



Sodyum Laktat ve Timol'un Aynalı Sazan Balığı'ndan (*Cyprinus carpio* L.) Yapılan Köftelerin Bazı Mikrobiyolojik ve Duyusal Nitelikleri Üzerine Etkisi*

Pelin EROL¹, Osman İrfan İLHAK²

¹Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü-ELAZIĞ

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü-ELAZIĞ

Özet: Bu çalışma, aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balığı'ndan yapılan köftelerin bazı mikrobiyolojik, kimyasal ve duysal özellikleri üzerine timol ve sodyum laktat'ın tek başlarına ve kombine halde kullanımlarının etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Hazırlanan köfte örnekleri altı gruba (kontrol, %1 sodyum laktat, %0.1 timol, %0.25 timol, %1 sodyum laktat + %0.1 timol ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol) ayrıldı ve buzdolabı şartlarında (4±1°C) muhafazaya alınarak 0., 4., 6., 8. ve 10. günlerde mikrobiyolojik (psikrofilik aerobik mikroorganizma, koliform ve maya-küf), kimyasal (pH) ve duysal (lezzet, koku, renk) nitelikleri bakımından incelendi. Mikrobiyolojik analiz sonuçları, %1 sodyum laktat ile %1 sodyum laktat + %0.25 timol ilave edilmiş köfte örneklerinin diğer gruplara göre daha uzun muhafaza süresine sahip olduklarını (p<0.05) gösterdi. Duysal değerlendirme sonuçları lezzet açısından gruplar arasında farklılıklar olduğunu (p>0.05), artan timol konsantrasyonuna bağlı olarak bazı grupların kabul edilemez bir aromaya sahip olduklarını gösterdi. Sonuç olarak, balık köftelerine ilave edilen timol'un mikrobiyel ve muhafaza süresi açısından önemli sayılabilecek bir etki göstermediği, ancak duysal açıdan ise ürünün nitelikleri üzerine olumsuz etkiye sahip olduğu ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: Balık köftesi, mikrobiyolojik, duysal kalite, sodyum laktat, timol

Effect of Sodium Lactate and Thymol on Some Microbiological, Chemical and Sensory Attributes of Fish Patty Made from Mirror Carp Meat (*Cyprinus carpio* L.)

Summary: The present study was carried out to investigate the effects of thymol and sodium lactate, alone or in combination, on some microbiological, chemical and sensory attributes of fish patty made from common carp meat. Fish patty samples were separated into 6 groups (control, 1% sodium lactate, 0.1% thymol, 0.25% thymol, 1% sodium lactate + 0.1% thymol and, 1% sodium lactate + 0.25% thymol) and stored at 4°C and analyzed for microbiological (psychrophilic aerobic microorganisms, coliforms, yeast and mold), chemical (pH) and sensory (taste, odor and color) attributes on days 0, 4, 6, 8 and 10. Results of the microbiological analysis indicated that the fish ball samples treated with 1% sodium lactate and 1% sodium lactate + 0.25% thymol have longer shelf-life compared to the other groups (p<0.05). Results of the sensory evaluations showed that there were differences between the groups in point of taste (p<0.05), and some groups have an unacceptable aroma depending on the increase in the thymol concentration. As a result, it was concluded that addition of thymol into the fish patty did not show significant effect on the microbiological quality and shelf-life of the product; however it has a negative effect on the sensory attributes of the product.

Key Words: Fish patty, microbiological, sensory quality, sodium lactate, thymol

Giriş

Dünya nüfusunun hızla artması, besin kaynaklarına, özellikle de hayvansal protein kaynaklarına duyulan ihtiyacı artırmaktadır. Yeryüzünün yaklaşık %75'inin sularla kaplı olması su ürünlerini hayvansal protein ihtiyacını karşılamada önemli bir potansiyele sahip kılmaktadır. Su ürünleri içerisinde ön sırayı balık almaktadır. Düşük kolesterol içeriği, yüksek

miktarda çoklu doymamış yağ asitlerine sahip olması, hayati öneme sahip kalsiyum, fosfor ve iyot gibi mineralleri ve esansiyel aminoasitleri içermesi balık etini insan diyetinin önemli bir parçası haline getirmektedir (17,28).

