

FARKLI SICAKLIKTA MUHAFAZA EDİLEN DONDURULMUŞ KEREVİTLERİN (*Astacus leptodactylus* ESCH., 1823) MİKROBİYOLOJİK ve KİMYASAL KALİTESİ

Bahri Patır¹ @ Ahmet H. Dinçoğlu¹ Ayşe Gürel²

Microbiological and Chemical Changes Observed in the Frozen Crayfish Stored at Different Temperatures

Summary: In this study, microbiological and chemical changes in frozen crayfish samples what stored at -4 °C, -18 °C and -35 °C for 20 weeks, are investigated. Total number of microorganisms were determined at three different incubation temperatures (5, 20 and 35 °C) and 1st, 2nd, 4th, 8th, 16th and 20th weeks of storing period. It is determined that the total number of microorganisms are higher in samples stored at -4 °C then the ones stored at -18 °C and -35 °C. Staphylococcus-Micrococcus numbers increased up to 8th week in the sample stored -4 °C and until end of storing period in the samples stored at -18 °C and -35 °C. Total numbers of Coliform group microorganisms increased in all the series and reached to the maximum at 20th week. Any yeast and mould microorganisms were not observed in any of the samples during storing period. TVB-N amounts increased in samples stored -4°C up to 4th week and as parallel to the other series later the rate of increase was faster and reached to 58.52 mg/100 g at the end of storing period. In the samples stored -18°C and -35°C this value varied between 2.80-16.66 during storing period. The pH values showed a slow increase at the first weeks and fast increase in the following weeks. It is concluded that frozen crayfishes can be stored at -18 and -35°C for 20 weeks without any decomposition. In the samples stored at -4 °C numbers of microorganisms and some chemical values fast reach to the levels undesired and over the standards.

Key words: Crayfish, store, freezing, microbiological, chemical, quality.

Özet : Bu araştırmada, 20 hafta süreyle -4°C, -18°C ve -35°C de muhafaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinde meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler incelendi. Muhafaza süresinin 1,2,4,8,16 ve 20. haftalarında genel canlı mikroorganizma sayıları üç farklı inkübasyon derecesinde (5°C, 20°C ve 35°C) saptandı. -4°C de muhafaza edilen örneklerde genel canlı mikroorganizma sayısının -18°C ve -35°C de muhafaza edilenlere göre daha yüksek olduğu bulundu. Staphylococcus-Micrococcus sayıları, -4°C muhafazadaki örneklerde 8. haftaya kadar, -18°C ve -35°C deki muhafazada ise muhafaza süresinin sonuna kadar arttı. Koliform grubu mikroorganizma sayıları, muhafaza boyunca tüm serilerde arttı ve 20. haftada en yüksek seviyeye ulaştı. Muhafaza süresince tüm örneklerde maya ve kük mikroorganizmalarına rastlanmadı. TVB-N miktarları, -4°C de muhafaza edilen kerevit örneklerinde 4. haftaya kadar diğer seridekilerle aynı düzeyde seyrettiğinden sonra bu aşamada hızla artarak, muhafazanın sonunda 58.52 mg/100 g değerine çıktı. -18°C ve -35°C deki örneklerde bu değerler muhafaza boyunca 2.8-16.66 miktarlarında tespit edildi. pH değerleri, muhafaza süresinin başlangıcında yavaş, sonraki aşamalarda ise hızlı bir artış gösterdi. Sonuçta; dondurulmuş kereviten -18°C ve -35°C deki muhafazasında, 20 hafta bozulmadan saklanabileceği, ancak; -4°C de muhafazası sırasında, ürünündeki mikroorganizma sayılarının ve kimyasal bazı değerlerin kısa sürede arzulanmayan seviyeye ulaşığı, bu nedenle önerilen normlara uymadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kerevit, muhafaza, dondurma, mikrobiyolojik, kimyasal, kalite.

Giriş

Balık dışında yaygın olarak tüketilen istakoz, karides, midye, istiridye gibi su ürünlerini, çok yüksek besin değerine sahip olan, hayvansal protein kaynaklarıdır. Bu ürünler, kaliteli protein bulundurmasının yanı sıra önemli miktarda vitamin ve mineral madde de içermektedir. Ancak, çok yüksek besleyici değeri olan balık ve su ürünlerini diğer ürünlere göre mikrobiyel bozulmaya karşı da oldukça du-

yarlıdır. Bu nedenle, bu çeşit ürünlerin iyi bir şekilde işlenerek uygun şartlarda muhafaza edilmesine özel bir dikkat gösterilmesi gereklidir (Jay, 1996).

Ürünleri muhafaza etmek amacıyla günümüzde birçok muhafaza yöntemlerinden faydalılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan dondurma ile muhafaza, diğer tekniklere göre daha yeni olan ve hızla geliştirilen bir saklama şeklidir. Donma ve donmuş halde muhafaza sırasında mevcut mikroorganizmaların bir kısmı ölürlü. Arta kalanların da

mikrobiyel aktiviteleri yavaşlar ya da durur. Ürünlerin dondurulmasında genellikle yavaş ve hızlı dondurma şekillerine başvurulur. Ancak balık ve su ürünlerine yavaş dondurma şekilleri uygun olmayıp daha ziyade hızlı dondurma şekli (şok dondurma) uygulanır. Dondurma sıcaklığının etkisi mikroorganizmanın türüne göre farklılık arz eder. Minimum üreme sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda mikroorganizmalar canlılıklarını yavaş yavaş kaybederler. Genel olarak donma işleminden hemen sonra mikroorganizmanın üremesi durur. Özellikle *Pseudomonas* gibi Gram (-) çubuklar soğuğa duyarlı; *Micrococcus*, *Lactobacillus* cinsleri ve fekal *Streptococcus* gibi Gram (+) ler ise oldukça dirençlidirler. *Escherichia coli* ve *Salmonella* gibi mezofil bakterilerin ise donma işleminden fazla etkilendikleri bilinmektedir. Maya ve küfler de bakterilere göre düşük sıcaklığa karşı daha dayanıklıdır (Connel, 1990; Jay, 1996; Garthwaite, 1997).

