereksinim duyulur ve bununla birlikte hücre bölünmesinde protein ve DNA sentezinde ihtiyaç duyulur (Life Extension Foundation for Longer Life, 2013). Gıdalarda bulunan çinkonun biyolojik olarak vücuda alımı tamamen fitat seviyesine bağlıdır ve yüksek fitat içeren gıdalar çinkonun biyolojik olarak alınımını olumlu yönde etkiler (Hambidge, Miller, Westcott, & Krebs, 2008). Keten tohumlarında çinkonun esas kaynağının gübre olduğu ve gübredeki çinko miktarının artışı ile birlikte keten tohumundaki çinko miktarında da artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Moraghan, 1993). Aynı çalışmada ketendeki çinko miktarında artış ile birlikte tohumdaki kadmiyum birikiminde de bir azalmanın olduğu bildirilmiştir (Moraghan, 1993).

Keten tohumlarının mangan içeriği yabani keten ve Sarı 85 te benzerlik gösterirken, Vera çeşidinde ise farklılık göstererek diğerlerinin iki katından fazla (44.6 µg/g) mangan tespit edilmiştir. Farklı keten tohumlarının mangan içerikleri kuru ağırlık bazında 17-28 mg/kg olarak bildirilmiştir (Mekebo & Chandravanshi, 2014). Mangan elzem iz elementlerden olup, normal yağ, protein, ve amino asit metabolizması için gereklidir (Erikson ve ark, 2007). Bakır da elzem bir element olup, pek çok metallo enzim yapılarında bulunur. Bakır eksikliğinde vücutta anemi, iskelet ve sinir sisteminde bozukluklar görülür (Davis ve Mertz, 1987). İnsan beslenmesinde tavsiye edilen günlük miktar ise, 1.5-3 mg/gün olarak belirlenmiştir (Parr, 1990).

Nikel miktarı ise yabani ketende diğer ketenlere göre hemen hemen 3 kat daha düşük olduğu bulunmuştur. Nikel, hidrojenaz ve karbon mono-oksid de-hidrojenaz enziminin biyo sentezi için elzemdir ve nikel eksikliğinde büyüme yavaşlar ve bazı enzimlerin faaliyetlerinin yavaşlamasına neden olur. Yetişkin bireylerin günlük nikel ihtiyacı 25-30 µg'dan fazla değildir ve aşırı nikel tüketimi ise vücutta çinko eksikliğine neden olur (Anke, Angelow, Gleit, Muller, & Illing, 1995).

Mikro elementlerden olan lityum, keten tohumları arasında farklılık arz etmemiş ve 4.20-5.50 µg/g arasında değişiklik göstermiştir. Kurşun ağır metal olarak bilinir ve kaynağı ise atmosfer veya bitkinin yetiştiği ortam olarak gösterilebilir. Kurşun içeriği ketenlerde 4 ile 5 µg/g aralığında değişiklik göstererek yabani keten diğer keten çeşitlerine göre daha düşük kurşun içermiştir. Kadmiyum da ağır metal olup Sarı 85 çeşidinde tespit edilememiş, yabani ve Vera çeşidinde sırası ile 0.22 ve 0.55 µg/g olarak bulunmuştur.

Keten tohumlarında krom miktarı 0.06-0.55µg/g arasında değişiklik göstermiştir. En düşük krom miktarı Sarı 85'te bulunurken, en yüksek krom miktarına Vera çeşidinde rastlanmıştır. Krom, insanlar vücutu tarafından eser miktarda ihtiyaç duyulur. Krom iki şekilde bulunur bunlardan Cr⁺³ ki biyolojik olarak aktif olan şekli ve gıdalarda bulunur, diğeri ise Cr⁺⁶ ise toksik olanı olup daha çok endüstriyel kirliliğin sonucu ortaya çıkar. Biyolojik olarak aktif olan krom vücutta normal glikoz metabolizmasının sürdürülebilmesi için elzemdir. Cr⁺³ toksik etkisi oldukça zayıftır, ancak yüksek doz alımında karaciğer ve böbreklerde problem oluşturur. Diyabet hastalarının dokularında krom miktarı diyabet olmayanlara göre daha azdır, ve krom diyabet hastalarına verilen bir diyet takviyesi olarak bilinmektedir (Goldhaber, 2003).

Sonuç

Keten çeşitlerinin biyokimyasal bileşenlerinde çeşitler arası farklılıklar gözlemlenmiştir. Yağ içeriği bakımından Sarı 85 çeşidi en yüksek yağ içeriğine sahip olurken, yabani ketende ise yağ içeriği düşük bulunmuştur. Yine Sarı 85 çeşidi protein içeriği bakımından da diğerlerinden daha yüksek proteine sahip olmuştur. Yabani keten diğer çeşitlere göre hem protein, hem de yağ bakımından düşük bulunmuştur. Keten yağı için başlıca yağ asiti olan LNA yabani ve Sarı 85 çeşidinde en yüksek bulunmuştur. Yağ oranı diğerlerinden düşük olmasına rağmen yabani ketenin LNA oranı Sarı 85 çeşidine eşdeğer bulunmuştur. Genel olarak Sarı 85 çeşidi protein, yağ ve n3:n6 oranı bakımından diğerlerine üstünlük sağlamıştır. Keten tohumu diğer elementlerle birlikte iyi bir potasyum kaynağı ve elzem mikro elementlerden çinko bakımından da iyi bir besin kaynağı olduğu görülmüştür. Keten içerdiği yağ, protein ve mikro ve makro element içeriğinin zenginliği ve glutensiz olması bakımından bazı gıdalara hassas insanlar tarafından da rahatlıkla tüketilebilecek bir gıdadır.

Keten tohumu sadece yağ, omega 3 yağ asiti, protein ve mineral bakımından zenginliği açısından ele alınmayıp, sindirime yardımcı olan iyi bir lif kaynağı olduğu, lignan kaynağı olduğu da unutulmamalıdır. Diğer yandan, alınan besinleri olumsuz yönde etkileyecek cyanogenic glikosit, linatine ve fitik asit içermesi de göz önünde bulundurulmalıdır. İnsan tüketimi için tavsiye edilen günlük keten tohumu miktarı 1-2 yemek kaşığı geçmemeli ve ısıtılma tabii tutulması bazı olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Ganorkar & Jain, 2013).

Teşekkür

Araştırmacı, protein, mineral ve yağ asitleri analizi için katkılarından dolayı Mustafa Kemal Üniversitesi Teknoloji Araştırma-Geliştirme ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü (MARGEM)'ne teşekkür eder.

Kaynaklar

- Anke, M., Angelow, L., Gleis, M., Muller, M., & Illing, H. (1995): The Biological Importance of Nickel in The Food-Chain. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 352(1-2): 92-96.
- Bayrak, A., Kiralan, M., Ipek, A., Arslan, N., Cosge, B., & Khawar, K. M. (2010): Fatty Acid Compositions of Linseed (*Linum usitatissimum* L.) Genotypes Of Different Origin Cultivated in Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(2):1836-1842.
- Bhatty, R.S., Cherdklatgumchal, P. (1990): Compositional Analysis of Laboratory-prepared and Commercial Samples of Linseed Meal and of Hull Isolated from Flax. *Journal of the American Chemical Society*, 67: 79-84.
- Bozan, B., Temelli, F. (2002). Supercritical CO₂ extraction of flaxseed. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 79(3), 231-235. doi: 10.1007/s11746-002-0466-x
- Bozan, B., & Temelli, F. (2008): Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technology*, 99(14): 6354-6359.
- Brutch NB. 2002. The flax genetic resources collection held at the Vavilov Institute, Russian Federation. In: LM Maggioni, M Pavelek, LJM van Soest and E Lipman

(editors). Flax Genetic Resources in Europe. IPGRI, Rome, Italy. pp. 61–65.

- Canadian Grain Commission. (2009). Quality of western Canadian flaxseed 2009, export quality data, July 2009. Retrieved January 3, 2010, from <http://www.grainscanada.gc.ca/flax-lin/harvest-recolte/2009/hqf09-qr109-eng.htm>.
- Champagne, C.M. (2008): Magnesium in Hypertension, Cardiovascular Disease, Metabolic Syndrome, and Other Conditions: A Review. *Nutrition in Clinical Practice*, 23(2): 142-151.
- Davis, G.K., Mertz, W. (1987): Copper. In: Mertz, W. (Ed.), Trace Elements in Human and Animal Nutrition, vol. 2. Academic Press, Orlando, FL, pp. 301-364.
- Davis PH (1967). *Linum L.* In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, (Ed.: P.H. Davis). Edinburgh: Edinburgh University Press, 2: 425-450.
- Duguid, S., Lafond, G., McAndrew, D.W., Rashid, K.Y., Ulrich, A. (2007): Growing Flax: Production, Management & Diagnostic Guide. Winnipeg, MB: Flax Council of Canada.
- Elladi V.N. (1940): *Linum usitatissimum* (L.) Vav. consp. nov. – len. [*Linum usitatissimum* (L.) Vav. consp. nov. - flax] (In Russian). In: EV Vul'f and NI Vavilov (editors).
- Erikson, K.M., Thompson, K., Aschner, J., Aschner, M. (2007): Manganese neurotoxicity: A focus on the neonate. *Pharmacology & Therapeutics*, 113(2): 369-377.
- Ertug, F. (1998): Anadolu'nun önemli yağ bitkilerinden keten/*Linum* ve izgin/*Eruca*. *TUBA-AR (Turkish Academy of Sciences Journal of Archaeology)* 1: 113-127.
- Fraga, C.G. (2005): Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5):235-244.
- Freemantle, E., Vandal, M., Tremblay-Mercier, J., Tremblay, S., Blachere, J.C., Begin, M.E., Thomas Brenna, J., Windust, A., Cunnane, S.C. (2006): Omega-3 fatty acids, energy substrates, and brain function during aging.

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

- Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 75(3): 213-220.
- Goldhaber, S.B. (2003): Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38(2): 232-242.
- Güner, A., Vural, M., Duman, H., Dönmez, A., Şağban, H. (1996): The Flora of the Köyceğiz-Dalyan specially protected area (Muğla/Turkey). *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 20: 329-371.
- Hambidge, K.M., Miller, L.V., Westcott, J.E., Krebs, N.F. (2008): Dietary Reference Intakes for Zinc May Require Adjustment for Phytate Intake Based upon Model Predictions. *Journal of Nutrition*, 138(12): 2363-2366.
- Harris, W.S., Miller, M., Tighe, A.P., Davidson, M.H., Schaefer, E.J. (2008): Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis*, 197(1):12-24.
- Hettiarachchy, N.S., Hareland, G.A., Ostenson, A., Baldner-Shank, G. (1990): Chemical composition of eleven flaxseed varieties grown in North Dakota. Proc of the Falx Institute of the United States, Flax Institute of the United States, 36-40.
- Heywood, V.H. (1993): Flowering Plants of the World. Oxford Univ. Press, Oxford, UK.
- Hickey, M., King, C. (1988): 100 families of flowering plants. 2nd edition. University Press, Cambridge.
- Hurteau, M.C. (2004): Unique new food products contain good omega fats. *Journal of Food Science Education*, 3(4): 52-53.
- Khattab, R.Y., Zeitoun, M.A. (2013): Quality evaluation of flaxseed oil obtained by different extraction techniques. *LWT-Food Science and Technology*, 53(1): 338-345.
- Kiralan, M., Gokpinar, F., Ipek, A., Bayrak, A., Arslan, N., Kok, M. S. (2010): Variability of fatty acid and mineral content in linseed (*Linum usitatissimum*) lines from a range of European sources. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(4): 1068-1073.
- Kul'turnaja Flora SSSR, Prjadil'nye. [Flora of Cultivated Plants of the USSR, Fibre Plants]. Vol. 5, Part 1, pp. 109–207. Sel'chozgiz, Moskva, Leningrad.
- Life Extension Foundation for Longer Life. (2013): Advanced health and life extension. Zinc in health and Nutrition. Available online at <http://www.advance-health.com/zinc/html> (verified on August 22, 2013).
- Mekebo, D., Chandravanshi, B.S. (2014): Levels of Essential and Non-Essential Metals In Linseed (*Linum Usitatissimum*) Cultivated In Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 28(3): 349-362.
- Moraghan, J.T. (1993): Accumulation Of Cadmium And Selected Elements In Flax Seed Grown On A Calcareous Soil. *Plant and Soil*, 150(1): 61-68.
- Morris, D.H. 2003. Flax: A health and nutrition primer. 3rd ed, p.11 Winnipeg: Flax Council of Canada. Downloaded from <http://www.jitinc.com/flax/brochure02.pdf> (verified on 4/6/12)
- Morrison, W.R., Smith, L.M. (1964): Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron trifluoride-methanol. *Journal of Lipid Research*, 5: 600-608.
- Oksuz, A., Ozyilmaz, A. (2010): Changes in Fatty Acid Compositions of Black Sea Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) During Catching Season. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(3): 381-385.
- Oomah, B. D., Mazza, G., & Cui, W. (1994): OPTIMIZATION OF PROTEIN EXTRACTION FROM FLAXSEED MEAL. *Food Research International*, 27(4): 355-361. doi: 10.1016/0963-9969(94)90191-0
- Oomah, B.D., Mazza, G., (1993): Flaxseed proteins - a review. *Food Chemistry*, 48: 109-114.
- Pan, A., Sun, J., Chen, Y., Ye, X., Li, H., Yu, Z., Wang, Y., Gu, W., Zhang, X., Chen, X., Demark-Wahnefried, W., Liu, Y., Lin, X. (2007): Effects of a Flaxseed Derived Lignan Supplement in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized, DoubleBlind, Cross-Over Trial. *PLoS ONE*, 2(11).
- Parr, R.M. (1990): Recommended Dietary Intakes of Trace Elements: Some Observations on

- Their Definition and Interpretation in Comparison with Actual Levels of Dietary Intake. In: H. Tomita (Ed). Trace Elements in Clinical Medicine. Springer-Verlag Tokyo. pp 325-331.
- Robertson, K.R. (1972): The genera of Geraniaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 53: 182-201.
- Simopoulos, A.P. (2002): The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*; 56(8):365-79.
- TUNÇTÜRK, M. (2007): Van Kosullarında Bazı Ketan (*Linum usitatissimum* L.) Çesitlerinin Verim ve Bazı Verim Ögelerinin Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2007, 13(4): 365-371.
- TÜBİVES, Türkiye Bitkileri Veri Servisi. <http://www.tubives.com/>.
- TÜİK(2015): Türkiye İstatistik Kurumu, <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>. Reached in January, 2015.
- Vromans, J. (2006): Molecular genetic studies in Flax (*Linum usitatissimum* L.). PhD. Thesis. Wageningen University, Wageningen, Netherlands.
- Wakjira, A., Labuschagne, M.T, Hugo, A. (2004): Variability in oil content and fatty acid composition of ethiopian and introduced cultivars of linseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 601-607.
- Yılmaz, Ö., Kaynak, G. (2006): *Linum hirsutum* subsp. *platyphyllum* stat. nova (Linaceae). *Annales Botanici Fennici*, 43(1): 62-63.
- Yılmaz, Ö., Kaynak, G. (2008): A new species of *Linum* (Linaceae) from west Anatolia, Turkey. *Botanical Journal of Linnean Society*, 156: 459-462.
- Yılmaz, Ö., Kaynak, G. (2010): A New Taxon of *Linum* (Linaceae) from Southwest Anatolia, Turkey. *A Journal for Botanical Nomenclature*, 20(4): 507-511.
- Yılmaz, Ö., Kaynak, G., Vural, M. (2003): A new taxon of *Linum* (Linaceae) from NW Anatolia, Turkey. *Annales Botanici Fennici* 40(2): 147-150.
- Zohary, D., Hopf, M., Weiss, E. (2012): Domestication of plants in the old world, 4th edn. Oxford University Press, Oxford products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 132(1-2): 103-110.
- SAS (1996): SAS User' s Guide: Statistics, 1996 edit. SAS Institue, Inc., Carry, NC.
- Şahin, A. (2009): Effects of dietary *Tribulus terrestris* L. Powder on growth performance, body components and digestive system of broiler chicks. *Journal of Applied Animal Research*, 35(2): 193-195.
- Tipu, M.A., Akhtar, M.S., Anjum, M.I., Raja, M.L. (2006): New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(3): 144-148.
- Toker, E., Zincirlioğlu, M., Alarslan, Ö.F. (1998): Hayvan Yetiştirme (Yemler ve Hayvan Besleme). Baran Ofset, Ankara.