Günümüzde gelişen teknoloji sayesinde su ürünleri de diğer gıda maddeleri gibi çok çeşitli biçimlerde işlenip, paketlenerek tüketime hazır hale gelmektedir. Bu durum hem damak tadına yenilikler sunmakta hem de uzun uğraşlar gerektirmeden lezzetli ve besleyici gıdalar tüketmemizi sağlamaktadır. Balık köftelerinin

Geliş Tarihi / Submission Date : 23.10.2014

Kabul Tarihi / Accepted Date : 06.01.2015

*Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiş Yüksek Lisans Tezi'nden özetlenmiştir (Proje no: VF.11.07).

raf ömrünün uzatılması ve duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesi üzerine yapılmış çalışmalar mevcuttur (2,8,20-22). Balık köftelerinin soğukta (4°C) muhafazası üzerine yapılmış bir çalışmada, genel olarak örneklerin 9. güne kadar tüketilebilir olduğu belirtilmiştir (2). Özpolat ve Çoban (22) ise kara balık ve sarı balık'tan yaptıkları köftelerin 4°C'de 20 gün boyunca muhafaza edilebildiğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada mikrobiyolojik analiz yapılmamış, depolama süresi sadece kimyasal parametreler yönünden değerlendirilmiştir. Öksüztepe ve ark. (21) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 4°C'de muhafaza edilen alabalık köftelerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının muhafazanın 6. gününde 7 log₁₀ kob/g'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir.

Son yıllarda tüketicilerin gıda maddelerinde kullanılan kimyasal koruyuculardan ziyade doğal koruyuculara olan talebi artmıştır. Gıda maddelerinin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü arttırmak için organik asitler ve türevleri doğal alternatifler olarak gösterilmektedir. Sodyum laktat, laktik asidin sodyum tuzudur ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration/FDA) tarafından kullanımı güvenli olan maddeler arasında sınıflandırılmıştır. Mikrobiyel gelişmeyi kontrol altına almak ve ürünün raf ömrünü uzatmak amacıyla çeşitli gıdalara direk katılmasına izin verilmiştir (29). Bitkisel esansiyel yağlar ve bileşenleri ise gıdalara lezzet ve aroma vermek amacıyla çok eski tarihlerden beri kullanılmaktadır. Son yapılan çalışmalarla da pek çok bitkisel esansiyel yağın bileşiminde bulunan fenolik bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu ortaya konmuştur (4,16,27).

Timol, kekik yağında bulunan ve antibakteriyel etkinliğe sahip olan fenolik bir bileşiktir. Timol'ün bakterinin stoplazmik membranının fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirdiğini ve membran geçirgenliğini artırarak hücreşel iyonların kaybına yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur (15,30). Her ne kadar bu bileşiklerin antimikrobiyel ve antioksidan etkileri gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmakta etkili olsa da, kullanıldıkları konsantrasyon ölçüsünde ürüne tat, aroma ve koku vermeleri kaçınılmazdır. Bu yüzden esansiyel yağların diğer muhafaza yöntemleri (düşük ısı, düşük doz radyasyon, modifiye atmosfer gibi) ile birlikte düşük dozlarda kullanılmaları önerilmiştir (26,27).

Bu çalışma, timol ve sodyum laktat'ın tek başlarına ve beraber kullanılmalarının sazan balığından yapılmış balık köftelerinin mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri ile pH değerleri üzerine etkilerini araştırmak ve bu iki maddenin birlikte kullanımının sinerjistik bir antimikrobiyel etkiye sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deneyşel balık köftesinin hazırlanması: Çalışmada, her biri ortalama 3-4 kg ağırlığa sahip 2-3 adet aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balığı materyal olarak kullanıldı. Balık örnekleri Elazığ ili balık pazarından sağlandı. Çalışma üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Balıkların derileri yüzdükten sonra filetoları çıkarıldı ve etin kılıçtıktan rahat ayrılması için 5-6 dk haşlandı. Et kılıçtıklarından temizlendikten sonra elle yoğrularak balık kıyması haline getirildi. Sonra aşağıda belirtilen katkı maddeleri ile homojen karıştırılarak balık köftesi haline getirildi. Balık köftesi yüzdeseş olarak; balık kıyması (%87), haşlanmış patates (%5), rendelenmiş soğan (%1.8), tuz (%1.6), kıyılmış maydanoz (%1.4), zeytinyağı (%1), un (%0.6), kimyon (%0.4), toz kırmızı biber (%0.4), toz karabiber (%0.4) ve yenibahar (%0.4) bileşiklerinden oluştu.