Yenilebilir deniz kabuklarından olan istakozlarda yaklaşık %0.5 oranında karbonhidrat bulunur. Bu gibi ürünlerde, serbest amino asitler ve ekstrakte edilebilir azotlu bileşikler fazla olduğu için mikrobiyel bozulmalara karşı oldukça hassastırlar. Balıklarda olduğu gibi bunlarda da bozulma, hemen azotlu bazların üretimiyle başlar ve bozulma sırasında pH yükselir (Jay, 1996).

Istakoz işleneceği tesislere canlı olarak taşınır ve istakozun yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar bozulma işlevinde önemli bir rol oynamaz. Çünkü bu mikroorganizmalar hayvanların ölümünden sonra faaliyet gösterip dokuları parçalarlar. Bu mikroorganizmalar normal pişirme işlemi ile tamamen yok olmazlar. Genellikle yıkama, pişirme ve dondurma esnasında bakteri sayısının azalmasına karşın işleme, paketleme sırasında artmaktadır (Devlet Planlama Teşkilatı, 1989; Jay, 1996).

Tatlı su istakozu olarak bilinen kerevitler, birçok ülkede değerli bir ihraç ürünüdür ve bu alanda önemini giderek artırmaktadır. Ülkemizde ise II. Dünya Savaşı'ndan sonra su ürünleri içerisinde ihraç ürünler arasına girmiştir (Şahin 1980, Alpbaz 1993). Ülkemiz iç sularında 1988-1997 yılları arasında elde edilen tatlı su istakozu (kerevit) miktarları ile dondurularak ihraç edilen kerevit miktarları Tablo 1 de verilmiştir (Türkiye Ticaret, Sanayi, Deniz Ticaret Odaları ve Ticaret Borsaları Birliği, 1998).

Kerevit eti düşük kalorili iyi bir protein kaynağı olmasının yanı sıra, sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi mineraller ile E ve K vitaminleri yönünden de zengin bir besindir (Erdemli, 1984; Huner ve Barr, 1991). Kerevitler iç sularımızda ekonomik

değeri yüksek olan kabuklular olup Anadolu'nun birçok göl, baraj gölü ve akarsularında doğal olarak bulunurlar. Tatlı sularımızdan pinterlerle avlanan kerevitler satışa kadar havuzlarda bekletilir ve alıcı firmalara satılır. Burada kerevitler kalibrasyon işlemlerine tabi tutulduktan sonra toplama havuzlarına nakledilirler. Kerevitler pazarlayıcaya kadar bu havuzlarda sirküler eden su içinde saklanırlar. Kerevitler buradan ya canlı ihraç edilir ya da işlenmek üzere işletmelere sevk edilirler (Devlet Planlama Teşkilatı, 1989).

Tablo 1. Ülkemiz İç Sularında Avlanan Canlı Tatlı Su İstakozu Miktarları ile İhraç Edilen Dondurulmuş Kerevit Miktarları.

Yıl	Üretim (ton)	Dondurulmuş (kg)
1988	1801	321.771
1989	986	148.862
1990	542	152.267
1991	320	153.900
1992	324	157.826
1993	404	180.075
1994	524	113.208
1995	551	34.240
1996	850	324.218

Dondurma işlemine tabi tutulacak olan canlı kerevitler, işletmede önce ayıklama işlemine tabi tutularak ölmüş ya da kusurlu olanlar ayrırlar. Ayıklamadan sonra sitrik asit içeren suyla yıkanır ve kaynar suya atılarak pişirilir. Bu işlemin süresi yaklaşık 9 dakikadır. Haşlanmış olan kerevitler soğuk suyla soğutulur. Soğutulmuş kerevitler 1 kg/lık plastik kaplara dizilerek üzerine özel olarak hazırlanmış sos ilave edilir. Vakum altında plastik kaplar katıtlarak 80-90 °C de 45 dakika pastörizasyon işlemine tabi tutulur. Pastörize edilen kerevitler hemen soğutulur ve -40 °C de dondurulur. Donmuş kerevitler orijinal mukavva kutulara konarak -18 °C de donmuş muhafazaya alınırlar (Devlet Planlama Teşkilatı, 1989).

Genellikle temiz sularda avlanılan balık ve diğer ürünleri, oldukça düşük bakteriyel sayıya sahiptirler. Ancak avlama sırasında ve sonrasında yüzeysel bakteri sayısı önemli ölçüde artar. Bazı kabuklarda aerobik genel canlı mikroorganizma sayısı $1.5 \times 10^9/g$ 'a kadar ulaşır (Bear ve ark., 1976; Matches ve Abeyta, 1983). Kerevitte aerobik toplam canlı sayısının grama 10^9 a ulaştığı zaman bozulduğu bildirilmektedir (Liston, 1980). Dondurulmuş

kabukluların ise, -18 °C de 3-4 ay kadar muhofaza edilebileceği belirtilmektedir (Banwart, 1979). Ön pişirme işlemi uygulanmış kabuklular, salata ve kokteyllerde tekrar pişirilmeden tüketildiği ve bazen servise hazırlama sırasında yüksek sıcaklıkta tutulduğu için çiğ olanlardan daha tehlikelidir (Göktan, 1990).

Bir çok kaynakta (Abrahamson ve ark., 1959; Mitchell, 1970; Speck, 1976; Banwart, 1979; International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1986; Jay, 1996) deniz kabukluları (shellfish) için mikrobiyel değerler farklılık arz etmektedir. Tablo 2'de ise, bazı ülkelerde balık ve yenilebilir su ürünlerine ait uygulanan yada önerilen mikrobiyolojik standartlar belirtilmektedir.

Su ürünlerinin tüketilebilirliğini saptamak için başvurulan kimyasal analizlerden biri de toplam uçucu bazik azot(TVB-N) dur. Buna göre, su ürünlerinde TVB miktarı 25 mg/100g olanlar "çok iyi", 30 mg/100g olanlar "iyi", 35 mg/100g olanlar "pa-zarlanabilir" ve 35 mg/100g dan fazla TVB-N içerenler ise "bozulmuş" olarak sınıflandırılmaktadır (Varlık ve ark., 1993b).