THE EFFECT OF PICKLING ON TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 10 VEGETABLES

F. Kübra SAYIN, S. Burçin ALKAN

University of Necmettin Erbakan, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Konya, Turkey

Received: 28.03.2015

Accepted: 18.05.2015

Published online: 20.05.2015

Corresponding author:

F. Kubra SAYIN, Necmettin Erbakan University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Konya, 42080, Turkey

E-mail: fsayin@konya.edu.tr

Abstract:

Epidemiological evidence suggests the critical role of vegetable consumption in preventing chronic degenerative diseases. Considering that pickle is a widely consumption type of vegetable in Turkish diet the objective of the present study was to assess the total phenol content and antioxidant capacity of pickled vegetables. For this purpose total antioxidant capacity of 10 fresh and pickled vegetables was analysed by DPPH (2,20-diphenyl-1-picryl hydrazyl) radical scavenging activity and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) methods and total phenolic content (TPC) using Folin–Ciocalteu reagent. Following the pickling in 15th day there was a significant ($P<0.05$) decrease in TPC of all veg-

etables, in contrast this TPC increased significantly after 30th day. Also at 60th day of pickling the TEAC values of all vegetables are increased significantly ($P<0.05$), but DPPH values of green pepper, cauliflower, cucumber and sneak melon decreased compared with fresh state. Our findings suggest that, pickling process is relatively a good method for the preservation of phenolic acids in vegetables, and most of the antioxidant capacities remained after 30th day of fermentation.

Keywords:

Total phenol content, total antioxidant capacity, pickling

Introduction

Pickle is a traditional fermented food made of vegetables such as cabbage, cucumber, carrot, green tomato, pepper, eggplant and beans. Also, pickling is one of the oldest preservation methods of food by fermentation. The pickling is basically, conversion of sugar to acid by microorganisms that are lactic acid bacteria (LAB) (Nurul and Asmah, 2012). The salt also plays an important role in fermentation by drowning out water and nutrients from vegetable and become substrates for lactic acid bacteria grow. As sugar convert to the lactic acid the condition become acidic and inhibits the growth of pathogens and other nonacidic tolerant microorganisms' especially aerobic spoilage microorganisms. As a result from pickling, the vegetable will have a longer shelf life, translucent appearance, firm texture and pickle flavour. Fermentation of fruits and vegetables can occur spontaneously by the natural LAB that placed surface of vegetable, such as *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., and *Pediococcus* spp. (Karovičová et al., 1999).

Pickled products by LAB fermentation have unique flavour and great healthful effects (Choi et al., 2013). LAB fermented vegetables helps to enhance human nutrition with the attainment of balanced nutrition, providing vitamins, minerals, and carbohydrates (Yamano et al., 2006), besides, they contain pigments such as flavonoids, lycopene, anthocyanin, β -carotene, and glucosinolates. This phytochemicals act as antioxidants in the body by scavenging harmful free radicals implicated in degenerative diseases like cancer, arthritis, and ageing (Kaur and Kapoor, 2001). Fruit and vegetables are good sources of natural antioxidants such as vitamins, carotenoids, flavonoids and other phenolic compounds (Takebayashi et al., 2013; Isabelle et al., 2010). Protecting these nutrition values of plant foods is a growing scientific field. Then, a common way to maintain and improve the nutritional and sensory features of vegetables is pickling or lactic acid fermentation (Demir et al., 2006; Cagno et al., 2013).

In Turkey, pickling is an important way of consume vegetable. It is preferred not only as a good way to keep vegetables fresh but also it is a popular taste in Turkish cuisine. Although there is an industrial production of vegetable pickles mostly pickling still a domestic process. There are studies

demonstrating that fermentation increased the antioxidant capacity of vegetables like soybean (Moktan et al., 2008) but some plant foods showed decrease in antioxidant capacity like olive (Othman et al., 2009). So, the effect of pickling on antioxidant properties of vegetables is change by various factors like vegetable kind, microorganisms, time, temperature and ph. Literature is scanty on the effects of domestic pickling procedure that has a wide consumption in diet. Therefore, in the present study, total phenol content (TPC) and antioxidant capacity (AC) of pickled vegetables, using different antioxidant methods (DPPH and TEAC) were examined. The pickled vegetables should be fermented and riped between 15 and 30 days before eating. So, the specific aim was to analyse the change of antioxidant capacity by pickling and after waiting for one month.

Materials and Methods

Chemicals and reagents

6-hydroxyl-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 2,20-azinobis-(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS⁺), and Folin-Ciocalteu phenol reagent were purchased from Sigma (St. Louis, MO). All other chemicals used were of analytical grade. Fresh vegetables were obtained from market in Konya, Turkey, on September 2014.

Pickle preparation and Sampling

The vegetables were washed clean under tap water and were placed in a clean jar. Before the vegetables dried chickpeas (40 g) added on the bottom of the jar due to accelerate the fermentation. Pickling salt, grape vinegar and water mixture (80g, 0,10 L and 1L respectively) prepared and added to the jar. The lid of the jar was closed and fermented for 15 days at room temperature (20 ± 2 °C).

The first samples were taken on the day of pickling and represents the fresh sample in the present study. Other samples were taken on 15th, 30th, and 60th days after the jar closed. At sample preparation process ten grams of samples were homogenized in 250 mL 80% (v/v) methanol at room temperature. The mixture was shaken using shaking bath at 200 rpm for 120 min at 20°C. The mixture was then centrifuged at 1500 rpm for 15 min at room temperature and the supernatant was taken.

This supernatant was stored at -20°C until analysis.

Determination of total phenolic content

Total phenolic content (TPC) was measured using the Folin–Ciocalteu colorimetric method described previously (Wojdylo et al., 2007). 0.2 mL of Sample extracts prepared for total phenolic content were mixed with 4.8 mL of distilled water and 0.5 mL of 1:3 diluted Folin–Ciocalteu reagent added and then incubated at room temperature for 30 min. Following the addition of 1 mL of 35% sodium carbonate to the mixture, total polyphenols were determined after 1 h of incubation at room temperature. The absorbance of the resulting blue colour was measured at 765 nm with UV-visible spectrophotometer (Hitachi U 2000 Japan). Gallic acid was used as the standard for a calibration curve, and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) mg GAE/100g fresh weight (FW) of fruit. All determinations were performed in triplicate (n=3).

Determination of DPPH radical scavenging activity

DPPH radical scavenging activity was determined according to Yu et al. (2002). This method is based on the ability of the antioxidant to scavenge the DPPH cation radical. Briefly, 100 mL of sample extract or standard was added to 0.9 mL buffer (3.0276g trisHCl in water) and 2 mL of DPPH reagent (0.0394g in methanol) and vortexed vigorously. It was incubated in dark for 30 min at room temperature and the discolouration of DPPH radical was measured against blank at 517 nm. Ethanol (100%) was used as control.

Inhibition (%) of DPPH absorbance = $(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) \times 100 / A_{\text{control}}$.

Trolox was used as a reference standard, and the results were expressed as $\mu\text{molTE}/100\text{g}$ FW of fruit or vegetable. All determinations were performed in triplicate (n=3).

Determination of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) activity

The TEAC assay was performed according to the method established previously (Re et al., 1999) with minor modifications. Briefly, the ABTS stock solution was prepared from 7mmol/L ABTS and 2.45 mmol/L potassium persulfate in a volume ratio of 1:1, and then incubated in the dark at room temperature for 16 h and used within 2 days. A 100 mL of the tested sample was mixed with 3.8 mL ABTS working solution and the absorbance was taken at 734 nm after 6 min of incubation at room temperature. The percent of inhibition of absorbance at 734 nm was calculated and the results were expressed as $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ FW of pickled vegetable. All determinations were performed in triplicate (n = 3).

Statistical analysis

All data were presented as means \pm standard deviations of 3 determinations. Non-parametric Kruskal Wallis analysis was used to test whether there is a significant difference in total phenolic, antioxidant capacity of vegetables between fresh and pickled forms. Pearson Correlation Coefficient was used to determine the correlation between the parameters studied in fresh and pickled vegetables. Statistical significance was set at $p < 0.05$. Data were analysed using SPSS for windows version 16.0.

Results and Discussion

Total phenolic content

Table 1 shows mean TPC of vegetables in fresh and pickled form. The TPC of fresh vegetables in the range of $107,21 \pm 11,2$ and $16,51 \pm 2,17$ mgGAE/100g. Fresh chili pepper and garlic had the best TPC ($107,21 \pm 11,2$ and $102,65 \pm 8,56$ mgGAE/100g respectively). Following the pickling in 15 days there was a significant ($P < 0.05$) decrease in TPC of all vegetables, in contrast TPC increased significantly after 30 days. At the end of 60 days TPC decreased but despite this analysis of variance revealed a significant ($P < 0.05$) different in TPC between fresh and pickled vegetables in favour of pickled ones. At 30th day of pickling green beans, garlic and chili have showed the maximum enhancement at TPC.

Table 1. Alteration of total phenolic content of vegetables by pickling.

Vegetables		TP value (mgGAE/100gFW)			
		Fresh	15 th day	30 th day	60 th day
Green beans	<i>Phaseolus vulgaris</i>	39.58 ± 5.46 ^a	18.32 ± 2.11 ^b	51.85 ± 7.56 ^c	49.56 ± 5.78 ^c
Pepper (green)	<i>Capsicum annuum</i>	26.43 ± 0.82 ^a	20.98 ± 3.41 ^b	41.71 ± 6.23 ^c	42.82 ± 4.23 ^c
Chili pepper	<i>Capsicum esculentum</i>	107.21 ± 11.2 ^a	64.25 ± 7.31 ^b	132.25 ± 12.59 ^c	130.34 ± 10.98 ^c
White Cabbage	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	65.58 ± 9.01 ^a	48.25 ± 6.82 ^b	78.68 ± 21.03 ^c	76.38 ± 8.15 ^c
Cauliflower	<i>Brassica oleracea var. botrytis</i>	81.24 ± 5.24 ^a	49.56 ± 7.52 ^b	108.35 ± 18.65 ^c	106.32 ± 11.85 ^c
Cucumber	<i>Cucumis sativus</i>	16.51 ± 2.17 ^a	12.23 ± 0.98 ^b	28.24 ± 2.36 ^c	26.84 ± 3.14 ^d
Sneak melon	<i>Cucumis flexuosus</i>	20.35 ± 1.98 ^a	15.36 ± 1.25 ^b	25.63 ± 3.24 ^c	26.63 ± 2.54 ^c
Tomato	<i>Lycopersicon esculentum</i>	37.94 ± 0.13 ^a	20.02 ± 2.15 ^b	55.23 ± 8.16 ^c	56.35 ± 6.84 ^c
Carrot	<i>Daucus carota</i>	18.21 ± 5.12 ^a	14.18 ± 1.32 ^b	42.28 ± 2.58 ^c	40.35 ± 5.62 ^c

Data are expressed as means ± SE of triplicate experiments. Mean values in a row with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 2. Correlation antioxidant capacity and total phenol content of vegetables.

Correlation		r	r ² (%)
Fresh vegetable	TPC-DPPH	0.91	0.83
	TPC-TEAC	0.84	0.72
	TEAC-DPPH	0.86	0.64
Pickled vegetables	TPC-DPPH	0.78	0.62
	TPC-TEAC	0.83	0.70
	TEAC-DPPH	0.74	0.55

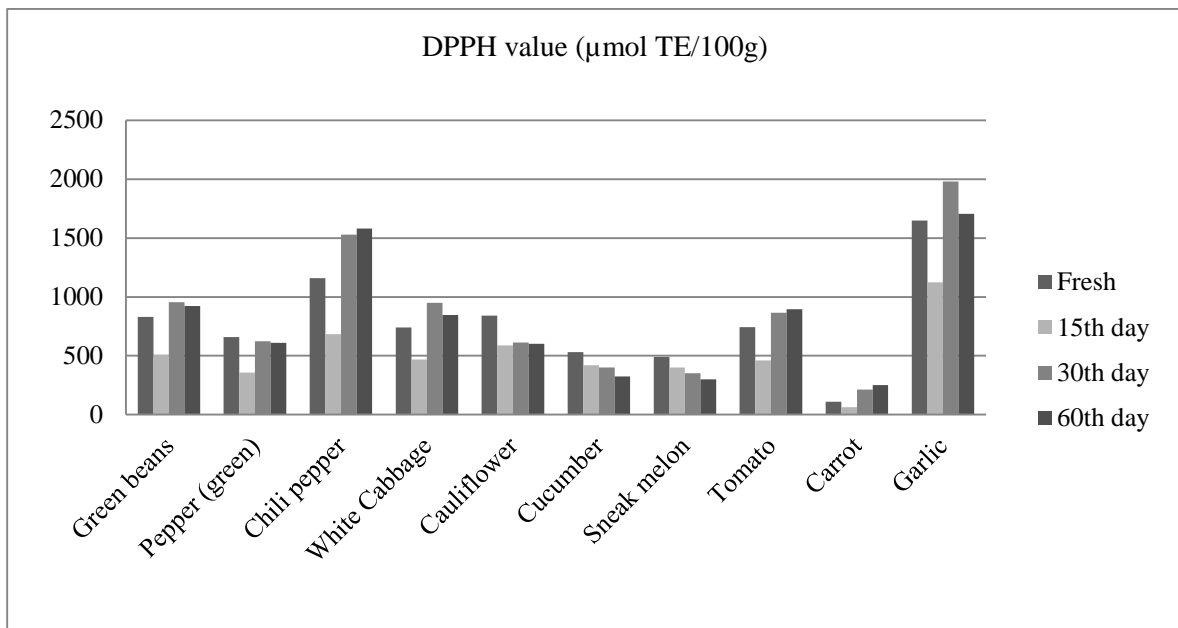
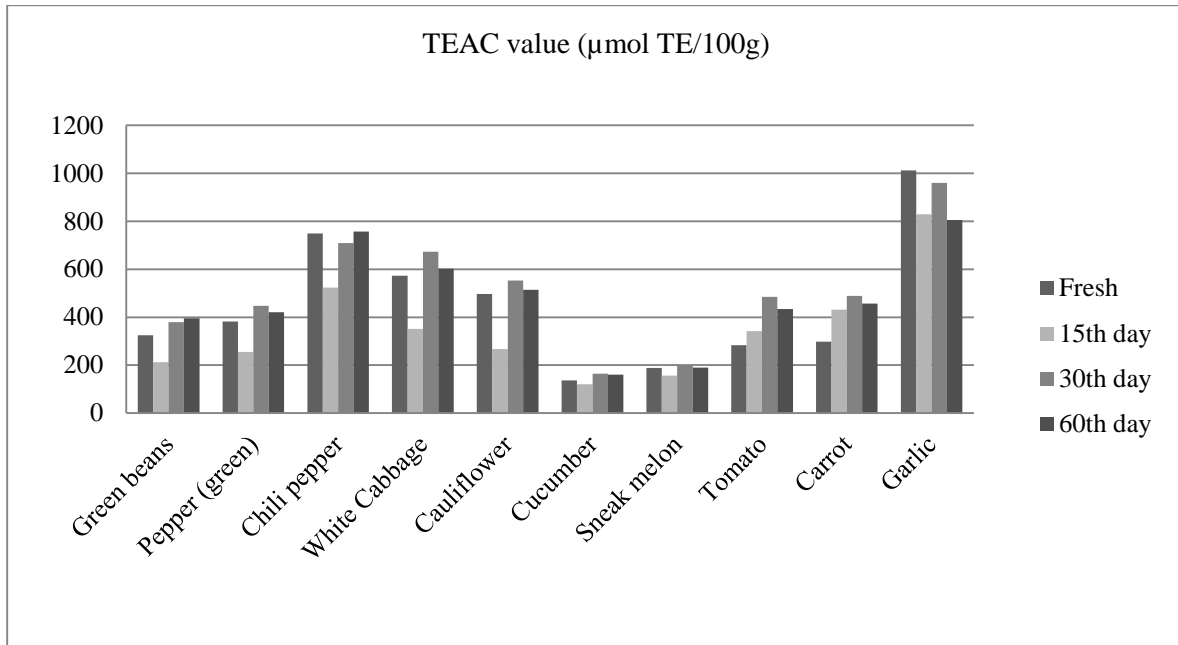
TPC, Total phenol content, DPPH, DPPH radical scavenging capacity, TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity.