Hazırlanan balık köftesi; kontrol (sodyum laktat ve timol eklenmemiş) (1), %1 sodyum laktat (2), %0.1 timol (3), %0.25 timol (4), %1 sodyum laktat + %0.1 timol (5) ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol (6) olmak üzere altı gruba ayrıldı. Kontrol grubu hariç diğer gruplar için, ilave edilecek sodyum laktat (Sigma) ve timol (Sigma) miktarı kadar köfte (g) çıkarılarak yerine bu maddeler ilave edildi. Kontrol grubundan ise %1 olacak şekilde köfte çıkarıldı ve yerine aynı miktarda steril distile su eklendi. Bu şekilde köfte formülasyonundaki değişiklikler minimum düzeyde tutulmaya çalışıldı. Daha sonra her bir köfte grubundan yaklaşık 25-30 g olacak şekilde köfte örnekleri hazırlandı. Hazırlanan köfte örnekleri porsiyonlar halinde köpük tabaklara yerleştirilerek üzerleri streç film ile kapatıldı ve 4±1°C'de muhafazaya alındı. Köfte örnekleri üretimden hemen sonra (0. gün) ve muhafazanın 4., 6., 8, ve 10. günlerinde bazı mikrobiyolojik, duyuşal ve pH özellikleri yönünden analiz edildi.

Mikrobiyolojik analizler: Mikrobiyolojik analizler için her gruptan 10 g balık köftesi örneği steril stomacher poşetlerine tartıldı. Üzerine 90 ml % 0.1'lik steril peptonlu su eklenerek homojenizatörde

(Bagmixer Stomacher 400™) 1 dk homojenize edildi ve 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle 10^{-7} 'ye kadar desimal dilüsyonlar hazırlandı. Bu sulandırmalardan genel ve selektif besiyerlerine dökme yöntemiyle ekimler yapıldı. Psikrofilik aerobik mikroorganizma sayımında Plate Count Agar (LAB M™, Lancashire, UK) kullanıldı. Plaklar $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (11,12). Koliform sayımı için Violet Red Bile Agar (LAB M™, Lancashire, UK) kullanıldı. Çift kat dökme yöntemiyle ekimi yapılan petriyeler $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (12). Örneklerdeki maya-küf sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar besiyeri (Merck™, Darmstadt, Germany) kullanıldı. Plaklar $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (11).

pH ölçümü: Balık köfte örneklerinden 10 g alınıp 100 ml distile suyla 1 dk süreyle homojenizatörde parçalandıktan sonra pH metre (Selecta pH 2001™) ile ölçüm yapıldı.

Duyusal analizler: Duyusal analizler, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı personeli tarafından yapıldı. Ayrı tavalarda pişirilmiş olan altı grup örnek panelistlere sunuldu. Ürünler renk, görünüş, koku, gevreklik, lezzet ve genel beğeni yönünden 0 ile 5 arası puana göre (5=çok iyi, 4=iyi, 3= normal, 2=kötü, 1=çok kötü) değerlendirildi.

İstatistiksel analizler: Örnekler için tüm veriler Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., Version 8, 2000) programı kullanılarak istatistiksel analize tabi tutuldu (24). Çalışmadan elde edilen mikrobiyolojik değerler Log_{10} kob/g'a çevrildikten sonra, uygulama grupları (6 grup) X örnekleme günleri (5 gün; 0, 4, 6, 8, 10. gün) arasında ikili değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varyans analizine (two way anova) tabi tutuldu. General Linear Model prosedürlerine göre en düşük kareler ortalamaları Fisher's Least Significance Difference (LSD) test ve Tukey testi kullanılarak ayrıştırıldı ve önem seviyesi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Köfte yapımında kullanılan çiğ filetonun ortalama psikrofilik aerobik mikroorganizma (PAM), koliform ve maya-küf sayıları sırasıyla 3.56, 2.77 ve 2.23 log_{10} kob/g seviyesinde tespit edildi. Köfte yapımını takiben yapılan (0. gün) mikrobiyolojik analizlerde PAM, koliform ve maya-küf sayılarında gruplara

göre değişmekle birlikte bir miktar artış tespit edildi (Tablo 1).