Karides gibi deniz kabuklularının yenilebilir etlerine ait mikrobiyolojik ve kimyasal bazı çalışmalar bulunmasına karşın istakoz etleri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Donmuş istakoz etleri üzerine yapılan bir araştırmada (Swartzentruber ve

ark., 1980), istakoz etlerinin %46'sında toplam aerob bakteri sayısı $10^5/g$ dan fazla bulunmuştur. Aynı araştırmada, 30°C de inkübasyon sonucunda aerob genel canlı bakteri sayısının ortalaması $1.40 \times 10^5/g$ iken 35 °C deki değer $4.2 \times 10^4/g$ olarak tespit edilmiştir. Yine bu araştırmada koliform grubu mikroorganizmaların kuvvetle muhtemel sayısının (KMS) <3 ile $2.4 \times 10^4/g$ arasında olduğu gözlemlenmiştir. *Staphylococcus aureus* sayısı ise <3 ile $9.3 \times 10^4/g$ değerlerinde saptanmıştır.

Genellikle dondurulmuş su ürünlerile diğer dondurulmuş ürünler taze ürünlerle göre daha az mikroorganizma içerirler. Bu konuda yapılan bir araştırmada (Foster ve ark., 1977), 597 taze ve dondurulmuş su ürünlerinde ortalama aerobik canlı bakteri sayısı, 240 dondurulmuş gıda için 3.5×10^3 - $9.3 \times 10^4/g$ ve 357 taze ürün için 7.8×10^4 - $2.7 \times 10^8/g$ değerlerinde bulunmuştur. Adı geçen bu araştırmada dondurulmuş gıdalarda koliformların kuvvetle muhtemel sayısının (KMS) 1-7.7 hücre/g olduğu ve incelenen 597 ürünün yalnızca % 4.7'sinde *Escherichia coli*, %7.9'unda da *Staphylococcus aureus* tespit edilmiştir.

Balık ve diğer su kabuklularında pH değerinin 5.6 dan daha yüksek olduğu bilinmektedir (Jay, 1996). Tatlı su istakozlarının et verimini ve kimyasal bileşimini saptamak amacıyla yapılan bir araştırmada (Gürel, 1997), haşlanmış kerevit etlerinde pH değerinin 7.18-7.41 arasında olduğu belirtilmektedir.

Tablo 2. Bazı Ülkelerde Balık ve Yenilebilir Su Ürünlerine ait Mikrobiyolojik Standartlar.

Ülke	Ürün	ATC	Koliform	E.coli	S.aureus	Enterokok	Salmonella	Kaynak
İtalya	Kabuklu ve yumuşakçalar	-	-	600/100g	-	-	-	CAC/RCP, 1978
Danimarka	Kabuklu ve yumuşakçalar	$10^5/g$	-	0	-	-	0	CAC/RCP, 1978
Fransa	Kabuklu ve yumuşakçalar	-	-	çiğ yenen 1/ml pişirilerek 2/ml	-	-	0	CAC/RCP, 1978
Hollanda	Kabuklu ve yumuşakçalar	-	-	4/ml	-	-	-	CAC/RCP, 1978
A.B.D.	Kabuklu ve yumuşakçalar	$5 \times 10^5/g$	-	230/100g	-	-	-	Wehr, 1982
İspanya	Taze balık, kabuklu ve yumuşakçalar	$10^5/g$	250/g	negatif/1g	negatif/5g	1000/g	negatif/25g	Saunders, 1983 Hayes, 1985
Japonya	Çiğ istiridye	10^5	negatif/0.1 ml					Hayes, 1985

ATC : Aerobik Toplam Canlı

Bu araştırma; dondurulmuş olan kerevitleri değişik sıcaklık derecelerinde muhafaza ederek, muhafaza süresinin belli aşamalarında ürünün mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerindeki meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, İhraç ürünü soslu dondurulmuş kerevitler materyal olarak kullanıldı. 1 kg lik özel plastik kaplar içerisinde hazırlanmış ve her kutuda 16-24 adet kerevit bulunan örnekler 3 gruba ayrılarak 1. grup -4 °C de, 2. grup -18 °C de, 3. grup -35 °C de muhafazaya alındı. Kerevit örnekleri, muhafaza süresinin 1, 2, 4, 8, 12, 16 ve 20. haftalarında mikrobiyolojik ve kimyasal yönden incelendi.

Kerevit örnekleri analiz işlemine alınmadan önce, -4 °C de muhafaza edilenler 2-3 saat, -18°C dekiler 8-10 saat ve -35 °C dekiler ise 18 saat öncesinden çözünmeye bırakıldılar.

Çözünen kerevit örneklerinin her birinden ayrı kaplar içerisine, yeteri kadar alındı ve mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerde kullanıldı(Varlık ve ark.,1993b).

Örneklerin deneyler için hazırlanması : Kerevit örnekleri aseptik şartlar altında açılarak bir parçalayıcının (Bühler 51800/00) özel kabında 5 g tıltı ve üzerine steril 1/4 gücündeki Ringer çözeltisinden 45 ml ilave edilerek, parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10) lik süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan aynı seyrelticisi kullanmak suretiyle örneğin 10⁸ e kadar diğer seyreltileri yapıldı(Harrigan ve McCance,1976; Varlık ve ark.,1993b).

Genel ve özel mikroorganizmaların sayısı : Örneklerin her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak, iki seri halinde petri kabı dökme metodu ile ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi(Harrigan ve McCance,1976).

Genel canlı mikroorganizma sayısı : Örneklerdeki genel mikroorganizmaların farklı sıcaklık derecelerinde sayımı için plate count agar (PCA) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 3 farklı sıcaklık derecelerinde (5 °C de 7 gün, 20 °C de 3 gün ve 35 °C de 2 gün) inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı(Harrigan ve McCance, 1976; International Commission on Microbiological Specifications for Foods,1986).

Koliform grubu mikroorganizmaların sayısı : Bu grup mikroorganizmaların sayımı violet red bile agar'da (VRBA) yapıldı. Plaklar 30 °C de 24 saat

inkübe edildi. Inkübasyondan sonra koyu kırmızı,haleli koloniler koliform grubu mikroorganizmalar olarak değerlendirildi(Harrigan ve McCance,1976).