Previous study found that a number of polyphenols increased after the lactic acid fermentation of vegetables. Soybean is an example of this; fermented soybean foods contain more aglycones as the predominant isoflavone structures compared with unfermented soybean; (Tsangalis et al., 2002). Thus, the conversion of glucosides into their aglycone form by fermentation is a way of increasing TPC of plant based foods. pH is one of the most important environmental parameter affecting the amount and the structural changes of phytochemicals during fermentation. For example, anthocyanin exhibit the highest stability around pH 1–2 (Nielsen et al., 2003) and the retention of anthocyanin is also largely affected by changes in pH (from 2 to 7.5) (Tagliazucchi et al., 2010). Another phenol affected from pH is catechins that rapidly diminish by 70-80% at alkaline pH. Thus, we can say that pH changes during fermentation could change the contents and structure of the phenolic compounds.

Antioxidant Capacity

The AC of pickled vegetable extracts were evaluated according to the DPPH and TEAC methods. Following the 15th day of pickling, the AC of 10 vegetables decreased significantly ($P < 0.05$), while, at the 30th day AC significantly ($P < 0.05$) increased. After the pickling process, garlic had the highest AC among the 10 vegetable pickles, followed by chili pepper, white cabbage and green beans. In this study, garlic showed the highest AC before and after pickling. Through at 60th day of pickling the TEAC values of all vegetables are increased significantly ($P < 0.05$), but DPPH values of green pepper, cauliflower, cucumber and sneak melon decreased compared with fresh state. Compared with the fresh and 30th day of DPPH value, chili pepper was the vegetable that increased most obviously, and according to TEAC value the most increase seen at tomato.

Figure 1. TEAC and DPPH values of fresh and pickled vegetables.



Studies carried out on pickled plant foods revealed that fermentation enhanced the availability of antioxidants, like blueberry (Su and Chen 2007), mulberry (Perez-Gregorio et al., 2011), apple pomace (Ajila et al., 2011). The effects of pickling on AC could be explained by the release of simple phenolic compounds by acid and enzymatic hydrolysis of polymerised phenolic compounds. Another possible explanation is that lactic acid bacteria themselves possess enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms and minimize the generation of reactive oxygen species to harmless levels for the cell (Lee et al., 2006). On the contrary, fermentation caused a decrease in antioxidant activity of olive (Othman et al., 2009) and potherb mustard (Fang et al., 2008). Also, as a result of fermentation, tea catechins were significantly reduced by the transformation to theaflavins and thearubigins, resulting in the loss of the total soluble phenolic content and antioxidative activity (Kim et al., 2011). So, a number of studies have addressed that the effect of pickling on antioxidant capacity of foods is variable. This may be caused by the compounds during fermentation like the microorganisms, cultivation medium, times, temperature, pH and atmosphere (Hur et al., 2014).

In general, there was a good correlation between the TP content and AC (as assessed by DPPH and TEAC) among the vegetables and pickles studied (Tables 2). A significant correlation ($p < 0.01$) was observed between TP content and AC both in pickles (r values being 0.78 and 0.83 respectively with DPPH and TEAC respectively) and fresh vegetables (r values 0.81 and 0.85 with DPPH and TEAC respectively) (Tables 2). These findings suggest that TP may be a contributor to the AC of vegetables studied here and are in agreement with the literature (Isabelle et al., 2010; Sreeramulu et al., 2010; Kevers et al., 2007). Studies which did not report similar correlation suggest this lack of correlation could be due to the presence of non-phenolic antioxidants in the vegetables, or presence of phenolics having strong radical scavenging activity (Wu et al., 2004; Mariko et al., 2005).

Conclusion

Among fresh vegetables tested, chili pepper had the highest amount of phenolics and garlic had the strongest antioxidant capacity. Also among pickles tested, garlic, chili and white cabbage respectively had the highest AC and TPC. So it is evaluated that vegetables are rich in total phenolic showed strong antioxidant activity at the same time.

The present study indicates that pickling has an improving effect on the levels of bioactive components and antioxidant capacities of vegetables. Also, pickling process is relatively a good method for the preservation of phenolic acids in vegetables, and most of the antioxidant capacities remained after 30th day of fermentation. First probable reason of this is induce of fermentation the structural breakdown of plant cell walls and leading to the liberation or synthesis of various antioxidant compounds. We can affirm that domestically prepared pickle is not only a delicious vegetable product, but also a good source of antioxidants.

References

- Ajila, C.M., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Valéro, J.R. (2011): Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerochaete chrysosporium* Liberation and extraction of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 126(3): 1071-1080.
- Choi, I.H., Noh, J.S., Han, J., Kim, H.J. Han, E., Song, Y.O. (2013): Kimchi: A fermented vegetable, improves serum lipid profiles in healthy young adults: Randomized clinical trial. *Journal of Medicinal Food*, 16(3): 223-229.
- Demir, N., Bahceci, K.S., Acar, J. (2006): The effects of different initial *Lactobacillus plantarum* concentrations on some properties of fermented carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(3): 352-363.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., Gobbetti M. (2013): Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1): 1-10.
- Hur, S.J., Lee, S.Y., Kim, Y.C., Choi, I., Kim, G.B. (2014): Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160: 346-356.
- Isabelle, M., Lee B.L., Lim, M.T., Koh W.P., Huang D., Ong C.N. (2010): Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. *Food Chemistry*, 120: 993-1003.
- Karovičová, J., Drdák, M., Greif, G., Hybenová, E. (1999): The choice of strains of *Lactobacillus* species for the lactic acid fermentation of vegetable juices. *European Food Research and Technology*, 210(1): 53-56.
- Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001): Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health.

- International Journal of Food Science and Technology*, 36(7): 703-725.
- Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J., Dommès, J., Pincemail, J. (2007): Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 8596-8603.
- Kim, Y., Goodner, K.L., Park, J.D., Choi, J., Talcott, S.T. (2011): Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*, 129(4): 1331-1342.
- Lee, H.Y., Park, J.H., Seok, S.H., Baek, M.W., Kim, D.J., Lee, K.E. et al. (2006): Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1761(7): 736-744.
- Mariko, N., Hassimotto, A., Genovese, M.I., Lajola, F.M. (2005): Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2928-2935.
- Moktan, B., Saha, J., Sarkar, P. K. (2008): Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International*, 41(6): 586-593.
- Murcia, M.A., Jiménez-Monreal A.M., García-Diz A.M., Carmona A.M., Maggi A.M., Martínez-Tomé M. (2009): Antioxidant activity of minimally processed (in modified atmospheres), dehydrated and ready-to-eat vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2103-2110.
- Nurul, S.R., Asmah, R. (2012): Evaluation of antioxidant properties in fresh and pickled papaya. *International Food Research Journal*, 19(3): 1117-1124.
- Othman, N.B., Roblain, D., Chammen, N., Thonart, P., Hamdi, M. (2009): Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, 116(3): 662-669.
- Pérez-Gregorio, M.R., Regueiro, J., Alonso-González, E., Pastrana-Castro, L.M., Simal-Gándara, J. (2011): Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). *LWT – Food Science and Technology*, 44(8): 1793-1801.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237.
- Sreeramulu, D., Raghunath, M. (2010): Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International*, 43: 1017-1020.
- Su, M.S., Chien, P.J. (2007): Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104(1): 182-187.
- Takebayashi, J., Oki, T., Watanabe J., Yamasaki K., Chen J., Sato-Furukawa M., et al. (2013): Hydrophilic antioxidant capacities of vegetables and fruits commonly consumed in Japan and estimated average daily intake of hydrophilic antioxidants from these foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29:25-31.
- Tsangalis, D., Ashton, J.F., McGill, A.E.J., Shah, N.P. (2002): Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by β -glucosidase-producing bifidobacteria. *Journal of Food Science*, 67(8): 3104-3113.
- Wojdylo, A., Oszmianski J., Czemerys, R. (2007): Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105: 940-949.
- Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L., (2004): Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4026-4037.
- Yamano, T., Lino, H., Takada, M., Blum, S., Rochat, F., Fukushima, Y. (2006): Improvement of the human intestinal flora by ingestion of the probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* La1. *British Journal of Nutrition*, 95(2): 303-312.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M. (2002): Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1619-1624.

REVIEW ARTICLE

DERLEME MAKALESİ

FISH OILS AND HUMAN HEALTH

Eda ÖZER ANDIZ, Mustafa ÜNLÜSAYIN

Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Akdeniz University, Campus, Antalya, Turkey

Received: 14.04.2015**Accepted:** 21.05.2015**Published online:** 04.06.2015**Corresponding author:****Mustafa ÜNLÜSAYIN**, Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Akdeniz University, Campus, 07059, Antalya, Turkey**E-mail:** munlusavin@akdeniz.edu.tr

Abstract:

Fish oils have been essential for human life development, growth and they play critical roles in health and reproduction. Especially of those sources of food which contain adequate levels of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) is importantly. On the other hand PUFA's sources of food which have suitable ratios of the n-3 (18-carbon, α -linolenic acid, ALA) to n-6 (18-carbon linoleic acid, LA) PUFAs is more importantly. In recent years, the importance of adequate and well balanced diets have understood and nutritional habits were started to be changing with growing technology. It's known

that n-3 and n-6 long chain fatty acids source in especially oily fish had to in our diet in balance. Fish oils play important role prevention of cardiovascular problems, effective for the visual function, brain development and growth. In this review polyunsaturated fatty acids which have an impact on human health were able to be reviewed for this reasons.

Keywords:

Fish oil, Lipids, PUFA, Essential oils, Human health

Introduction

Many of the fatty acids can be synthesized by humans, but there is a group of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), the essential fatty acids that the human body cannot produce omega-3 (n-3) and omega-6 (n-6) fatty acids. Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) or docosahexaenoic acid (DHA); however, the data on the shorter-chain omega-3 fatty acid ALA were far less certain (Wang et al., 2004). The major sources of EPA and DHA in food and dietary supplements were found in fatty fish, fish products, marine oils, and certain algae oils. It is influenced not only by the kind of fish but also by the maturity, season, food availability and feeding habit. Fat deposition occurs in muscle tissue (e.g. carp, herring), in liver (cod, haddock, saithe) or in intestines (blue pike, pike, perch). Fish and fish oils contain omega-3 (n-3) fatty acids; in particular, EPA (C20:5 n-3) and DHA (C22:6 n-3) (Holub and Holub, 2004), which is originated from phytoplankton and seaweed in the food chain (Visentainer et al., 2007). The rate of conversion by humans of ALA to EPA is low, with estimates ranging from 0.2% to 15%, as is the conversion of EPA to DHA (Kris-Etherton et al., 2002). However, in two researches have been reported that high intakes of ALA significant increases in long chain omega-3 fatty acids in various body compartments (Francois et al., 2003). Major sources of dietary and supplemental ALA are from soybean and canola oils, walnuts and flax seed (Sontrop and Campbell, 2006).

The parent omega-6 fatty acid is linoleic acid (C18:2 n-6, LA) and the parent omega-3 fatty acid is α -linolenic acid (C18:3 n-3, ALA). Omega-6 fatty acids as arachidonic acid (C20:4n-6; AA) could be synthesized by humans from LA, and omega-3 fatty acids, as eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3; EPA), docosapentaenoic acid (C22:5 n-3, DPA) and docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA), from ALA; however, the conversion of ALA in EPA, DPA and DHA is low and these

omega-3 fatty acids are considered essential fatty acids too. Therefore, both n-3 and n-6 PUFA are entirely derived from the diet and necessary for human health (Rubio-Rodríguez et al., 2010).

Since the conversion of ALA to EPA and DHA are not particularly efficient in humans. Preformed dietary sources of EPA and DHA are the best way to ensure adequate intake; oily fish such as tuna, salmon, mackerel, and sardines are rich in preformed EPA and DHA (McGregor et al., 2001).

Health Effects of Fish Oils

The long chain EPA and DHA could alter cell membrane structure and function by increasing fluidity (Yaqoob and Shaikh, 2010) and n-3 fatty acid (FA) rich particles use direct lipid-lipid proteoglycan interactions for blood clearance and cell uptake (Densupsoontorn et al., 2008, Murray-Taylor et al., 2010). The most noticeable effects come from studies where the substitution of saturated fat with oleic acid has been tested. Isocaloric replacement of about 5% of energy from saturated fatty acids by oleic acid (or PUFA) has been estimated to reduce coronary heart disease risk by 20–40% mainly via low-density lipoprotein (LDL) cholesterol reduction (Kris-Etherton, 1999). The other beneficial effects on risk factors for cardiovascular disease (CVD) such as factors related to thrombogenesis, in vitro LDL oxidative susceptibility and insulin sensitivity have been reported by Kris-Etherton (1999) and Vessby et al., (2001). n-3 PUFAs have the ability to respond to inflammation in atherogenesis through direct and indirect mechanisms. A direct mechanism through which n-3 PUFA decrease inflammation includes its rapid effect on the regulation of transcription factors (Arterburn et al., 2006) and indirect modes of actions include the production of three- and five-series eicosanoids and inflammation-resolving lipid mediators (Adkins and Kelly, 2010).