Genel olarak, tüm gruplarda mikroorganizma sayısı artışına bağlı olarak muhafaza günleri arasında farklılıklar tespit edildi ($p<0.05$). Muhafazanın 6. gününde, kontrol grubu, %0.1 timol ve %1 sodyum laktat + %0.1 timol içeren gruplarda PAM sayısı 7 log_{10} kob/g seviyesinin üzerine çıktı. %1 sodyum laktat + %0.25 timol içeren grup 8. gün, %1 sodyum laktat içeren grup ise muhafazanın 10. günü 7 log_{10} kob/g seviyesini aştı. Muhafazanın 8. günü ileri derecede bozulma belirtileri (kokuşma ve yüzeyde sümüksü tabaka) gösteren kontrol grubu, %0.1 timol ve %1 sodyum laktat + %0.1 timol içeren grupların analizi yapılmadı. Muhafaza süresince, %1 sodyum laktat ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol kombinasyonu içeren grupların PAM sayıları kontrol grubundan farklı bulunurken ($p<0.05$), kendi aralarında bir farklılık olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Muhafazanın 10 günü %1 sodyum laktat + %0.25 timol kombinasyonu içeren grupta şiddetli bozulma belirtileri tespit edildi.

Koliform sayısı açısından, muhafazanın 6. gününde %1 sodyum laktat ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol içeren gruplar kontrol grubu ve sadece timol (%0.1 ve %0.25) içeren gruplardan farklı bulundu ($p<0.05$). Kontrol grubu, %0.1 timol ile %0.25 timol içeren gruplardaki koliform sayısı muhafazanın 6. gününde 6 log_{10} kob/g'ın üzerine çıkarken, %1 sodyum laktat ile %1 sodyum laktat + %0.25 timol içeren gruplarda muhafazanın 8. gününde hala 6 log_{10} kob/g'ın altındaydı (Tablo 1). Maya-küf sayıları bakımından muhafazanın 4 ve 6. günlerinde %1 sodyum laktat ile %1 sodyum laktat + %0.25 timol kombinasyonu içeren gruplar kontrol ve diğer gruplardan farklı bulunurken ($p<0.05$), kendi aralarında bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Maya-küf sayısı, %1 sodyum laktat ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol içeren grupların haricindeki diğer gruplarda muhafazanın 6. gününde 5 log_{10} kob/g'ın üzerine çıkarken, bu gruplarda muhafazanın 8. gününde 5 log_{10} kob/g'ın altında bulundu (Tablo 1).

Köfte yapımında kullanılan filetonun ortalama pH değeri 6.71 olarak tespit edildi (Tablo 2). Köfte yapımını takiben yapılan 0. gün analizinde, %0.1 timol ve %1 sodyum laktat + %0.1 timol içeren gruplar diğer gruplardan farklı bulundu ($p<0.05$). Muhafaza süresince gruplara göre değişmekle birlikte pH değerleri 6.58 ile 6.71 arasında dalgalanmalar gösterdi.

Tablo 1. Balık köftelerinin 4±1°C’de muhafazası esnasında psikrofilik aerobik mikroorganizma, koliform ve maya-küf sayılarında meydana gelen değişimler (log₁₀ kob/g ± SD) (N=3, n=1)