Staphylococcus-Micrococcus mikroorganizmaların sayımı: *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizmaların sayımı için, manitol salt agar (MSA) besiyeri kullanıldı. Plaklar 37 °C de 36-48 saat inkübe edildi. Inkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayıldı(Oxoid,1982).

Maya ve kükürt sayımı: pH sı %10' luk tartarik asit le 3.5 'e ayarlanmış patato dextrose agar (PDA) kullanıldı. Plaklar 20 °C de 5 gün inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı(American Public Health Association,1976).

pH tayini:Örneklerin pH'sı, pH metrede (EDT,GP 353) 25±1 °C' de saptandı (Tolgay ve Tetik,1964).

Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) tayini: Örneklerdeki TVB-N miktarları, Varlık ve ark.nın (1993b) bildirdiği spektrofotometrik yönteme göre yapıldı.

Araştırmada SPSS bilgisayar paket programı kullanılarak varyans analizi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı Tukey's testiyle saptandı(Steel ve Torrie,1981).

Bulgular

Değişik sıcaklık derecelerinde (- 4 °C, -18 °C ve -35 °C) muhafaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinin mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerine ait elde edilen veriler Tablo 3 ile Şekil 1-5' de gösterilmiştir.

Tablo 3 incelendiğinde, - 4 °C de muhafaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinin 5°C, 20 °C ve 35 °C'luk inkübasyon sonu elde edilen genel canlı mikroorganizma sayıları, 1. haftadan 4. haftaya kadar yavaş, ileri aşamalarda ise hızlı bir şekilde artış göstererek, 5 °C lik inkübasyonda mikroorganizma sayısı muhafaza süresinin 12. haftasında($1.12 \times 10^9/g$), 20 °C ve 35 °C'luk inkübasyonlarda ise 20. haftada($6.60 \times 10^8/g$ - $2.68 \times 10^8/g$) en yüksek seviyeye ulaşmıştır. - 4 °C de muhafaza edilen örneklerde, genel canlı mikroorganizma sayıları bakımından 5°C, 20°C ve 35°C'luk inkübasyonlarda elde edilen değerler arasındaki fark önemli çıkmamıştır($p>0.05$).

-18 °C'de muhafaza edilen örneklerin 1. haftada 5°C, 20°C ve 35°C'luk inkübasyon derecelerinde elde edilen genel canlı bakteri sayılarının sırasıyla $2.46 \times 10^4/g$, $2.16 \times 10^4/g$ ve $1.80 \times 10^4/g$ olduğu tespit edilmiştir. 20 haftalık sü-

renin sonunda bu değerler yine sırasıyla 2.00×10^5 /g, 2.81×10^5 /g ve 2.45×10^4 /g olmuştu. Genel canlı bakterilerin muhofaza süresince seyri incelendiğinde; 5°C , 20°C ve 35°C 'deki değerlerin yavaş bir şekilde artarak birbirlerine benzer seyrettiler, ancak, 35°C 'deki inkübasyonda genel canlı mikroorganizma sayısının diğer inkübasyon derecelerindeki sayılarından nispeten daha az miktarlarda olduğu görülmüştür (Tablo 3). Fakat, bu muhofaza sıcaklığında (-18°C), genel canlı mikroorganizmaların 5°C , 20°C ve 35°C 'lik inkübasyon sayıları açısından aralarında önemli bir farkın olmadığı ($p > 0.05$) bulunmuştur.

-35°C 'de muhofaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinde; 5°C , 20°C ve 35°C deki genel canlı mikroorganizma sayılarının birinci haftada birbirlerinden az çok farklı değerlerde oldukları saptanmıştır. Şöyle ki, bu değerler 5°C de 1.65×10^4 /g, 20°C de 9.60×10^3 /g ve 35°C de 8.00×10^2 /g olduğu saptanmıştır. 5°C lik inkübasyonda genel canlı mikroorganizma sayısı 12. haftaya, 20°C ve

35°C deki inkübasyonlarda 16. haftaya kadar düzenli bir şekilde yükselmiş, sonraki haftalarda azalmıştır. Muhofaza süresinin 20. haftasında adı geçen inkübasyon derecelerinde sırasıyla 2.70×10^4 /g, 1.33×10^4 /g ve 1.15×10^4 /g olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). -35°C 'de muhofaza edilen örneklerde genel canlı mikroorganizmaların 5°C , 20°C ve 35°C deki sayıları bakımından aralarında önemli bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

– 4°C 'de muhofaza edilen örneklerde; 1, 2, 4, 8, 16 ve 20. haftalarda tespit edilen genel canlı mikroorganizma sayılarının -18°C ve -35°C deki genel canlı mikroorganizma sayılarına göre daha yüksek değerlerde olduğu ve aralarında önemli bir farkın bulunduğu ($p < 0.05$) saptanmıştır.

– 4°C 'de muhofaza edilen kerevit örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları, muhofaza süresinin 8. haftasına kadar yükselmiş, sonraki günlerde ise azalarak 20. haftada 1.47×10^4 /g seviyesine düşmüştür. -18°C 'de ve -35°C 'de muhofaza edilen örneklerde ise *Staphylococcus*

Tablo 3. – 4°C , -18°C ve -35°C de 20 Hafta Süreyle Muhofaza Edilen Dondurulmuş Kerevit Örneklere ait Mikrobiyolojik ve Kimyasal Analiz Bulguları.