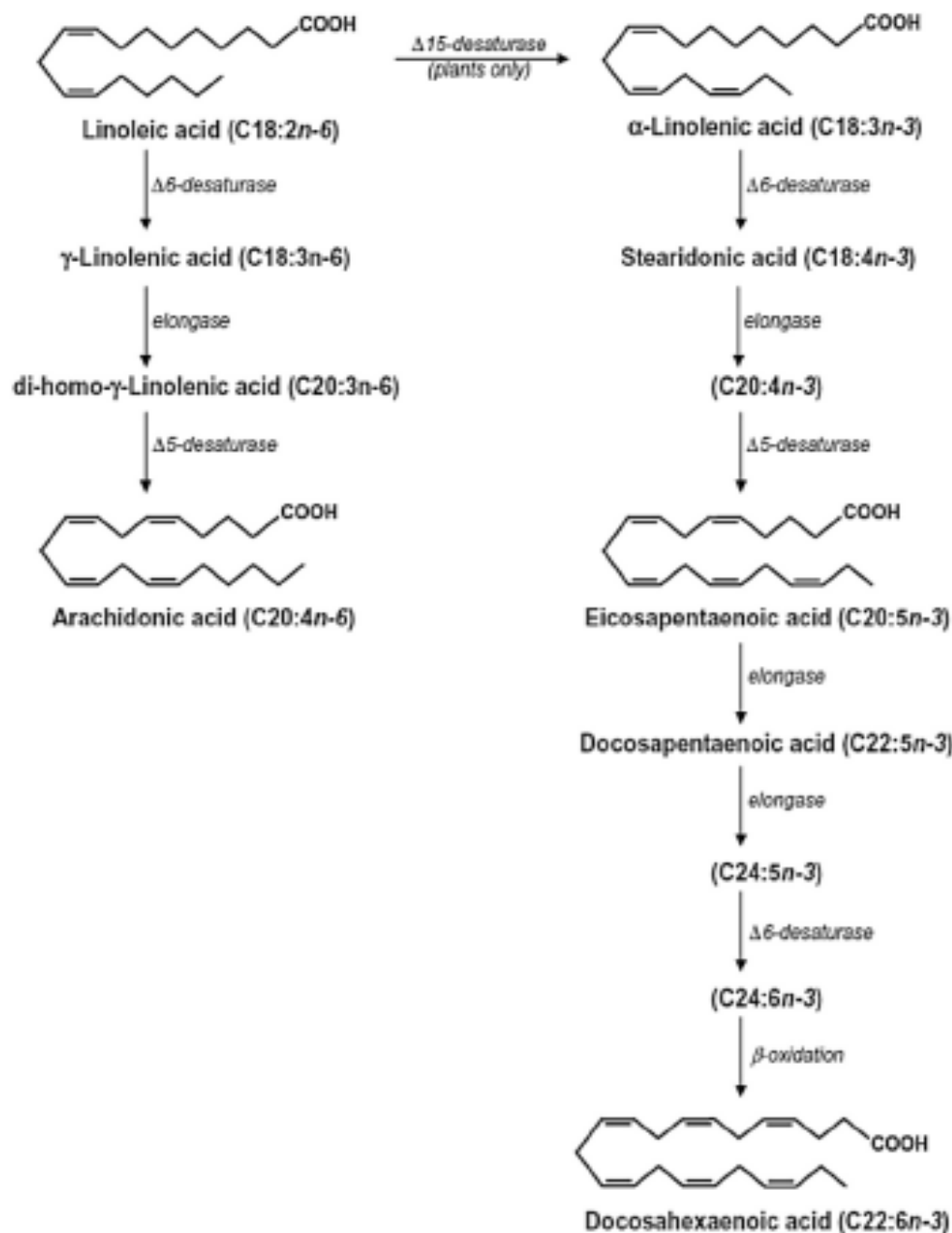


Figure 1. Biosynthesis pathways of omega-6 (n-6) and omega-3 (n-3) polyunsaturated fatty acids (adapted from de Roos et al., 2009 and Dunbar et al., 2014)

In many European countries, estimates of EPA+DHA intake are rather scarce. Mean dietary intakes of these fatty acids among adults have recently reported a daily intake of 265 mg in Austria, 380 mg in France, 250 in Germany and 90 mg in The Netherlands (EFSA, 2009). Recommendations of EPA + DHA intake from international authorities range 200–650 mg per day and are based on the convincing inverse relationship observed

between its consumption and a decreased risk of CVD (WHO, 2003, EFSA, 2005). The American Heart Association (AHA) estimates based on consumption of one portion (125 g) of oily fish (2 g EPA + DHA per 100 g on average) and one portion of lean fish (0.2 g/100 g) result in an approximate intake of 3 g of DHA + EPA per week or 430 mg per day. This association also established intakes of 1 g of EPA + DHA from fish or fish oils for subjects with clinical history of CVD and a

2-4 g supplement for subjects with high blood triglycerides which produces typical 20-40 % reductions (Kris-Etherton, 2003). The French authority for food safety also established recommendations for adult men (500 mg/day) and adult women (400 mg/day) (AFFSA, 2003). Interestingly, although the above mentioned recommended daily intake (RDI) currently used in Europe are well above this value (400-450 mg/day), EFSA argues that the most recent evidence shows that, when only healthy subjects are considered, the intake of EPA+DHA is negatively related to cardiovascular (CV) risk in a dose-dependent way up to 250 mg/day that means 1-2 servings of oily fish per week (EFSA, 2009). According to Su (2009) indicates that 7% erythrocyte DHA is the appropriate target amount needed to prevent affective disorders. In order to achieve the level, the dosage for children should be 400 to 700 mg DHA per day, and for adults 700 to 1000 mg per day. These amounts are consistent with the levels of DHA consumption in the populations that consume large amounts of fish cited above. Marangell et al., (2004) reported that fish oil supplementation (a combination of EPA and DHA 2.96 g per day), starting between 34 and 36 weeks of pregnancy, did not prevent the occurrence of postpartum depression (PPD) in women who had experienced it after previous pregnancies. They observed postpartum depressive episodes in four of seven subjects. The expected rate of recurrence of postpartum depression was 20-60 % reported by Wisner et al. (2001). Epidemiological studies indicate that humans evolved on a diet with a ratio of omega-6/omega-3 polyunsaturated fatty acids of approximately 1, compared to the modern typical western diet where the ratio increased to 10-30:1 (Simpoulos, 2006). This change attributed to the increased intake of omega-6 fatty acids coupled with a decreased intake of omega-3 fatty acids, particularly EPA and DHA. Unfortunately, a high omega-6:omega-3 ratio promotes the pathogenesis of many diseases, including CVD, cancer, and inflammatory diseases, whereas increased levels of long-chain omega-3 fatty acids (lower omega-6:omega-3), with an optimal ratio of 2-4:1, exert suppressive effects due to eicosanoid function (Simpoulos, 2002). For CVD prevention, the National Heart Foundation (NHF) of Australia and the American Heart Association (AHA) recommend two to three servings of oily fish a week or 500 mg/day of EPA/DHA for adults (Colquhoun et al., 2008). Researchers from Taiwan Medical University published a recent study in which they

found that a mixture of 4.4g EPA and 2.2g DHA alleviated depression (versus placebo) in those with treatment-resistant depression. This was a two-month study involving patients who were on anti-depressants that were not working. As with the other omega-3 studies discussed, the fish oil was well-tolerated and no adverse events were reported by Su (2003).

It is well recognized that n-6 PUFAs, especially arachidonic acid are needed for fetal and infant brain development and that n-6 linoleic acid is needed to prevent essential fatty acid deficiency states in humans. Also n-6 PUFAs can contribute to decreasing some factors related to human cardiovascular disease (Deckelbaum and Calder, 2010). The n-6 PUFAs are known to have pro-inflammatory activity which could play important roles in immune function. Typically, human inflammatory cells contain high proportions of the n-6 PUFA arachidonic acid and low proportions of n-3 PUFA. The significance of this difference is that arachidonic acid is the precursor of two-series prostaglandins and four-series leukotrienes, which are highly-active mediators of inflammation (Calder, 2002). The n-3 long chain PUFA content of plasma phospholipids is significantly increased after patients were fed a low n-6 PUFA diet. These data demonstrate that reducing n-6 PUFA intake for 4 weeks increases n-3 long chain PUFA status in humans in the absence of increased n-3 PUFA intake (Wood et al., 2014) Some negative effects have been reported to be associated with adverse events excessive levels of n-6 including associations with obesity (Ailhaud et al., 2008, Anderson et al., 2010, Massiera et al., 2003, Muhlhausler and Ailhaud, 2013), diabetics, cancer, depression etc. (Turan et al., 2013) although more studies are needed to clarify the relationship with n-3 and n-6 mechanisms of these associations.

Conclusions

The continuing accumulation and publication of evidence of the beneficial health effects of PUFAs captured the attention, not only of the medical that is generally becoming aware of the importance of diet to general physical and mental wellbeing. In fact, the two PUFA families that n-3 and n-6 are biologically connected through the cascade of enzymatic transformations that starts immediately after the intake of precursors from the diet. Moreover, after gathering evidence of insufficient intake of omega-3 fatty acids from the diet, the attention to the fatty acid composition present in food increased, thus, leading to an interest in the

n-6/n-3 balance as a measure of a healthy diet. Omega-3 and Omega-6 effects different issues in human health. n-6/n-3 ratio in diet is very important for health. The main dietary sources long chain n-3 PUFAs in nature are fish and marine animals and fish oils for healthy and balanced diets.

At least, common views are 1–2 servings of oily fish per week.

Table 1: Summary of some studies with health benefits of n-3 (omega-3)

References	Impact On Health	Investigations
Dyerberg et al. 1975, 1978	Low incidence of cardiovascular heart disease	Eskimos consume more LC ω -3 PUFAs; lowered plasma triglyceride and cholesterol levels; lowered LDL and VLDL; high immunoreactive anti-thrombin AT-III, heparin cofactor
Mozaffarian et al. 2005	Reduction of chronic heart failure and prevention of cardiovascular disease	EPA + DHA reduce risk of coronary heart disease including acute coronary related sudden death
Biondo et al. 2008	Alters toxicity of chemotherapeutic drugs	EPA and/or DHA alters toxicity and activities of chemotherapeutic drugs
Cicero et al. 2009	Reduced blood pressure	n-3 PUFAs reduce blood pressure via effect on endothelial function
Makhoul et al. 2011	Effects on obesity	Triglycerides and C-reactive protein attenuated in adults with high red blood cell EPA and DHA
Rix et al. 2013	Decrease in cardiac arrhythmia	Evidence for prevention and treatment of atrial fibrillation
Nikolakopoulou et al. 2013	Skin and oral cancer	Selectively inhibits growth and induces cell death in early and late stage cancer
Tousoulis et al. 2014	Lowered triglycerides	n-3 PUFAs lower triglyceride concentrations up to 27%
Tousoulis et al. 2014	Improved endothelial function	Reduce adipogenesis and lipogenesis in adult rodents n-3 PUFAs improve endothelial vasomotor function via improved vasodilation and improved systemic arterial compliance anti-inflammatory effect

References

- Adkins, Y., Kelley, D.S. (2010): Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21: 781-792.
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFFSA) (2003): The omega-3 fatty acids and the cardiovascular system: nutritional benefits and claims; <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/base-doc/rapportomega3.pdf>.
- Ailhaud, G., Guesnet, P., Cunnane, S.C. (2008). An emerging risk factor for obesity: does disequilibrium of polyunsaturated fatty acid metabolism contribute to excessive adipose tissue development? *British Journal of Nutrition*, 100:461-470.
- Anderson, A.K., McDougald, D.M., Steiner-Asiedu, M. (2010). Dietary trans fatty acid intake and maternal and infant adiposity. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64: 1308-1315.
- American Heart Association (AHA) Scientific Statement (2006): Diet and lifestyle recommendations revision: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114: 82-96.
- Arterburn LM, Hall EB, Oken H. (2006). Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83: 1467-1476.
- Biondo, P.D., Brindley, D.N., Sawyer, M.B., Field, C.J. (2008): The potential for treatment with dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids during chemotherapy. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 19: 787-796.
- Calder, P.C. (2002): Dietary modification of inflammation with lipids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61: 345-358.
- Cicero, A.F., Ertek, S., Borghi, C. (2009): Omega-3 polyunsaturated fatty acids: their potential role in blood pressure prevention and management. *Current Vascular Pharmacology*, 7: 330-337.
- Colquhoun, D., Ferreira-Jardim, A., Udell, T., Eden, B. (2008): Fish, fish oils, n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health. Review of Evidence. *National Heart Foundation of Australia*, 1-54.
- Deckelbaum, R.J., Calder, P.C. (2010): Dietary n-3 and n-6 fatty acids: are there 'bad' polyunsaturated fatty acids? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13: 123-124.
- Densupsoontorn, N., Carpentier, Y.A., Racine, R., Murray, F.M., Seo, T., Ramakrishnan, R. (2008): CD36 and proteoglycan-mediated pathways for (n-3) fatty acid enriched triglyceride-rich particle blood clearance in mouse models in vivo and in peritoneal macrophages in vitro. *Journal of Nutrition*, 138: 257-261.
- De Roos, B., Mavrommatis, Y., Brouwer, I.A. (2009): Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: new insights into mechanisms relating to inflammation and coronary heart disease. *British Journal of Pharmacology*, 158: 413-428.
- Dunbar, B.S., Bosire, R.V., Deckelbaum R.J. (2014): Omega 3 and omega 6 fatty acids in human and animal health: An African perspective. *Molecular and Cellular Endocrinology* 398: 69-77
- Dyerberg, J., Bang, H.O., Hjørne, N. (1975): Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *American Journal of Clinical Nutrition*, 28: 958-966.
- Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffersen, E., Moncada, S., Vane, J.R. (1978): Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet* 2: 117-119.
- EFSA (2005): Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. *European Food Safety Authority Journal*, 253: 1-29. http://www.efsa.eu.int/science/nda/nda_opinions/catindex_en.html.
- EFSA (2009): Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *European Food Safety Authority Journal*, 1176: 1-11.

- Francois, C.A., Connor, S.L., Bolewicz, L.C., Connor, W.E. (2003): Supplementing lactating women with flaxseed oil does not increase docosahexaenoic acid in their milk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77: 226-33.
- Freeman, M.P. (2006): Omega-3 fatty acids and perinatal depression: A review of the literature and recommendations for future research Prostaglandins, *Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 75: 291-297.
- Goyens, P.L., Spilker, M.E., Zock, P.L., Katan, M.B., Mensink, R.P. (2005): Compartmental modeling to quantify alpha-linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. *Journal of Lipid Research*, 46: 1474-1483.
- Holub, D. J., Holub, B.J. (2004): Omega3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 263: 217-225.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J. (2002): American Heart Association, Nutrition Committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106: 2747-2757.
- Kris-Etherton, P.M. (1999): Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 100: 1253-1258.
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J., AHA Nutrition Committee, American Heart Association. (2003): Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23: 151-152.
- Makhoul, Z., Kristal, A.R., Gulati, R., Luick, B., Bersamin, A., O'Brien, D., et al. (2011): Associations of obesity with triglycerides and C-reactive protein are attenuated in adults with high red blood cell eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65: 808-817.
- Marangell, L.B., Martinez, J.M., Zboyan, H.A. Chong, H., Puryear, L.J. (2004): Omega-3 fatty acids for the prevention of postpartum depression: negative data from a preliminary, open-label pilot study, *Depress Anxiety* 19(1): 20-23.
- Massiera, F., Saint-Marc, P., Seydoux, J., Murata, T., Kobayashi, T., Narumiya, S., et al. (2003): Arachidonic acid and prostacyclin signaling promote adipose tissue development: a human health concern? *Journal of Lipid Research*, 44: 271-279.
- McGregor, J.A., Allen, K.G.D., Mary, A.H., Reece, M., Wheeler, M., French, J.I., Morrison, J. (2001): The omega-3 story: nutritional prevention of preterm birth and other adverse pregnancy outcomes. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 56: 1-13.
- Mozaffarian, D., Ascherio, A., Hu, F. B., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Siscovick, D. S. (2005): Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*, 111: 157-164.
- Muhlhausler, B.S., Ailhaud, G.P. (2013): Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 20: 56-61.
- Murray-Taylor, F.M., Ho, Y.Y., Densupsoontorn, N., Chang, C.L., Deckelbaum, R.J., Seo, T. (2010): n-3, but not n-6 lipid particle uptake requires cell surface anchoring. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 392: 135-139.
- Nikolakopoulou, Z., Nteliopoulos, G., Michael-Titus, A.T., Parkinson, E.K. (2013): Omega-3 polyunsaturated fatty acids selectively inhibit growth in neoplastic oral keratinocytes by differentially activating ERK1/2. *Carcinogenesis*, 34: 2716-2725.
- Rubio-Rodríguez, N., Beltrán, S., Jaime, I., de Diego, M.S., Sanz, T.M., Carballido, J.R. (2010): Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 1-12.
- Rix, T.A., Christensen, J.H., Schmidt, E.B. (2013): Omega-3 fatty acids and cardiac arrhythmias. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16: 168-173.
- Simopoulos, A.P. (2002): Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: The epidemiological evidence. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 6: 203-209.
- Simopoulos, A.P. (2006): Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic

- variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 60: 502-507.
- Su, K.P., Shih-Yi, H., Chi-Chiang, C., Winston, W.S. (2003): Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*, 13(4): 267-271.
- Su, KP. (2009): Biological mechanism of antidepressant effect of omega-3 fatty acids: How does fish oil act as a 'mind-body interface'?, *Neurosignals*, 17: 144-52.
- Sontrop, Jessica, Campbell, M. Karen. (2006): ω -3 polyunsaturated fatty acids and depression: A review of the evidence and a methodological critique, *Preventive Medicine*, 42: 4-13.
- The World Health Organisation (2003): Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of the WHO/FAO Joint Expert Consultation, WHO, Technical Report Series 916.
- Tousoulis, D., Plastiras, A., Siasos, G., Oikonomou, E., Verveniotis, A., Kokkou, E. (2014): Omega-3 PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 232: 10-16.
- Turan, H., Erkoyuncu, İ., Kocatepe, D. (2013): Omega-3, Omega-6 Yağ Asitleri ve Balık. *Yunus Araştırma Bülteni*, 2:41-46.
- Yaqoob, P., Shaikh, S.R. (2010): The nutritional and clinical significance of lipid rafts. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13: 156-166.
- Vessby, B., Unsitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., Rivellese, A. A., Tapsell, L. C. (2001): Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: the KANWU Study. *Diabetologia*, 44:312-319.
- Visentainer, J.V., Noffs, M. D'A., Carvalho, P. O., de Almeida, V.V., de Oliveira, C.C., de Souza, N.E. (2007): Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the south coast of Brazil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 84: 543-547.
- Wang, C., Chung, M., Lichtenstein, A. (2004): Effects of omega-3 fatty acids on cardiovascular disease. Evidence report/technology assessment no. 94 (prepared by Tufts-New England Medical Center Evidencebased Practice Center, under contract no. 290-02-0022). AHRQ Publication No. 04-E009-2. 94. Rockville, MD, Agency for Healthcare Research and Quality.
- Wisner, K.L., Perel, J.M., Peindl, K.S., Hanusa, B.H., Findling, R.L., Rapport, D. (2001): Prevention of recurrent postpartum depression: a randomized clinical trial, *Journal of Clinical Psychiatry*, 62(2):82-86.
- Wood, K.E., Lau, A., Mantzioris, E., Gibson, R.A., Ramsden, C.E., Muhlhausler, B.S. (2014): A low omega-6 polyunsaturated fatty acid (n-6 PUFA) diet increases omega-3 (n-3) long chain PUFA status in plasma phospholipids in humans. *Prostaglandins Leukot. Essential Fatty Acids*, 90: 133-138.