Mikroorganizma	Fileto	Köfte örnekleri	Muhafaza süresi (gün)				
			0	4	6	8	10
Psikrofilik aerobik mikroorganizma	3.56 ± 0.32	Kontrol	4.41 ^{ax} ± 0.07	6.67 ^{aby} ± 0.21	7.55 ^{az} ± 0.18	AY	
		%1 SL	4.67 ^{ax} ± 0.21	4.95 ^{cx} ± 0.13	5.71 ^{cy} ± 0.25	6.70 ^{az} ± 0.39	7.51 ^w ± 0.44
		%0.1 timol	4.84 ^{ax} ± 0.18	6.57 ^{aby} ± 0.19	7.81 ^{az} ± 0.22	AY	
		%0.25 timol	4.93 ^{ax} ± 0.26	6.90 ^{ay} ± 0.21	6.84 ^{by} ± 0.25	AY	
		%1 SL+%0.1 timol	4.62 ^{ax} ± 0.18	6.04 ^{by} ± 0.27	7.47 ^{abz} ± 0.50	AY	
		%1 SL+%0.25 timol	4.35 ^{ax} ± 0.08	4.93 ^{cx} ± 0.35	6.24 ^{bcy} ± 0.22	6.92 ^{ay} ± 0.30	
Koliform	2.77 ± 0.25	Kontrol	3.59 ^{ax} ± 0.28	5.15 ^{aby} ± 0.39	6.22 ^{ay} ± 0.24	AY	
		%1 SL	3.76 ^{ax} ± 0.38	4.77 ^{by} ± 0.13	4.94 ^{by} ± 0.41	5.32 ^{ayz} ± 0.43	6.29 ^{zw} ± 0.36
		%0.1 timol	3.75 ^{ax} ± 0.42	5.65 ^{ay} ± 0.31	6.55 ^{az} ± 0.43	AY	
		%0.25 timol	3.54 ^{ax} ± 0.35	5.96 ^{ay} ± 0.31	6.73 ^{az} ± 0.15	AY	
		%1 SL+%0.1 timol	3.70 ^{ax} ± 0.26	5.12 ^{aby} ± 0.49	5.43 ^{aby} ± 0.25	AY	
		%1 SL+%0.25 timol	3.59 ^{ax} ± 0.33	4.42 ^{by} ± 0.24	4.86 ^{by} ± 0.61	5.92 ^{az} ± 0.28	
Maya-küf	2.23 ± 0.23	Kontrol	3.06 ^{ax} ± 0.26	4.07 ^{ay} ± 0.32	5.43 ^{az} ± 0.29	AY	
		%1 SL	2.71 ^{ax} ± 0.45	3.15 ^{bcx} ± 0.38	3.71 ^{by} ± 0.25	4.09 ^{ay} ± 0.12	4.73 ^{zw} ± 0.19
		%0.1 timol	2.73 ^{ax} ± 0.26	4.03 ^{aby} ± 0.22	5.66 ^a ± 0.25	AY	
		%0.25 timol	3.34 ^{ax} ± 0.30	4.40 ^{ay} ± 0.42	5.57 ^a ± 0.28	AY	
		%1 SL+%0.1 timol	2.83 ^{ax} ± 0.38	4.16 ^{ay} ± 0.16	5.00 ^a ± 0.37	AY	
		%1 SL+%0.25 timol	3.10 ^{axy} ± 0.39	2.86 ^{cx} ± 0.20	3.78 ^{by} ± 0.26	4.95 ^{az} ± 0.18	

^{abc}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak diğerlerinden farklıdır (P<0,05)

^{xyzw}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak diğerlerinden farklıdır (P<0,05)

AY: Analiz yapılmadı

SL: Sodyum laktat

Kızartılmış köfte örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları incelendiğinde, gruplar arasında renk açısından çok önemli farklılıklar görülmezken, lezzet ve koku açısından farklılıklar bulundu (p<0.05). Genel olarak, %0.25 timol ve %1 sodyum laktat + %0.25 timol içeren köfte örnekleri lezzet açısından ktu olarak (2 puan ve aşağısı) değerlendirildi. Bu grup köftelerde timol'den kaynaklanan hoş olmayan bir lezzet tespit edildi. Benzer şekilde, %0.1 timol içeren balık

köfteleri, kontrol grubu ve %1 sodyum laktat içeren örneklerle göre daha düşük puanla değerlendirildi. %1 sodyum laktat içeren köfte örnekleri ise 8. gün dahil muhafaza süresince gerek lezzet gerekse koku açısından ortalamasının üzerinde puan aldı (Tablo 2).