Hafta	Muhofaza Sıcaklığı ($^\circ\text{C}$)	Genel Canlı Mikroorganizma (sayı/g)			Staphylococcus (sayı/g)	Koliform (sayı/g)	Maya ve Küf (sayı/g)	TVB-N (mg/100g)	pH
		5 $^\circ\text{C}$	20 $^\circ\text{C}$	35 $^\circ\text{C}$					
1	– 4	1.80×10^4	1.85×10^4	1.11×10^4	2.20×10^2	2.70×10^3	<10	5.46	8.03
	– 18	2.46×10^4	2.16×10^4	1.80×10^4	5.00×10	5.00×10^2	<10	4.48	8.02
	– 35	1.65×10^4	9.60×10^3	8.00×10^2	6.00×10	1.30×10^3	<10	2.94	8.00
2	– 4	1.82×10^4	2.05×10^4	1.21×10^4	4.80×10^2	9.80×10^3	<10	3.92	8.02
	– 18	2.52×10^4	2.22×10^4	2.80×10^4	6.00×10	1.08×10^3	<10	4.48	8.02
	– 35	1.85×10^4	1.06×10^4	1.60×10^3	1.10×10^2	9.00×10^2	<10	2.80	7.98
4	– 4	2.68×10^4	2.72×10^4	1.32×10^4	3.70×10^3	1.05×10^4	<10	4.76	8.06
	– 18	2.80×10^5	9.00×10^5	3.10×10^4	1.70×10^2	1.28×10^3	<10	5.32	8.13
	– 35	2.00×10^4	1.11×10^4	3.30×10^3	1.50×10^2	1.10×10^3	<10	4.20	8.01
8	– 4	1.04×10^8	5.40×10^7	1.45×10^6	9.80×10^4	2.55×10^5	<10	51.80	8.46
	– 18	1.46×10^5	1.19×10^5	1.42×10^4	3.20×10^2	2.10×10^3	<10	5.18	8.37
	– 35	2.32×10^4	1.37×10^4	4.10×10^3	3.40×10^2	2.10×10^3	<10	5.32	8.31
12	– 4	1.12×10^9	4.50×10^8	9.30×10^7	3.10×10^4	4.20×10^7	<10	57.40	8.53
	– 18	2.39×10^5	1.47×10^5	1.40×10^4	7.30×10^2	8.20×10^3	<10	6.16	8.50
	– 35	5.50×10^4	1.46×10^4	9.70×10^3	3.70×10^2	9.20×10^3	<10	5.88	8.46
16	– 4	4.70×10^8	5.40×10^8	2.45×10^8	1.40×10^4	1.80×10^7	<10	58.10	8.61
	– 18	2.05×10^5	2.70×10^5	1.99×10^4	2.75×10^3	1.61×10^5	<10	15.12	9.01
	– 35	3.80×10^4	1.55×10^4	1.73×10^4	4.70×10^2	1.16×10^4	<10	6.02	8.48
20	– 4	4.40×10^8	6.60×10^8	2.68×10^8	1.47×10^4	1.17×10^8	<10	58.52	9.18
	– 18	2.00×10^5	2.81×10^5	2.45×10^4	3.00×10^3	1.70×10^5	<10	16.66	9.03
	– 35	2.70×10^4	1.33×10^4	1.15×10^4	7.60×10^2	2.67×10^4	<10	7.70	8.55

< : den az.

Micrococcus sayıları, süre içerisinde devamlı artarak 20. haftada sırasıyla $3.00 \times 10^3/g$ ve $7.60 \times 10^2/g$ a yükselmiştir (Tablo 3). -4°C , -18°C ve -35°C de muhafaza sırasında tespit edilen *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları bakımından arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Koliform grubu mikroorganizma sayıları -4°C , -18°C ve -35°C de muhafaza edilen kerevitlerde, tüm muhafaza süresince giderek artmış ve 20. haftada en yüksek seviyeye ulaşmıştır (Tablo 3). Aynı şekilde, örnekler arasında bu grup mikroorganizmaların sayıları itibarıyle önemli bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Total uçucu baz (TVB-N) miktarları, -4°C de muhafaza edilen örneklerde 4. haftaya kadar hemen hemen aynı düzeyde ($3.92\text{-}5.46\text{ mg}/100\text{ g}$) kalmış, ancak 8. haftada hızlı bir şekilde artarak $51.80\text{ mg}/100\text{ g}$ seviyesine ulaşmıştır. Bu değer 12, 16 ve 20. haftalarda sırasıyla 57.40 , 58.10 ve $58.52\text{mg}/100\text{ g}$ olmuştur (Şekil 1). -18°C de muhafaza edilen örneklerde TVB-N miktarları 1. hafadan başlamak üzere 12. haftaya kadar $4.48\text{-}6.16\text{ mg}/100\text{ g}$ seviyesinde seyretmiş, 16 ve 20. haftalarda ise bir miktar daha artarak $15.12\text{ mg}/100\text{ g}$ ile $16.66\text{ mg}/100\text{ g}$ 'a ulaşmıştır (Şekil 2). -35°C deki muhafazada ise TVB-N miktarının tüm muhafaza süresince hemen hemen aynı düzeyde ($2.94\text{-}7.70\text{ mg}/100\text{ g}$) olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3). Her üç muhafaza sıcaklığında (-4°C , -18°C ve -35°C), dondurulmuş kerevit örneklerinde saptanın TVB-N değerleri arasındaki fark önemli

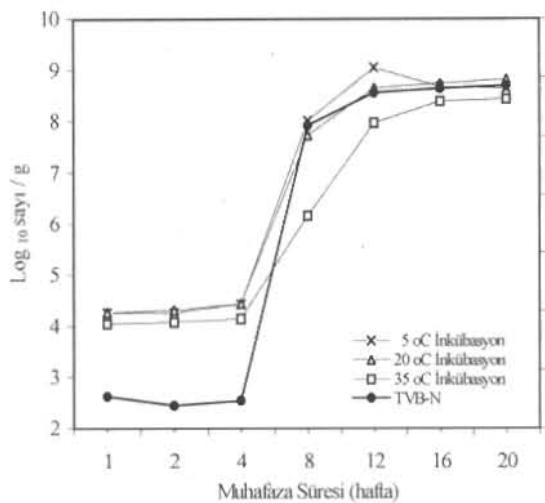
($p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 4).

pH değerleri muhafaza sıcaklığının içinde de (-4°C , -18°C ve -35°C) 1 ve 2. haftalar hariç tutulursa, ileri muhafaza günlerinde giderek artmış ve 20. haftada en yüksek düzeye çıkmıştır. pH değerleri her üç muhafaza derecesinde 1. ve 2. haftalarda sırasıyla $7.98\text{-}8.03$ arasında bulunmuştur. Bu değerler 4. haftada $8.01\text{-}8.13$, 8. haftada $8.31\text{-}8.46$, 12. haftada $8.46\text{-}8.53$, 16. haftada $8.48\text{-}9.01$ ve 20. haftada da $8.55\text{-}9.18$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 5). -4°C , -18°C ve -35°C muhafaza sıcaklığındaki örneklerde saptanan pH değerleri arasındaki fark ömensizdir ($p>0.05$).