EVALUATION OF BIOGENIC AMINE DEVELOPMENT OF ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus*) MUSCLE COMPARED TO ITS QUALITY CHANGES AT DIFFERENT CHILLING CONDITIONS

Serkan KORAL¹, Sevim KÖSE²

¹ Recep Tayyip Erdogan University. Faculty of Fisheries, Rize, Turkey

² Karadeniz Technical University, Faculty of Marine Sciences, Çamburnu, Trabzon, Turkey

Received: 16.04.2015

Accepted: 02.06.2015

Published online: 12.06.2015

Corresponding author:

Serkan KORAL, Recep Tayyip Erdogan University.
Faculty of Fisheries, 53100, Rize, Turkey

E-mail: serkan.koral@erdogan.edu.tr

Abstract:

This study investigates biogenic amine development (BA) vs. sensory, chemical and microbiological quality loss of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) at three different chilled storage conditions which are commonly applied for fresh market and/storage prior to processing. The contents of BAs and sensory, chemical and microbiological quality parameters of anchovy were analysed daily during storage. Significant variations occurred ($p<0.05$) in the sensory, chemical and microbiological values among the storage groups. The highest shelf-life was found as 8 days for samples kept in chilled freshwater. Water-ice mix application resulted in lower TBA content indicating beneficial effect on its quality. Histamine results closely supported sensory values in terms of legally permitted levels set by US Food and Drug Administration (FDA). Histamine

forming bacteria counts supported the formation of histamine in most groups while total bacteria counts were in agreement with sensory results in terms of acceptability. Moreover, some existing formulated indexes created from various BA levels were not found suitable to estimate spoilage degree of anchovy kept at these conditions. This study suggests that using ice and water-ice mix can improve shelf-life of anchovy stored at refrigerated temperatures in terms of food quality and safety. The results of this study can be used to guide seafood industry for testing fresh anchovy quality and safety at different chilled conditions.

Keywords:

Anchovy, Chilled storage, Chilled-freshwater, Sensory analysis, Histamine, Quality changes

Introduction

Anchovy is a pelagic species belonging to the *Engraulidae* family (Sahin and others 2008). It is one of the most significant captured species in the world fisheries consisting of about 10.4% of total captured marine fish in 2010 (FAO 2014). European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) ranks the third amongst the common anchovy species with a production about 489.297 tons in 2012. It is ecologically and economically the most important fish for the Black Sea ecosystem (Sahin and others 2008; TÜİK 2014).

Anchovy is a well liked and commonly consumed fish species of the world (FAO 2014). Although frozen storage is preferred for marketing of whole and/or headed and gutted anchovy, for longer distance and to extend shelf life to a long period up to a year, fresh market still exists, particularly in Turkey. Varying storage conditions are applied for anchovy prior to fresh market and processing in the world. Therefore, quality and safety in particular with histamine health risk of anchovy at these conditions are of interest. Its small size limits application of mechanical pre-processing activities (i.e. heading, gutting and filleting). Therefore, manual processing is usually used for such applications resulting in longer handling and storage period of raw material before and during processing, even prior to freezing. Moreover, anchovy has a limited catching season with high volume production in a short period causing the most catch going to fish meal-oil factories. So, the majority of the world's anchovy catch is processed for fish meal-oil and the rest for non-human consumption (Eurofish 2012). Its small size makes it particularly susceptible to belly bursting, often produced by autolytical breakdown and the quality of processed anchovy closely depends on the initial quality of raw material (Soerensen and Motta 1989; Montaner and Zugarramurdi 1995; FAO 2014). For these reasons, effective storage applications to slow down spoilage is necessary to allow a longer processing and marketing period for this species.

Fish spoilage is mainly affected by bacterial activity, and other than sensory quality loss, some compounds, such as biogenic amines (BAs), can be formed by bacterial decarboxylation of precursor amino acids leading to food safety issues. Most reports have focused on histamine which is reported to cause scombrototoxin poisoning, closely linked to the consumption of

fish kept at abused time/temperature conditions and species belonging to different families including *Engraulidae* due to high content of free histidine in their muscle (Lehane and Olley 2000; EU Directive 2005a). Other BAs, such as putrescine and cadaverine may enhance the toxicity effects of histamine. Several BAs are also known to associate with fish decomposition and the formation of cancerous nitrosamines (Lehane and Olley 2000; Pons-Sánchez-Cascado and others 2006a).

Previous studies demonstrated the advantage of refrigerated temperature or iced conditions over ambient storage of anchovy in terms of quality and BA formation for *E. encrasicolus* (Varlık and Heperkan 1990; Köse and Erdem 2004). However, short shelf-lives were obtained by either application. Moreover, dry fish surface is caused by cold air during refrigerated storage. Therefore, recent storage applications of fish prefer to use combination of ice in cold stores for fish preservation. The benefit of ice and/ice+saltwater application at cold stores was demonstrated by few studies mainly for different anchovy species from different seas (Soerensen and Motta 1989; Montaner and Zugarramurdi 1995; Köse and Erdem 2004; Pons-Sánchez-Cascado and others 2006a; Chotimarkorn 2011). However, no study exists on the quality changes of anchovy stored at the relevant conditions in comparison with its BA contents. Moreover, none of the mentioned studies covers the anchovy, *E. encrasicolus* caught from Black Sea. Therefore, this study aims to investigate the relationship between commonly used spoilage/quality parameters, and the levels of histamine and other BAs during storage of anchovy at different chilled temperatures.

Materials and Methods

Experimental design

Fresh anchovies were obtained directly from a fishing boat in the port of Rize, Turkey. The origin of fish was tracked as they were caught from the South-eastern Black Sea in January and kept in watertight expanded polystyrene boxes (EPS) in ice for 5h after catching and during transporting to the port. Three EPS boxes containing anchovies in ice, about 14-16kg each, were transferred to laboratory within 1h. Fish were immediately washed with tap water. Approximately 30 kg randomly chosen fish were divided into 3 groups weighing about 10 kg each (Fig. 1). The average length and

weight of fish were 11.89 ± 1.46 cm and 10.35 ± 1.12 g, respectively. Each group was kept in plastic containers (width: 62 cm, length: 39 cm, height: 33 cm). Ice application on fish (for group IR) was carried out layer by layer. The containers were covered with plastic wrap (cling film). All samples were stored in a refrigerator at $4^\circ\text{C} \pm 1$ (Arçelik, 8810NF, Turkey). The sample groups were;

- (i) Control: Refrigerated fish without ice (CR): Storage in cold air
- (ii) Iced storage in refrigerator (IR): Fish and ice ratio, (1:1 w/w)
- (iii) Storage in chilled-freshwater (chilling supported with ice) at refrigerator (IFWR): Fish and freshwater-ice mix ratio, (1:1 w/w).

Sampling was carried out daily by randomly choosing anchovies until the products were spoiled based on sensory results. The ice was flake ice type obtained freshly from an ice maker (Hoshizaki, FM-80EE, Amsterdam, Netherlands). Ice and freshwater+ice mix were changed daily. The internal temperatures of fish in each group were measured on a daily basis using digital thermometer (Thermor PS100, Ontario, Canada). The refrigerator temperature was $4 \pm 1^\circ\text{C}$, fish temperatures were $4.1 \pm 0.7^\circ\text{C}$ for CR, $1.8 \pm 0.6^\circ\text{C}$ for IR, $1.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ for IFWR.

Sensorial evaluation

Sensory analysis was carried out using eight experienced seafood quality assessors (panellists chosen from faculty staff) who judged the freshness

of the samples using 10-point scale modified from Botta (1995) and Archer (2010). The panellists were comprised of 6 male and 2 females (5 academician and 3 administration staff). The subjects were qualified after passing the screening tests stated by Botta (1995). The panellists were chosen from previously trained 20 people who are regular anchovy consumers according to criteria given by Botta (1995).

Table 1 shows the sensory score sheets used to evaluate anchovy samples. This structured category scale is based on the traditional freshness quality grading system for whole iced and refrigerated anchovy. According to scale, 4 is limit for acceptable/unacceptable, <4: unacceptable. The results were presented as the means of data obtained from 8 panellists.

Triplicate samples (3-4 randomly selected fish) were taken at order intervals from each group for each day to evaluate their quality criteria at the sensory laboratory section. Fresh anchovy was also included in the evaluation starting from 2nd day to support the judgement of assessors as a reference sample (although the panellists were blind to its code). Different samples were simultaneously presented in plates coded. The panellists were expected to give the same score for the triplicated samples for the same group at the same sampling day. They were also expected to give the highest score for the blinded reference sample (freshly caught anchovy).

After the sensory analysis, the fish were used further for chemical analysis.

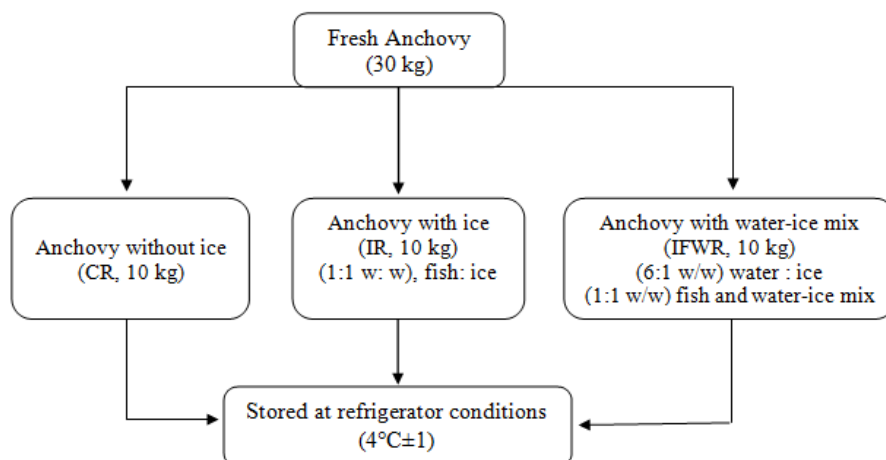


Figure 1. Experimental design

Table 1. Sensory score sheet used for fresh anchovy samples

Score	General Appearance						
	Eyes	Gills	Skin	Flesh	Appearance of Abdomen (Belly Walls)	Odour	Texture
10	Clear, transparent, Convex shape, Bright black and circular pupil	Bright red, clear (no slime)	Intact skin, Very bright colours, iridescence bluish violet, Transparent watery mucus	Velvety, translucent, glossy, fresh bright blood on fillet	Intact, firm	Seaweedy odour, peppery	Firm, stiff, smooth
9	Slightly convex, clear black pupil	Red, clear	Bright, slight iridescence, Clear mucus	Slight translucency, rosy, hue, bright blood on fillet.	No belly burst.	Slight loss of seaweedy odour, Oily	Loss of stiffness, still firm, smooth.
8	Flat, slightly convex, central opacity, dull black pupils	Red, slight brown, slight slime	Loss of brightness iridescence not bluish, Slightly cloudy mucus, slightly broken skin	Slight translucency, slight discoloration of belly flaps.	No belly burst or very slight belly burst.	Slightly seaweedy Oily	Less tense, slight softening, smooth.
7	Flat, slightly convex, central opacity, dull black pupils	Dull red, slight slime	Slightly dull, slightly broken skin, cloudy mucus	Slightly opaque, slightly brown, slight discoloration of belly flaps.	Slight belly burst.	Oily	Limp, slightly soft, slightly gritty.
6	Plane & flat eyes, slightly cloudy cornea, grey pupils	Brownish red, some slime	Dull, easy to break skin, cloudy mucus	Opaque, dull, brown, reddening on belly flaps. Pink	Slightly belly burst	Metallic, Neutral	Limp, slightly soft, slightly gritty
5	Flat, slightly sunken, slightly cloudy cornea, grey pupil, not so circular	Brownish red, discolouring, slime, bleached	Dull, Torn or damaged skin, cloudy mucus	Opaque, dull, brown, reddening on belly flaps. Pink	Definite belly burst.	Slightly rancid	Flaccid, soft (post rigor)
4	Concave, slightly sunken eyes, grey and distorted pupils, Cloudy cornea	Brownish red, Discolouring, slime, bleached	Dull, Torn or damaged skin, cloudy mucus	Brown, discoloured belly flaps and tail. Waxy, pink	Definite belly burst	rancid or sweet, acid, metallic	Flaccid, soft (post rigor)
3	Sunken eyes, grey pupils, cloudy cornea	Discoloured, Pink, bleached, brown slime, slats stick together	Dull colour, Torn and damaged skin, Plentiful (slippery) yellowish brownish mucus	Wax-like matt, dense, dark red colour (brownish colour)	Burst, very soft	Sour, stale blood	Flaccid, soft (post rigor)

Analysis of Chemical Quality parameters

The method of Lücke and Geidel (1935) was used to determine total volatile base-nitrogen (TVB-N) content as described by Goulas and Kontominas (2005). Thiobarbituric acid value (TBA) was estimated according to Smith and others (1992). The method of Boland and Paige (1971) was used for analyzing trimethylamine nitrogen (TMA-N).

Analysis of Biogenic Amines

Biogenic amines were analyzed using a high performance liquid chromatography (HPLC) method according to Köse and others (2012) and Koral and Köse (2012). HPLC equipment was Shimadzu Prominence LC-20 AT series (Japan) with autosampler (SIL20AC, Shimadzu, Japan), a Diode Array Detector (SPD-M20A, Shimadzu, Japan) and Intersil column (GL Sciences, ODS-3, 5 μ m, 4.6 \times 250mm). The HPLC method used was a modified method of Eerola and others (1993) and EU suggested methods (Malle and others 1996). To extract BAs, 10mL of 0.4M perchloric acid was added to 5g sample, and the mixture was homogenized using Ultra-turrax homogenizer (IKA T 25, Digital, Germany) in an ice bath and centrifuged (MPW 350R, MPW Med. Instruments, Warsaw, Poland) at 3,000g at 4°C for 10min. The supernatant was collected, and the residue was extracted again with 10 mL of 0.4M perchloric acid solution. Both supernatants were combined and filtered through Whatman paper (No. 42). The final volume was adjusted to 25mL with 0.4M perchloric acid.