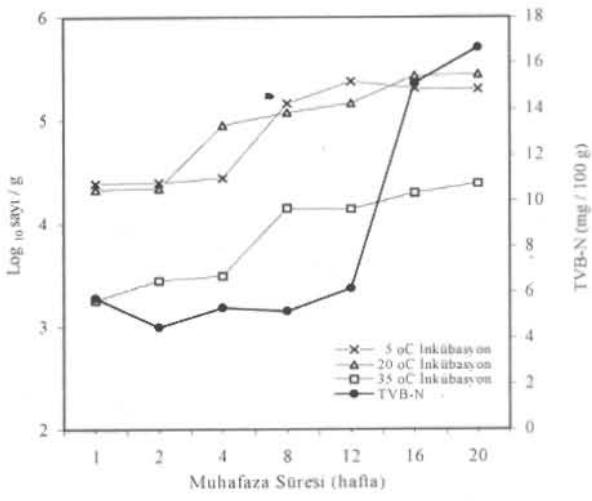
Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada, haşlanmış ve dondurulmuş tatlı su istakozunun (kerevit) değişik sıcaklıklarda (-4°C , -18°C , -35°C) muhafazası sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimleri incelendi.

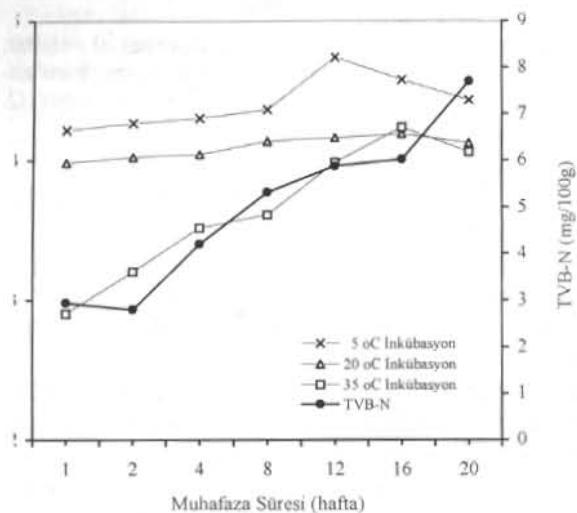
Genel canlı mikroorganizma sayısı -4°C de muhafaza edilen örneklerde, muhafaza süresinin 4. haftasına kadar hemen hemen aynı düzeyde ($1.11 \times 10^4\text{-}2.72 \times 10^4\text{g}$) seyretti. Daha sonra hızlı bir şekilde artarak ileri muhafaza günlerinde (8-20. hafta) en yüksek seviyeye ($1.45 \times 10^6\text{-}1.12 \times 10^9\text{g}$) ulaştı. Diğer iki muhafaza sıcaklığındaki örneklerde genel canlı bakteri sayısı başlangıçtan muhafazanın sonuna kadar birbirlerine paralel bir şekilde seyretti ve mikroorganizma sayısı önemli bir artış göstermeden 20. haftada $1.15 \times 10^4\text{-}2.81 \times 10^5\text{g}$ de-



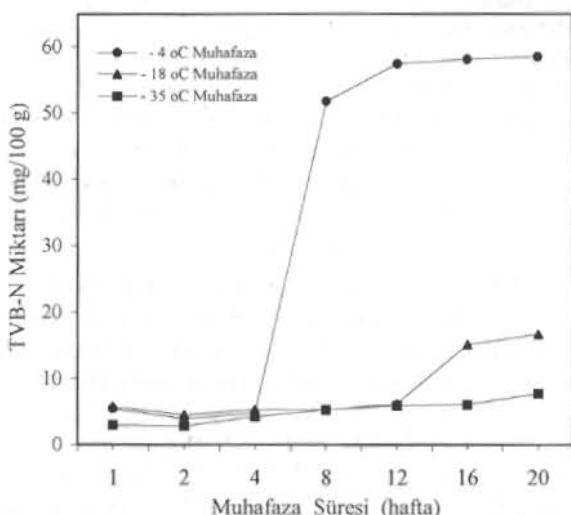
Şekil 1. -4°C de muhafaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinin çeşitli inkübasyon derecelerinde (5°C , 20°C ve 35°C) içeriği genel canlı mikroorganizma sayıları ile TVB-N miktarları



Şekil 2. -18°C de muhafaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinin çeşitli inkübasyon derecelerinde (5°C , 20°C ve 35°C) içeriği genel canlı mikroorganizma sayıları ile TVB-N miktarları



Şekil 3. -35°C 'de muhofaza edilen dondurulmuş kerevit örneklerinin çeşitli inkübasyon derecelerinde (5°C , 20°C ve 35°C) içeriği genel canlı mikroorganizma sayıları ile TVB-N miktarları

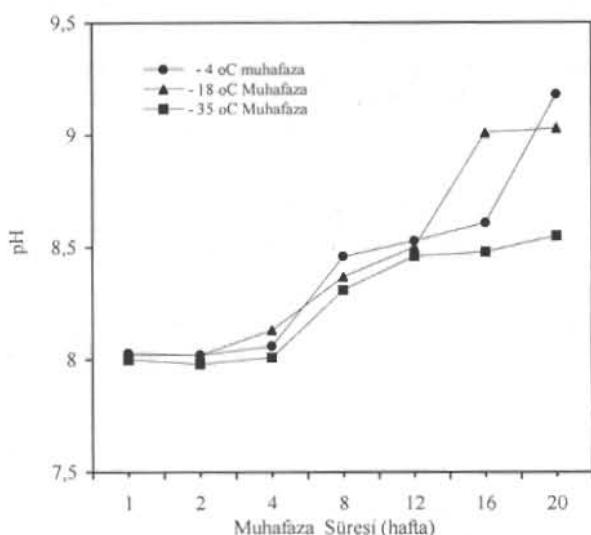


Şekil 4. Dondurulmuş kerevit örneklerinin muhofazası sırasında TVB-N miktarlarında meydana gelen değişimler

kubasyonda bulundu. Diğer iki inkübasyonda (5°C ve 20°C) sayılar ise genelde birbirlerine yakın değerlerde tespit edildi. Benzer şekilde Swartzentruber ve ark. (1980) marketlerden temin ettikleri dondurulmuş istakoz etlerinde 30°C lik inkübasyon sıcaklığında elde edilen ortalama değerlerin (1.4×10^5), 35°C deki değerlerden (4.2×10^4) daha yüksek olduğunu belirtmektedirler.

Koliform grubu mikroorganizma sayılarının her üç muhofaza sıcaklığında, başlangıçtan muhofaza süresinin 20. haftasına kadar genelde bir artış gösterdiği belirlendi. Başlangıçta (1.hafta) $2.70 \times 10^3/\text{g}$ değerlerinde olan bu grup mikroorganizmalar muhofaza süresinin sonunda 2.67×10^4 - $1.17 \times 10^8/\text{g}$ değerlerinde saptandı. Koliform grubu mikroorganizmaların dondurulmuş istakoz etlerindeki KMS'nın en fazla $2.4 \times 10^4/\text{g}$ olduğu belirtilmektedir (Swartzentruber ve ark., 1980).

Staphylococcus-Micrococcus mikroorganizmaları – 4°C de muhofaza edilen kerevit örneklerinde 8. haftaya kadar bir artış gösterdikten sonra ileri süreçlerde giderek azaldı. -18°C ve -35°C deki örneklerde ise mikroorganizma sayısı muhofaza süresince zamana bağlı olarak arttı. Muhofaza sırasında bu grup mikroorganizmaların sayıları en az $5.00 \times 10^4/\text{g}$, en fazla $9.80 \times 10^4/\text{g}$ bulundu. Her üç muhofaza sıcaklığındaki *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları göz önüne alındığında, aralarındaki farkın önemli olmadığı bulundu. Yapılan bir araştırmada (Swartzentruber ve ark., 1980), donmuş istakoz etlerinde *Staphylococcus aureus* sayılarının en fazla $9.3 \times 10^4/\text{g}$ olduğu bildirilmektedir.



Şekil 5. Dondurulmuş kerevit örneklerinin muhofazası sırasında pH değerlerinde meydana gelen değişimler

ğerlerine çıktı. Bu sonuç, donmuş muhofazada genel canlı bakteri sayısının yavaş yavaş azalduğunu belirten bazı araştırmacıların (Banward, 1979; Göktan, 1990) görüşlerini desteklememektedir. Bu durum muhtemelen dondurma işlemeye alınmış ürünlerin başlangıçta içermiş oldukları bakteri sayısına, türüne, farklı depolama şartlarına ve süresine bağlıdır. Ayrıca genel canlı bakteri sayısına ait veriler, üç farklı inkübasyon derecesi (5°C , 20°C ve 35°C) kullanılarak elde edilmiştir. Genel canlı bakteri sayısı en az 35°C deki in-

Kerevit örneklerinde maya ve küfe rastlanmadı. Bu durum muhtemelen, taze balık ve diğer su ürünlerinde genelde yüksek olan pH'ının örneklerin depolanması sırasında oluşan kimyasal değişimler neticesinde meydana gelen bazik maddeler sayesinde daha fazla artmasından kaynaklandığı söylenebilir. Maya ve küf mikroorganizmalarının gelişimi için optimal pH'nın <3.5 olduğu bilinmektedir (Jay, 1996).

TVB-N değerleri her üç muhafaza sıcaklığında farklı şekilde seyrettiği ve bu değerlerin en fazla -4 °C de muhafaza edilen donmuş kerevit örneklerinde meydana geldiği gözlemlendi.

-18 °C ve -35 °C de muhafaza edilen örneklerde TVB-N miktarları birbirlerine yakın dizeylerde kaldı. Ancak 2. haftalar hariç, tüm örneklerde muhafaza süresince TVB-N miktarlarında bir artışın olduğu görüldü. Yapılan literatür taramasında dondurulmuş ıstakoz etlerinde TVB-N değerleri ile ilgili çalışmaya rastlanmadı. Dondurulmuş karidesler üzerinde yapılan bazı çalışmaları (Cann, 1974; Angel ve ark., 1981; Stokkemer ve Nieper, 1984; Varlık ve ark., 1993a) TVB-N miktarlarının depolama süresince arttığı ve muhafazanın 6 ile 75. günlerinde 12.75 mg/100 g ile 150 mg/100 g arasında tespit edildiği bildirilmektedir. Buna karşılık bir diğer araştırmada (Cobb ve ark., 1976) buz içerisinde 12-15 gün muhafaza edilen karideslerde TVB-N miktarlarının 13.5-73.6 mg N/100g arasında saptandığı belirtilmektedir. Bu değerler, muhafaza süresi sonu itibarıyle (20. hafta) elde ettigimiz değerlerle (7.70-52.52 mg/100g) uyum sağlamamaktadır. Bulgarların uyumsuzluğu, farklı materyal kullanımı, muhafaza sıcaklığı ve şekli ile süresinin farklı olmasından kaynaklanabilir.

pH değerleri muhafaza süresinin başlangıcında (1-4. hafta) yavaş, sonraki sürelerde ise hızlı bir artış gösterdi. Muhafaza süresince, -35 °C de muhafaza edilen örneklerde elde edilen pH değerlerinin özellikle muhafaza süresinin son dönemlerinde (16 ve 20. hafta) diğer iki muhafaza sıcaklığındaki (-4 °C, -18 °C) değerlerden daha az olduğu görüldü.