Each sample extract was mixed with 100 μ L of 2N sodium hydroxide and 150 μ L of saturated sodium bicarbonate. One millilitre of a dansyl chloride solution (10mg/mL) prepared in acetone was added to the mixture, mixed well and then incubated at 40°C for 45min and cooled down to room temperature in 10min. Then, the residual dansyl chloride was removed by the addition of 50 μ L 25% ammonia solution. After 30-min incubation at room temperature, the extract was adjusted to 5 mL with ammonium acetate: acetonitrile mixture (1:1 v/v) and mixed well with a vortex (Nuve NM 110, Ankara, Turkey). Extract was filtered through 0.45- μ m-pore-size filters (Millipore Co., Bedford, MA, USA) and injected to HPLC. The gradient elution system was 0.1M ammonium acetate as solvent A and acetonitrile as solvent B. Gradient elution was initiated with 50% A and 50% B and terminated in 19 min with 90% B, run time 20 min. The system was equilibrated for 8 min before next run. The

flow rate was 1.3mL/min), and 20 μ L sample was injected onto the column. Column temperature was 40°C, and amines were detected at 254nm.

The quality and biogenic amine index parameters were calculated as described by Koral and Köse (2012). All chemical analysis were carried out in triplicate sampling, and results were represented as means \pm SD.

Bacterial analysis

Total aerobic viable bacteria counts (TVC) were enumerated using plate count agar according to Köse and others (2001). Twenty-five grams of samples was aseptically weighed into a sterile stomacher bag containing 225mL of sterile physiological saline (0.85%) and homogenised using a stomacher (Mayo, HG400V, Italy) for 4 min at the highest speed (4. step). Further decimal dilutions were prepared in physiological saline (0.85%). Total aerobic viable psychrotrophic and mesophilic microorganisms were counted using plate count agar incubated at 4°C for 8 days for psychrotrophic microorganisms and at 37°C for 48h for mesophilic microorganisms. Histamine-forming bacteria (HFB) were determined according to Yoshinaga and Frank (1982) using a modified Niven's medium (Niven and others 1981) by adjusting the pH to 6.5. Total HFB isolation agar contains 0.5% tryptone, 0.5% yeast extract, 2.35% L-histidine-HCl, 0.5% NaCl, 0.006% bromocresol purple, 0.1% CaCO₃ and 2% agar. Total mesophilic and psychrophilic HFB were determined using the same condition applied for TVB. Microbial counts were carried out in duplicate and expressed as log cfu/g. Triplicate samples were used for each type of analysis while each analysis was performed in duplicate. Counts of bacteria were expressed as log cfu/g. The results were presented as means of all counts \pm SD.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed in JMP software (Version 8, SAS Institute. Inc., Cary, NC, USA) (Sokal and Rohlf 1987). Analysis of variance (ANOVA) was used to compare the results within the groups as well as during storage period. When significant differences were found, comparisons among data were carried out by using Tukey test. A significant level of 95% ($p < 0.05$) was used throughout analysis.

Other measurements

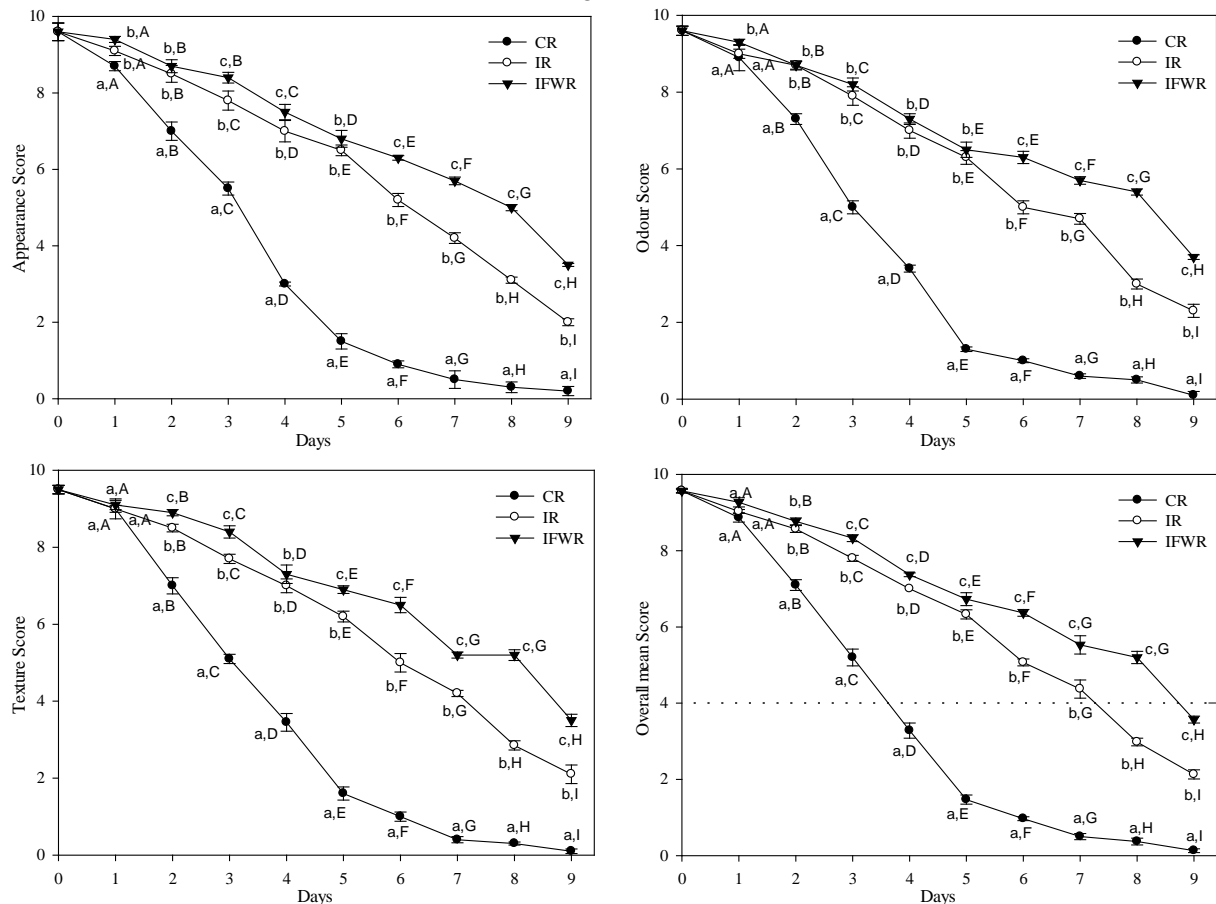
Moisture analysis was performed to calculate the weight gain of the samples. Moisture content was

determined by oven-drying of 5g of fish muscle at 105°C until a constant weight was obtained using the AOAC method (AOAC 1995, Method 985.14). Internal temperature of fish in each group was measured on a daily basis using a digital thermometer (Thermor PS100, Newmarket, Canada).

Results and Discussion

Figure 2 represents sensory results of all storage groups with the exception of reference sample. The panellists' scores for appearance, texture and odour (flavour) significantly decreased with time ($p < 0.05$) for all groups. Significant changes occurred between the control group and others starting from the 1st day of storage ($p < 0.05$) for each sensory parameter. Scores for appearance significantly varied between group containing ice (IR) and chilled freshwater with ice (IFWR) starting

from 3rd day until the end of storage period ($p < 0.05$). A similar situation occurred for overall sensory data. The variation in the scores of texture and odour were found significant amongst the groups within the same day throughout storage with some exceptions ($p < 0.05$). According to overall sensory data, control group spoiled on the 4th day with a dull appearance and dryness on the surface. Using ice extended the sensory life for 4 days. Application of chilled freshwater using ice further improved the quality attributes for one more day. Therefore, the best quality attributes were observed for the group in chilled freshwater with 8 days of shelf-life. Different storage conditions were reported in literature for anchovy stored at different conditions including ambient and chilled conditions (Varlık and Heperkan 1990; Abbey 1998; Köse and Erdem 2004).



'4' limit for acceptability/unacceptability, Different lowercase letters represents statistical differences among groups ($p < 0.05$).

Different uppercase letters represents statistical differences amongst different days within the same group during storage ($p < 0.05$).

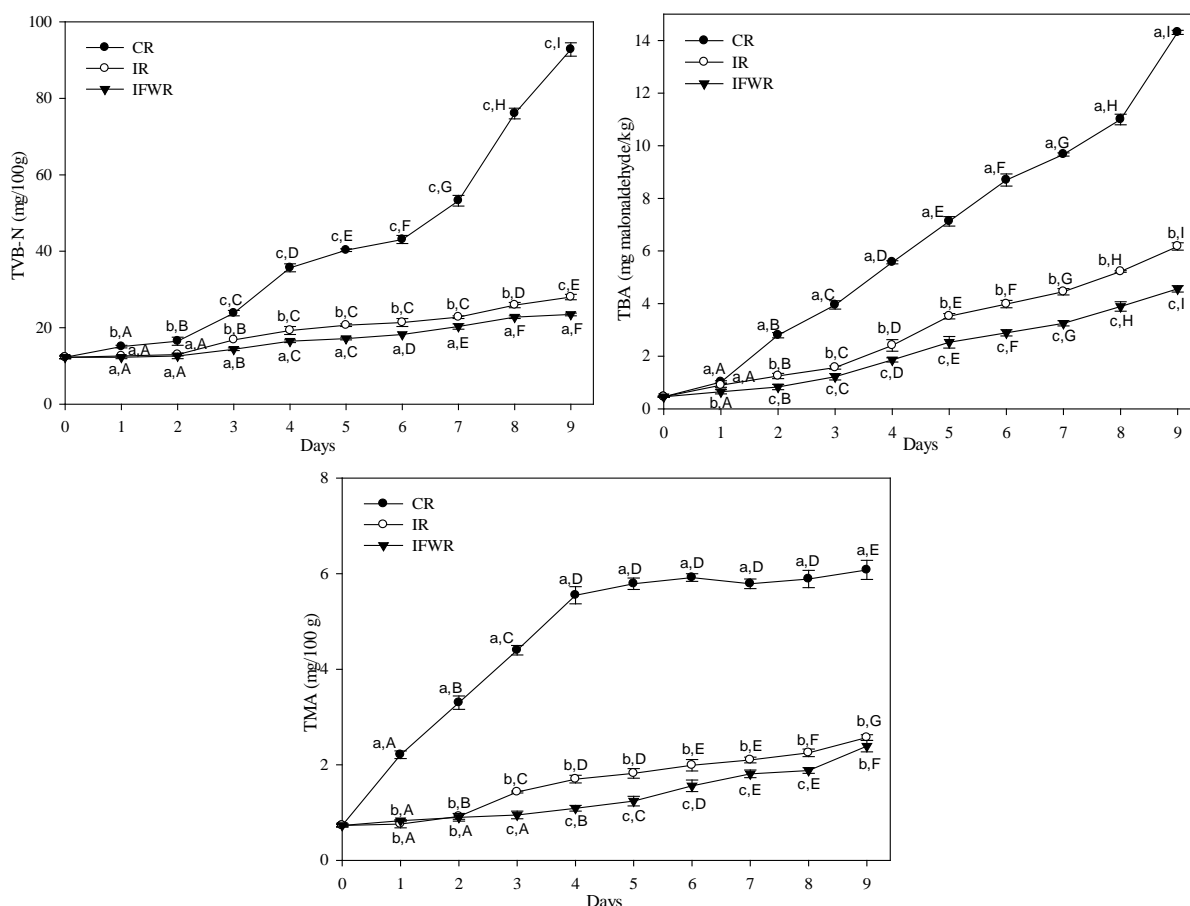
CR: Control, IR: Anchovy in ice, IFWR: Anchovy in water-ice (chilled-freshwater)

Figure 2. Sensory values of different anchovy storage groups

Figure 3 shows chemical quality changes of anchovy stored at three different conditions in refrigerator. The values of TVB-N increased significantly with increasing storage time for all groups ($p < 0.05$). Significant differences were also observed between control and the experimental groups starting from the 1st day of storage, and between group containing ice and group kept in chilled freshwater starting from the 2nd day of storage period ($p < 0.05$).

Varying levels of TVB-N have been suggested for different fish products to assess their freshness in literature (Connell 1990; Huss 1988). The European Union sets varying TVB-N limits as 25-35 mg/100 g for unprocessed fishery products which shall be regarded as unfit for human consumption where organoleptic assessment has raised doubts as to their freshness (EU Directive 2005b & 2008). However, anchovy is not included in EU regulation. Therefore, TVB-N levels can be used only in support of sensory values.

According to TVB-N values, the control group reached the spoilage limit on the 4th day which was also supported by the sensory results. The experimental groups (IR and IFWR) were within the acceptable level throughout the storage period. On the other hand, anchovy kept in chilled freshwater conditions had significantly lower TVB-N values than the group stored in ice ($p < 0.05$). The TVB-N results also indicated that using ice and chilled freshwater at refrigerated temperature for anchovy storage have the advantage on the slowing down TVB-N development while prolonging the storage life. Similarly, Castañón and Barral (1990) demonstrated low TVB-N values for anchovy (*E. anchoita*) stored in ice kept at 0°C and chilled seawater. Our results were in accordance with the observation of Careche and others (2002) for the same species. These authors observed lower TVB-N values for anchovy stored in EPS boxes containing chilled freshwater with ice in comparison with the group kept in ice without water.



TVB-N: Total Volatile Basic Nitrogen, TBA: Thiobarbituric acid, TMA: Trimethylamine, Different lowercase letters represents statistical differences among groups ($p < 0.05$). Different uppercase letters represents statistical differences amongst different days within the same group during storage ($p < 0.05$). CR: Control, IR: Anchovy in ice, IFWR: Anchovy in water-ice (chilled-freshwater).

Figure 3. The changes of TVB-N, TBA, TMA during storage of different anchovy storage groups

Trimethylamine is a pungent volatile amine often associated with the typical "fishy" odour of spoiling seafood. Its presence in spoiling fish is due to the bacterial reduction of trimethylamine oxide which is naturally present in the living tissue of many marine fish species. Although TMA is believed to be generated by the action of spoilage bacteria, the correlation with bacterial numbers is often not very good (Huss 1995). A suggested acceptable level is reported as 12 mg/100 g (Goulas and Kontominos 2005). Initial TMA-N values were 0.7 ± 0.0 mg/100g and significantly increased throughout storage period for all experimental groups with some exceptions (Fig. 3). Significant variations observed between control and other groups starting from the 1st day of storage, and between the experimental groups (i.e. IR and IFWR) starting from the 3rd day until the end of storage period ($p < 0.05$). The lowest TMA-N values were found for the group in chilled freshwater while the highest was obtained for the control group. The values were within the acceptable levels for TMA throughout the storage. Therefore, TMA values did not support the sensory results for the control group.

TMA values obtained in this study were close to the findings reported by Careche and others (2002), Köse and Erdem (2004) and Pons-Sánchez-Cascado and others (2006b) for anchovy stored at similar chilling temperatures. However, higher TMA values were reported by Veciana-Nogues and others (1990), and Mol and others (2007) for this species stored in refrigerator. The differences might have caused due to different initial handling procedures prior to refrigeration. Higher TMA-N values were also obtained for different anchovy by Chotimarkorn (2011) and Rodtong and others (2005).

The TBA is a by-product of lipid oxidation and represents the degree of rancidity in products, is used to determine the quality of fish, particularly fatty fish. TBA value in good quality chilled fish is reported between 5 and 8 mg malonaldehyde/kg whereas levels of 8 mg malonaldehyde/kg flesh are generally regarded as the limit of acceptability for most species Schormüller (1969). The values of TBA increased significantly depending on time and significant variations were also observed between control and the other groups ($p < 0.05$) (Fig. 3). The control group reached an unacceptable limit on the 6th day while others were within the levels of good quality. Therefore, TBA values supported histamine levels set by EU regulation.