Sonuç olarak, veriler; doldurulmuş kerevitenin 20 hafta süreli muhafazasında, -18 °C ve -35 °C lik muhafaza sıcaklığının, -4 °C ye göre çok daha uygun olduğunu, ürünün -4 °C de muhafazası sırasında genel canlı, Koliform, *Staphylococcus*-*Micrococcus* mikroorganizma sayılarının ve TVB-N gibi kimyasal değerlerin 4. haftadan itibaren arzulanmayan seviyeye ulaştığını, bu nedenle konu ile ilgili standartlarda belirtilen normlara uymadığını ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

- Abrahamson, A.E., Buchbender, L., Guenkel, J., Heller, M. (1959). A study of frozen precooked foods: their sanitary quality and microbiological standards for control. Q. Bull. Assoc. Food Drug off., 23, 63-72.
- Alpbaz, A. (1993). Kabuklu ve Eklembacaklılar Yetiştiriciliği. Ege Univ., Su Ürünleri Fak., Yay. No 26, Ege Univ., Basimevi, Bornova, İzmir.
- American Public Health Association (APHA). (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Ed., Mervin L. Speck. APHA. Inc. Washington D.C.
- Angel, S., Bosker, O., Kanner, J., Suven, B.J. (1981). Bestimmung der Haltbarkeit von Süßwassergarnelen Gelagert Bei 0 °C. J. Food Technol., 16, 357-366.
- Baer, E.F., Duran, A.P., Leininger, H.V., Read, R.B., Schwab, A.H., Swartzentruber, A. (1976). Microbiological quality of frozen Breaded Fish and shellfish products. Appl. and Environ. Microbiology, 31, 337-341.
- Banwart, G.S. (1979). Basic Food Microbiology. AVI Publishing Company Enc.
- Cann, D.D. (1974). Bacteriological Aspects of Tropical Shrimp. Fishery Products. Fishing New Ltd., England.
- Cobb, B.F., Vanderzant, C., Honna, M.O., Chia-Ping, S.Y. (1976). Effect of Ice storage on microbiological and chemical changes in shrimp and melting ice in a model system. J. Food Science, 41, 29-43.
- Codex Alimentarius. (1978). Recommended International Code of Hygienic Practise for Molluscun Shellfish. (Volume B), CAC/RCP, Second Edition, FAO World Health Organisation, Rome.
- Connell, J.J. (1990). Control of Fish Quality. 3rd Ed., Fishing New Books, Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.
- Devlet Planlama Teşkilatı. (1989). V. Beş Yıllık Kalkınma Planı Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Su Ürünleri ve Su Ürünleri Sanayi. DPT, ÖİK: 308, Ankara.
- Erdemli, A. (1984). Tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus* ESCH, 1823). Akdeniz Univ., Isparta Müh. Fak. Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokulu Yay., 2. Isparta.
- Foster, J.F., Fowler, J.L., Dacey, J. (1977). A microbial survey of various fresh and frozen seafood products. J. Food Protect., 40, 300-303.
- Garthwaite, G.A. (1997). Chilling and freezing of fish. In: Fish Processing Technology. Hall, G.M. (Ed.) 2nd Ed., Chapman & Hall., New York.
- Göktan, D. (1990). Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi-Et Mikrobiyolojisi., Cilt I., Ege Univ., Basimevi, Bornova, İzmir.
- Gürel, A. (1997). Keban Baraj Gölü Tatlı Su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus* ESCH, 1823) Et Verimi ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Araştırmalar. Y.Lisans Tezi., Teksisir, Fırat Univ., Su Ürünleri Fak., Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ.

- Harrigan, W. F., McCance, M.E. (1976). Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology., Revised ed., Academic Press, London.
- Hayes, P.R. (1985). Food Microbiology and Hygiene. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., London.
- Huner, J., Barr, J. (1991). The Red Swamp Crawfish, Louisiana sea grant collage program. Canter for Wetland Resources Louisiana State University Baton Rouge, Louisiana.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). (1986). Microorganisms in Foods - 2. Sampling for Microbiological Analysis. 2nd Edition. University of Toronto Press, Toronto.
- Jay, J.M. (1996). Modern Food Microbiology. 5th Ed., Chapman and Hall, Dep. BC, 115 Fifth Avenue, New York.
- Liston, J. (1980). Fish and Shellfish and Their Products, In: Microbial Ecology of Foods. J.H.Silliker (Ed.), Vol.II. Academic Press, New York.
- Matches, J.R., Abeyta, C. (1983). Indicator Organisms in Fish and Shellfish. J. Food Technology, 37, 6, 114-117.
- Mitchell, N.J. (1970). A Simplified Method for Quantitative Microbiological Examination of Deep Frozen Seafood. J. Appl. Bacteriol., 33, 523-527.
- Oxoid. (1982). The Oxoid Manual. 50th Ed., Published by Oxoid Limited., Hampshire.
- Saunders, G.C. (1983). Microbiological Standards for Foodstuffs, Food legislation Surveys. No.9,Leatherhead British Food Manufacturing Industries Research Association.
- Speck, M. (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Prepared by the APHA Intersociety/Agency Committee on Microbiological Methods for Foods, Second Edition.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. (1981). Principles and Procedures of Statistics. 2nd Ed., McGraw Hill International Book Com.,Tokyo.
- Stockemer, J., Nieper, L. (1984). Parameter zur Beurteilung des Verderbs von Nordsee Krabben (*Crangon crangon*). Archiv für Lebensmittelhygiene, 35, 5-7.
- Swartzentruber, A., Schwab, A.H., Duran, A.P., Wentz, B.A., Read, J.R. (1980). Microbiological Quality of Frozen Shrimp and Lobster Tail in the Retail Market. J. Appl. and Environmental Microbiology, 40,4, 765-769.
- Şahin, Y. (1980). Ülkemizde bazı tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus* ESCH., Kerevit) akrabalık de-receleri ve doğal beslenme alışkanlıkları. Fırat Üniv., Vet. Fak. Derg., 5, 1,11-121
- Tolgay, Z., Tetik, İ. (1964). Muhtasar Gıda Kontrolü ve Analizleri Kılavuzu, Ege Matbaası, Ankara.
- Türkiye Ticaret, Sanayi, Deniz Ticaret Odaları ve Ticaret Borsaları Birliği. (1998). Bilgi Profili. Atatürk Bulvarı 149, Ankara.
- Varlık, C., Gökoğlu, N., Gün, H. (1993a). Dondurulmuş Karideslerin (*Penaeus longirostris*, Lucas, 1846) Depolanması. Ege Üniv., Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Derg., 10, 37-39, 71-81.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H. (1993b). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:17 , Ayrıntı Matbaası, Ankara.
- Wehr, H.M. (1982). Attitudes and Policies of Governmental Agencies on Microbial Criteria for Foods. an Update. J. Food Technol., 36, 45-54.