The lowest value was found for IFWR indicating the advantage of using iced freshwater at refrigerated storage. The results of Carache and others (2002) supported our findings. In our earlier study, TBA levels were unacceptable value on the 5th day at refrigerated storage (Köse and Erdem 2004).

Initial counts of mesophilic and psychrotrophic total viable bacteria, and total mesophilic and psychrotrophic histamine forming-bacteria (HFB) were 3.4 ± 0.1 , 2.9 ± 0.1 , 2.6 ± 0.1 and 2.9 ± 0.1 log cfu/g, respectively. The values significantly changed during storage ($p < 0.05$) for all groups (Fig. 4). Bacteria growth was faster for the control group. It could be ascribed that application of ice and/or chilled-freshwater during storage can reduce the microbial growth in a great extent. Although there were significant differences within all groups for the bacteria counts ($p < 0.05$), the differences were found lower between groups stored in ice and chilled freshwater with ice with the lowest counts representing samples kept in chilled water. Castañón and Barral (1990) also obtained lower bacteria counts for samples stored at chilled-seawater in comparison with the samples kept ice. Lower counts were attributed by the washing effect of water. This could also explain the low bacteria numbers in our results.

Initial bacteria counts can vary depending on season and region of fish caught, and handling conditions (Careche and others 2002). Therefore, previous authors reported varying levels in bacteria counts for anchovy caught at different seas (Castañón and Barral 1990; Ayala and others 2001; Careche and others 2002; Pons-Sánchez-Cascado and others 2006a; Chotimarkorn 2011) and some of them supported our findings. The recommended TVC limit for fresh fish consumption is reported between 6–7 log cfu/g (ICMSF 1992; Chotimarkorn 2011). TVC exceeded the recommended value on the 5th and 6th days for psychrotrophic bacteria and mesophiles, respectively for control group while the levels were below the suggested limit for the group stored in chilled freshwater throughout the storage. Mesophilic counts for the group stored in ice were below 6 log cfu/g on the 9th day of storage, the levels were unacceptable for psychrophiles on the 8th day. Sensory results supported microbial counts only for psychrotrophic bacteria for group kept in ice. For the other groups, samples were unacceptable depending on organoleptic judgment by the panelists despite the microbial counts were still below the suggested limits. Although Mol and others

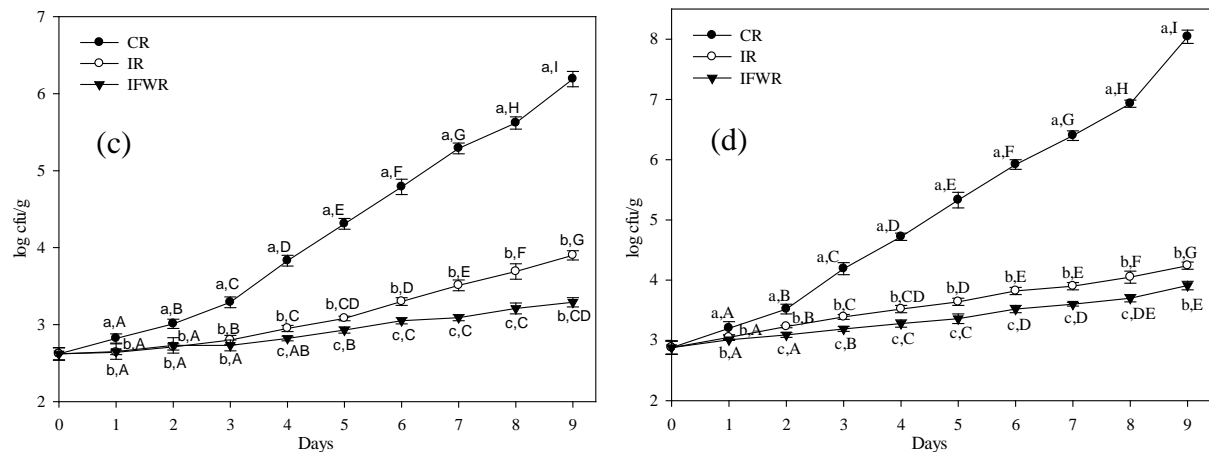
(2007) obtained higher psychrotrophic and lower mesophilic bacteria growth for anchovy stored at refrigerated storage, their results indicated that estimation of the psychrotrophic microorganisms gives better results to the shelf-life estimation of chilled fish than mesophilic bacteria which also supported by our findings.

Both mesophilic and psychrotrophic TVC supported TVB-N and TBA values for IFWR group. However, none of the values correlated with TMA-N values in terms of rejection limits of TVC obtained for all groups. Chaouqy and Marrakchi (2005) obtained lower initial bacteria counts at ice storage of anchovy kept also at refrigerator followed by lower bacteria growth. Faster psychrotrophic bacteria growth at refrigerated storage was observed by Köse and Erdem (2004).

Various histamine-forming-bacteria (HFB) are reported including mainly members of the genera *Klebsiella*, *Morganella*, *Vibrio*, *Photobacterium* and others (Lehane and Olley 2000; Rodtong 2005; Köse 2010). Initial HFB in fish is important since previously formed histamine decarboxylases can continue to decarboxylase histidine to histamine even when histamine decarboxylase positive bacteria are no longer viable (Köse 2010). Initial HFB counts were 2.6 ± 0.1 log cfu/g for mesophiles and 2.9 ± 0.1 log cfu/g for psychrotrophic bacteria. The counts also increased significantly throughout

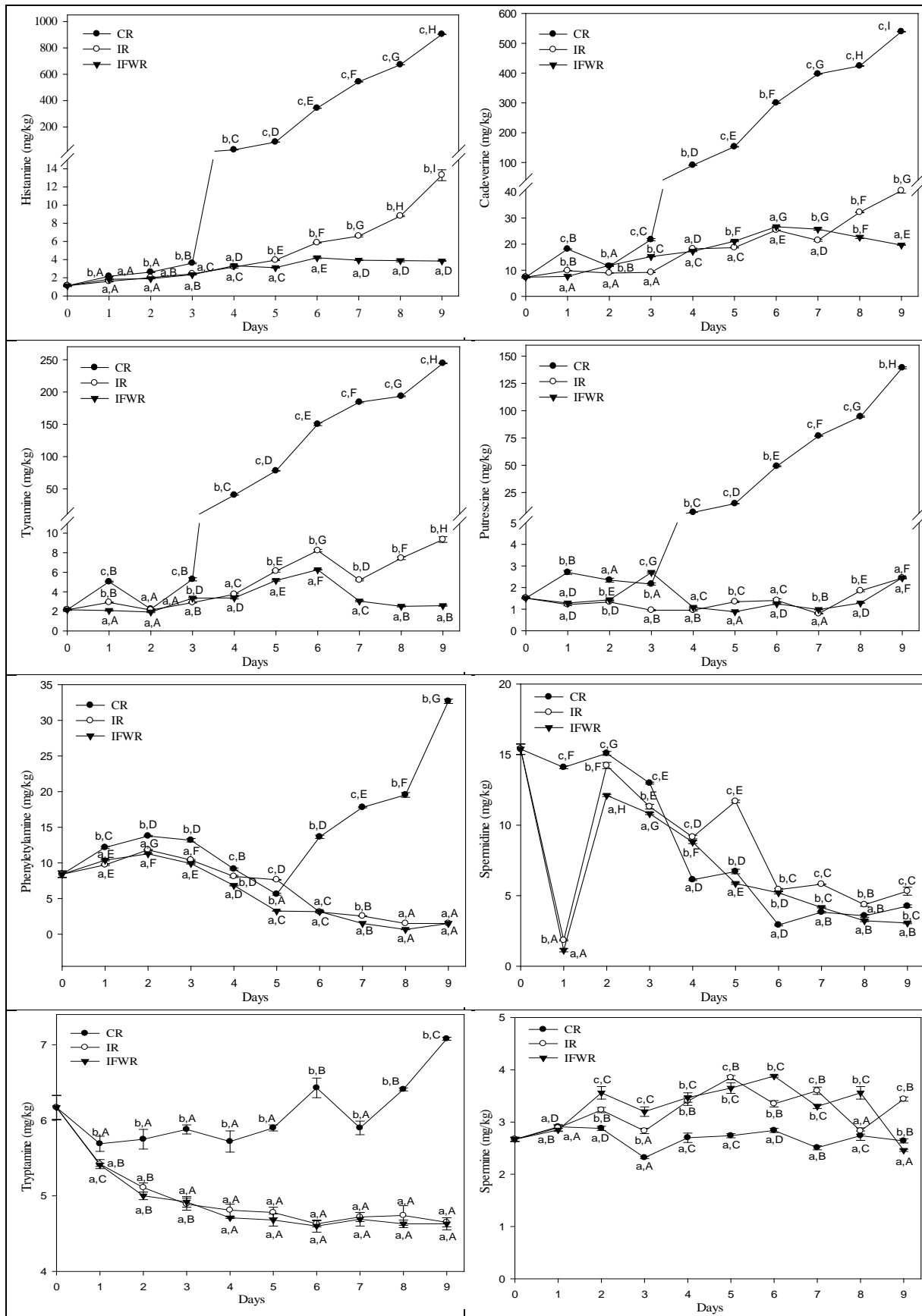
the storage period for all experimental groups ($p < 0.05$).

Figure 5 represents the results of biogenic amines (BAs). Significant variations occurred in the values of BAs depending on storage life and the groups with some exceptions ($p < 0.05$). With the exception of spermidine and spermine, the levels of BAs significantly increased for control group throughout the storage period ($p < 0.05$). Among BAs, only histamine is regulated for certain fish and fisheries products. The European Regulation permits up to 100 ppm for fresh and processed fish, and 200 ppm for fishery products which have undergone enzyme maturation treatment in brine (EU Directive 2005a) while FDA allows less than 50 ppm (FDA 2011). Anchovy is in the list of regulated fish species due to its high histidine content (Veciana-Nogués and others 1996). At the beginning of storage trial, histamine level was 1.1 ± 0.1 ppm and increased significantly throughout the storage ($p < 0.05$). Histamine values reached an unacceptable level set by FDA on the 5th day as 85.4 ± 0.6 ppm and by EU and 6th day as 342.9 ± 1.5 ppm for control group. The values were below 14 ppm for the group kept in ice and < 4 ppm for the group stored in chilled freshwater at the end of storage. These levels are well below the permitted levels set by various authorities.



Different lowercase letters represents statistical differences among groups ($p < 0.05$). Different uppercase letters represents statistical differences amongst different days within the same group during storage ($p < 0.05$). CR: Control, IR: Anchovy in ice, IFWR: Anchovy in water-ice. a) Total viable mesophiles b) Total viable psychrophiles c) Total mesophilic histamine forming bacteria d) Total psychrophilic histamine forming bacteria

Figure 4. Microbial changes of anchovy muscle during storage



Different lowercase letters represents statistical differences among groups ($p < 0.05$). Different uppercase letters represents statistical differences amongst different days within the same group during storage ($p < 0.05$). CR: Control, IR: Anchovy in ice, IFWR: Anchovy in water-ice (chilled-freshwater)

Figure 5. The changes in the levels of biogenic amines for anchovy storage groups

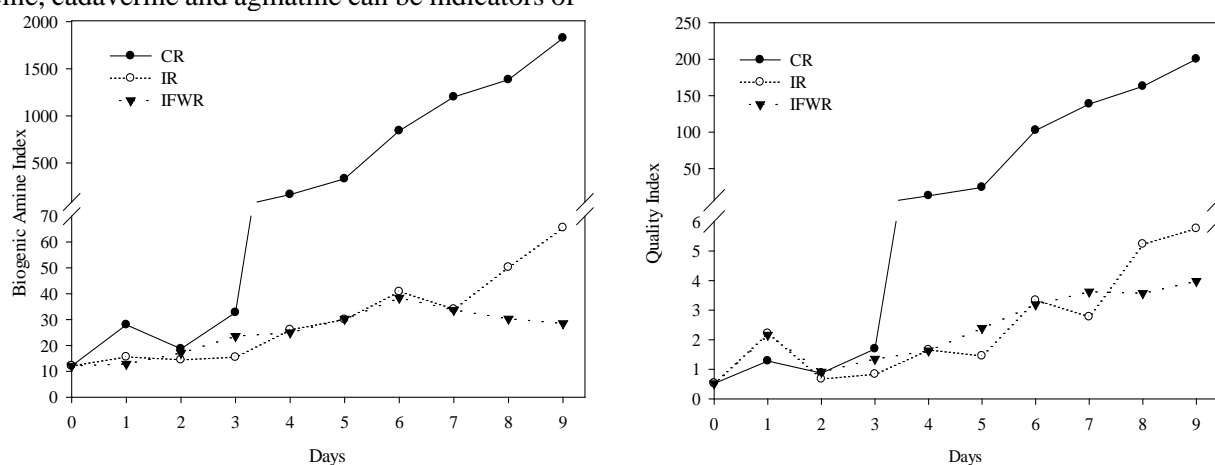
The results of Chaouy and Marrakchi (2005), Rodtong and others (2005), and Pons-Sánchez-Cascado and others (2006a) also supported our findings in terms of low histamine values developed in anchovy kept in ice at a refrigerated room. However, Chotimarkorn (2011) found higher histamine levels at the same conditions for a different anchovy species (*S. heterolobus*) from Thailand indicating the different storage behaviour of different anchovy species. Unacceptable histamine values were reported within 1-3rd day of refrigerated storage by different studies (Veciana-Nogués and others 1990; Köse and Erdem 2004) indicating the benefit of combining refrigerated storage conditions for this species with ice and/or chilled water applications. Therefore, storing fish in ice or in chilled water while in refrigerated or chilled rooms is recommended to delay histamine formation prior to processing or fresh fish market.

Significant decrease in the levels of spermidine occurred for all groups ($p < 0.05$). A similar trend also occurred for the contents of phenethylamine, tyramine and tryptamine for the experimental groups only, while fluctuations were observed in the values of cadaverine, putrescine and spermine for these groups throughout the storage period ($p < 0.05$). The levels of these BAs were usually below 10 ppm at the end of storage period. Pons-Sánchez-Cascado and others (2006a), and Chotimarkorn (2011) found similar trends for the most BA levels in anchovy stored under similar iced storage conditions.

Some food migraines are related to BAs, particularly tyramine and phenylethylamine. Moreover, some BAs, mainly histamine, tyramine, putrescine, cadaverine and agmatine can be indicators of

freshness or spoilage in fish: 100-800 ppm of tyramine and 30 ppm of phenylethylamine have been reported to be toxic doses in foods, respectively (Koral and Köse 2012). Our study showed that the levels of tyramine and phenylethylamine only reached toxic levels for control group on the 6th and 9th days, respectively. Therefore, the results show the advantage of using ice and chilled freshwater application during refrigerated storage to slow down various BA development in anchovy. Therefore, the benefit also applies to seafood safety by preventing histamine development in anchovy.

Biogenic amines are also suggested being used for the evaluation of fish spoilage and different indexes were reported by previous authors for various fish species (Mietz and Karmas 1977; Veciana-Nogues and others 1997). Pons-Sánchez-Cascado and others (2006a) studied the suitability of a BA index (BAI) to evaluate the freshness of anchovies stored in ice by comparison of different reported criteria. They suggested an acceptability limit of BAI for anchovy stored in ice as 15 ppm. In the present study, initial BAI of anchovy was 12.1 and quality index (QI) was 0.5 (Fig. 6). The values increased throughout storage. However, fluctuations in both BAI and QI values occurred for all sample groups. Decreasing levels for BAI seems to be affected by the decreasing levels of tyramine. Fluctuations in QI levels were also affected by the variations in BAs used in the calculations (Mietz and Karmas 1977; Veciana-Nogues and others 1997). Various other researchers obtained different levels of amine indexes in relation to spoilage for different fish species as revised by Al-Bulushi and others (2009).



CR: Control, IF: Anchovy in ice at refrigerator, IFWR: Anchovy in water and ice mixture at refrigerator

Figure 6. The results of BAI and QI for different anchovy storage groups

Sensory values closely supported histamine results since histamine levels were found below the regulated limits for the samples within the sensory shelf-life. Therefore, the results of the study seem to indicate that sensory evaluation of fresh anchovy might help to avoid histamine health risk which would arise from this species. However, it is known that histamine content can greatly vary in the final products depending on the initial bacteria load and type of bacteria which decarboxylase histamine. Thus, sensory values should be used with caution in the case of histamine health risk (Köse 2010). On the other hand, further studies with different anchovy batches may help to confirm our findings.

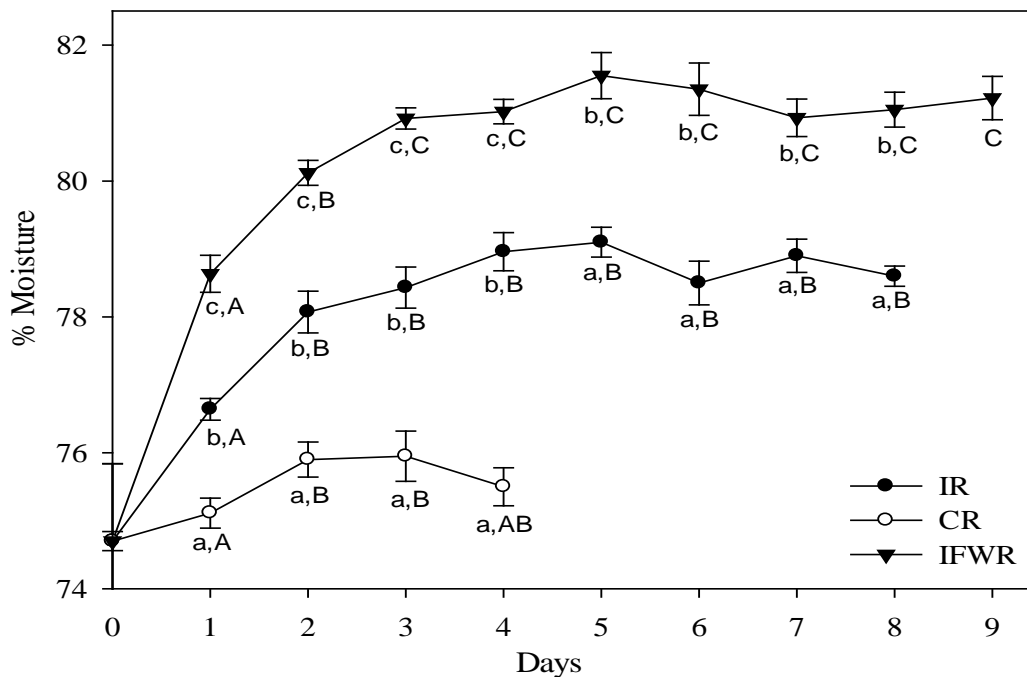
The levels of tyramine and phenylethylamine were also well below the toxic levels within the shelf-life of storage period for all groups. However, our results showed that the values for both QI and BAI do not correlate with sensory values. We also obtained a similar conclusion with bonito stored at various chilled conditions (Pons-Sánchez-Cascado and others 2005a). The reason might have caused by the possibility of non-spoilage bacteria involving in the formation of different BAs, which are used in the calculation. Therefore, the present study showed that using BAI and QI to estimate spoilage degree was not found suitable for anchovy samples stored at three different chilled conditions.

TVB-N values were also in support of histamine levels in terms of safety limits set by FDA. Al-Bulushi and others (2009) reported that mesophilic bacterial count of log 6–7 cfu/g has been associated with 50 ppm histamine. The suggested level only reached by the control group on the 6th day. However, the results did not support histamine values since the level obtained was 342.9 ppm at the relevant storage time. An increase in histamine corresponded with the outgrowth of histamine-

forming bacteria for the control group. The counts of mesophilic and psychrotrophic HFB were 4.3 ± 0.1 and 5.3 ± 0.1 log cfu/g, respectively for control group on the day when histamine exceeded the rejection level set by FDA. The counts were 4.8 ± 0.1 and 5.9 ± 0.1 log cfu/g, in the same order on the day when histamine exceeded the EU permitted value. However, the increasing rate for histamine formation was higher in comparison with growth of HFB for control group. The opposite situation was observed for other groups. The counts of psychrotrophic HFB were found higher in comparison with those of mesophiles indicating the effect of favourable chilled conditions supporting growth of psychrophilic bacteria.

Fish immersed in ice and water gains weight at first, and then slowly lose weight during subsequent storage. Weight gain depends on species and a number of other factors. A gain of 2 to 5% is accepted as normal for most species after a period of 1-2 weeks. The problem of water uptake is less critical with fatty fish (Graham and others 1992). Figure 7 represents the moisture contents of all groups demonstrating significant differences in moisture contents during storage period and also within the groups ($p < 0.05$). Significant water uptake occurred at first for the samples stored in ice and chilled-freshwater mixture for the first 3 days ($p < 0.05$) and then gradually stabilized during storage period. The water uptake seems to be higher for IFWR as 6.05% in comparison to IF as 3.7%. According to these results, the weight gain was within normal limits although a little over for the IFWR group. Control group had the lowest moisture contents during the storage period. However, this group also had significant water uptake during storage for the first 2 days ($p < 0.05$) and then a gradual drop occurred which may be attributed to dryness caused by refrigerated air.

Journal abbreviation: J Food Health Sci



Different lowercase letters represents statistical differences among groups ($p < 0.05$). Different uppercase letters represents statistical differences amongst different days within the same group during storage ($p < 0.05$). CR: Control, IR: Anchovy in ice, IFWR: Anchovy in water-ice.

Figure 7. The changes in the levels of moisture contents for anchovy samples kept at various storage conditions.

In conclusion, this study demonstrates the quality changes of anchovy at different cold storage conditions in comparison with development of BAs in regarding to food safety. The results suggest that using ice and/or chilled-freshwater can improve the shelf-life of anchovy stored at refrigerated temperatures relating to food quality and safety. Good sensory quality was observed for fresh anchovy with the addition of ice and/or chilled-freshwater mixture during refrigerated storage. Chilled-freshwater with ice application increased the shelf-life for 8 days which is the highest shelf-life obtained for fresh anchovy. The worst sensory results represented anchovy without ice with a shelf-life less than four days. Storing fresh anchovy in chilled-freshwater also helped to improve its chemical quality and decrease biogenic amine development. Therefore, keeping fresh anchovy in ice and chilled freshwater during refrigerated storage is advised to delay histamine formation and retard quality loss prior to processing or fresh market. Histamine-forming bacteria counts supported histamine formation in most groups while total bacteria counts were in agreement with sensory results in terms of acceptability. Although sensory values supported

histamine development for all storage conditions of anchovy, sensory criteria should be used in caution to avoid histamine health risk since histamine values also depends on initial bacterial load and types of HFB. Moreover, using BAI and QI parameters to estimate spoilage degree was not found suitable for anchovy samples stored at various chilled conditions.

Acknowledgements

This study was supported by Karadeniz Technical University Research Fund under the KTU-BAP project No.2006.117.001.4. We also acknowledge the help of Dr. George M. Hall, for correcting the English of this manuscript.

References

- Abbey, L.D. (1998): Seasonal and quality changes of the Ghanaian anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during storage in ice. FAO, Rome, Italy, No: 571, 61-66.
- Al-Bulushi, I., Poole, S., Deeth, H.C., Dykes, G.A. (2009): Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation-a Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4): 369-377.

- AOAC. (1995): Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods, 985.14, Gaithersburg, MD.
- Archer, M. (2010): Sensory assessment score sheets for fish and shellfish Torry & QIM. Research & Development Department of Seafish.
http://www.seafish.org/media/Publication/s/sensory_assessment_scoresheets_14_5_10.pdf
- Ayala, M.E., Salas, A., Carbajal, M., Plácido, M., Albrecht-Ruiz, M. (2001): Behaviour of degradation for Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) stored at temperature refrigeration. *Ciencia y Tecnología Alimentos*, 3(3): 161-168.
- Botta, J.R. (1995): Evaluation of seafood freshness quality. VCH Publishers Inc., New York.
- Boland, F.E., Paige, D.D. (1971): Collaborative study of a method for the determination of trimethylamine nitrogen in fish. *Journal of AOAC International*, 54(3): 725-727.
- Castañón, C., Barral, A.O. (1990). On-board Handling and preservation of anchovy (*Engraulis anchoita*) catches. *International Journal of Refrigeration*, 13(3): 203-206.
- Careche, M., García, R., Borderías, J. (2002): Anchovy shelf-life as affected by different chilling methods during distribution. *Journal of Food Protection*, 65(2): 353-362.
- Chaouqy, N.E., El Marrakchi, A. (2005): Aspects chimiques et bactériologiques de l'anchois (*Engraulis encrasicolus*) entreposé sous glace et à moyenne température (20-25°C). *Revue de Medecine Veterinaire*, 156(6): 341-349.
- Chotimarkorn, C. (2011): Quality changes of anchovy (*Stolephorus heterolobus*) under refrigerated storage of different practical industrial methods in Thailand. *Journal of Food Sciences and Technology*, 51(2): 285-93.
- Connel, J.J. (1990): Methods of assessing and selecting for quality. In Control of fish Quality. 3rd ed. Fishing News Books, Oxford. Pp. 122-150.
- Eerola, S., Hinkkanen, R., Lindfors, E., Hirvi, T. (1993): Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *Journal of AOAC International*, 76(3): 575-577.
- EU Directive. (2005a): Official Journal of the European Union. Commission Regulation (EC) No 2074/2005 of 5 December 2005. L 338/36.
- EU Directive. (2005b): Commission Regulation (EC) No 2074/2005 of 5 December 2005 laying down implementing measures for certain products under Regulation (EC), No 853/2004 of the European Parliament. L338/27 EN Official Journal the European Union.
- EU Directive. (2008): Commission Regulation (EC), No 1022/2008 of 17 October 2008 amending Regulation (EC). No 2074/2005 as Regards the Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Limits. 277, 18-20.
- EUROFISH (2012): Overview of the World's Anchovy Sector and Trade Possibilities for Georgian Anchovy Products. EUROFISH International Organization, p. 1-40.
- FAO. Fisheries Statistics. FAO, Rome, Italy. <http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?ds=Capture&k1=SPECIES&k1v=1&k1s=2106&outtype=html> Accessed 2014 January 1.
- FDA. (2011). Fish and fisheries products hazards and controls guide. Chap.13 (4th ed.).
<http://www.fda.gov/downloads/Food/Guidance/ComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/UCM251970.pdf> Accessed 2014 March 21.
- Graham, J., Johnston, W.A., Nicholson, F.J. (1992). Ice in fisheries. FAO Fisheries Technical Paper. No. 331. FAO, Rome, Italy.
- Goulas, A.E., Kontominos, M.G. (2005): Effect of salting and smoking method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93(3): 511-520.
- Huss, H.H. (1988): Fresh fish, quality and quality changes. FAO Fisheries Series, No. 29. FAO, Rome, Italy.
- Huss, H.H. (1995): Quality and quality changes in fresh fish. FAO. Rome, Italy.
- ICMSF. (1992): Sampling for microbiological Analysis. In Microorganisms in food.

- University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Koral, S., Köse, S. (2012): The effect of filleting and ice application on the quality and safety of Atlantic bonito (*Sarda sarda*) at refrigerated storage. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 47(1): 210-220.
- Köse, S., Karaçam, H., Kutlu, S., Boran, M. (2001): Investigating the shelf-life of the anchovy dish called 'hamsikusu' in frozen storage at -18 +/-1°C. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25(5): 651-656.
- Köse, S., Erdem, M.E. (2004): An Investigation of quality changes in anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) stored at different temperatures. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(3): 575-582.
- Köse, S. (2010): Evaluation of seafood safety health hazards for traditional fish products: preventive measures and monitoring issues. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(1): 139-160.
- Köse, S., Koral, S., Tufan, B., Pompe, M., Scavniçar, A., Koçar, D. (2012): Biogenic amine contents of commercially processed traditional fish products originating from European countries and Turkey. *European Food Research and Technology*, 235(4): 669-683.
- Lehane, L., Olley, J. (2000): Histamine (Scombroid) fish poisoning. A review in a risk-assessment framework. National Office of Animal and Plant Health Canberra 1999. Revised 2000. Agricultural, Fisheries and Forestry of Australia.
- Lucke, F., Geidel, W. (1935): Determination of volatile basic nitrogen in fish as a measure of their freshness. (Bestimmung des Flüchtigen Basischen Stickstoffs in Fischen als Maßstab für ihren Frischezustand). *Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel* 70(6):441-458.
- Malle, P., Valle, M., Bouquelet, S. (1996): Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. *Journal of AOAC International*, 79(1): 43-49.
- Mietz, J.L., Karmas, E. (1977): Chemical index of canned tuna determined by high pressure liquid chromatography. *Journal of Food Sciences*, 42(1): 155-158.
- Mol, S., Erkan, N., Uçok, D., Tosun, S.Y. (2007): Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. *Journal of Muscle Foods*, 18(1): 120-128.
- Montaner, M.I., Zugarramurdi, A. (1995): Influence of anchovy quality on yield and productivity in salting plants. *Journal of Food Quality*, 18(1): 69-82.
- Niven, C.F.Jr., Jeffrey, M.B., Corlett, D.A.Jr. (1981): Different plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1): 321-322.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Veciana-Nogués, M.T., Bover-Cid, S., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (2006a): Use of volatile and non-volatile amines to evaluate the freshness of anchovies stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(5): 699-705.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Vidal-Carou, M.C., Nunes, M.L., Veciana-Nogues, M.T. (2006b): Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control*, 17(7): 564-569.
- Rodtong, S., Nawong, S., Yongsawatdigul, J. (2005): Histamine accumulation and histamine-forming bacteria in Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *Food Microbiology*, 22(5): 475-482.
- Sahin, C., Akin, S., Hacimurtazaoglu, N., Mutlu, C., Verep, B. (2008): The stock parameter of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) population on the coasts of the Eastern Black Sea: Reason and implications in declining of anchovy population during the 2004-2005 and 2005-2006 fishing seasons. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(12b): 2159-2169.
- Schormüller, J. (1969): *Handbuch der Lebensmittelchemie (Band III/2). Triesrische Lebensmittel Eier, Fleisch, Fisch, Buttermich*, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg, Germany/New York, NY.
- Smith, G., Hole, M., Hanson, S.W. (1992): Assessment of lipid oxidation in Indonesian

- salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*). *Journal of Agricultural Science*, 51(2): 193-205.
- Soerensen, N.K., Motta, H. (1989): Storage and processing trials with anchovy (*Stolephorus spp.*) in Mozambique. In FAO Expert Consultation on Fish Technology in Africa, FAO Fish. Rep./Fao Rapp. Peches (Supplement), p. 211-230.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1987): Introduction to biostatistics. (2nd ed.). W.H. Freeman and Company, New York, USA.
- TUİK (2014): Fisheries Statistics Book. Ankara, Turkey.
www.turkstat.gov.tr/IcerikGetir.do?istab_id=52 Accessed 2014 December 25.
- Varlik, C., Heperkan, D. (1990): Hamsinin buzda muhafazasi. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 4(1): 53-58.
- Veciana-Nogués, M.T., Vidal-Carou, M.C., Mariné-Font, A. (1990): Histamine and tyramine during storage and spoilage of anchovies (*Engraulis encrasicolus*): Relationships with other fish spoilage indicators. *Journal of Food Sciences*, 55(4): 1192-1195.
- Veciana-Nogués, M.T., Albalá-Hurtado, S., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (1996): Changes in biogenic amine during manufacture and storage of semi-preserved anchovies. *Journal of Food Protection*, 59(11): 1218-1228.
- Veciana-Nogues, M.T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (1997): Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6): 2036–2041.
- Yoshinaga, D.H., Frank, H.A. (1982): Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Applied and Environmental Microbiology*, 44(2): 447–452.