Tablo 2. Balık köftelerinin 4±1°C'de muhafazası esnasında elde edilen pH ve duyuşsal analiz sonuçları (N=3, n=1)

Değer	Köfte örnekleri	Muhafaza süresi (gün)				
		0	4	6	8	10
pH	Kontrol	6.69 ^{ay}	6.56 ^{ax}	6.58 ^{bx}	AY	
	%1 SL	6.70 ^{ay}	6.54 ^{ax}	6.69 ^{axy}	6.71 ^{ay}	6.67 ^{xy}
	%0.1 timol	6.58 ^{bx}	6.63 ^{ax}	6.61 ^{abx}	AY	
	%0.25 timol	6.69 ^{ax}	6.58 ^{ax}	6.60 ^{abx}	AY	
	%1 SL+%0.1 timol	6.59 ^{bx}	6.60 ^{ax}	6.57 ^{bx}	AY	
	%1 SL+%0.25 timol	6.69 ^{ax}	6.58 ^{ax}	6.61 ^{abx}	6.63 ^a	
Lezzet	Kontrol	4.86 ^{ax}	3.57 ^{aby}	2.86 ^{bz}	AY	
	%1 SL	4.86 ^{ax}	4.00 ^{ay}	3.43 ^{ay}	3.00 ^{ayz}	2.71 ^z
	%0.1 timol	3.43 ^{abx}	3.43 ^{bx}	3.00 ^{abx}	AY	
	%0.25 timol	1.86 ^{dx}	2.00 ^{dx}	1.71 ^{dx}	AY	
	%1 SL+%0.1 timol	3.29 ^{bx}	2.71 ^{cx}	2.71 ^{cx}	AY	
	%1 SL+%0.25 timol	2.14 ^{cx}	1.71 ^{dx}	2.00 ^{cx}	1.86 ^{bx}	
Koku	Kontrol	4.86 ^{ax}	4.00 ^{aby}	3.43 ^{by}	AY	
	%1 SL	4.86 ^{ax}	4.43 ^{ax}	3.86 ^{axy}	3.14 ^{ay}	2.86 ^{yz}
	%0.1 timol	4.57 ^{ax}	3.86 ^{by}	3.29 ^{by}	AY	
	%0.25 timol	2.71 ^{dx}	2.86 ^{cx}	2.71 ^{cx}	AY	
	%1 SL+%0.1 timol	3.71 ^{bx}	3.57 ^{bx}	3.29 ^{bx}	AY	
	%1 SL+%0.25 timol	3.14 ^{cx}	3.00 ^{cx}	2.57 ^{cx}	2.57 ^{bx}	
Renk	Kontrol	4.86 ^{ax}	4.57 ^{abx}	4.29 ^{ax}	AY	
	%1 SL	4.86 ^{ax}	4.71 ^{ax}	4.43 ^{ax}	4.29 ^{axy}	4.14 ^y
	%0.1 timol	4.71 ^{ax}	4.29 ^{bx}	4.14 ^{ax}	AY	
	%0.25 timol	4.71 ^{ax}	4.43 ^{abx}	4.29 ^{ax}	AY	
	%1 SL+%0.1 timol	4.57 ^{ax}	4.43 ^{abx}	4.40 ^{ax}	AY	
	%1 SL+%0.25 timol	4.57 ^{ax}	4.57 ^{abx}	4.14 ^{axy}	3.86 ^{by}	

^{abcd}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak diğerlerinden farklıdır (p<0.05)

^{xyz}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak diğerlerinden farklıdır (p<0.05)

AY: Analiz yapılmadı

SL: Sodyum laktat

Duyuşsal değerlendirme için: 5= çok iyi 4= iyi 3= normal 2= kötü 1= çok kötü

Tartışma ve Sonuç

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde soğutulmuş balık ve hazırlanmış balık ürünleri için genel canlı mikroorganizma sayısı ile ilgili olarak bir kriter belirtilmemiştir. Uluslar arası bağımsız bir kuruluş olan International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF)

ise soğutulmuş çiğ balıklar için maksimum genel canlı mikroorganizma sayısını 7 log₁₀ kob/g olarak belirtmiş, hazırlanmış balık ürünleri için bir kriter belirtmemiştir (13).

Köfte gruplarının hazırlanmasının ardından yapılan analizlerde (0. gün) tüm köfte gruplarında PAM, koliform ve maya-küf sayılarının fileto-

bulunandan bir miktar daha fazla olduğu görüldü. Bu artış muhtemelen köfte yapımı esnasındaki bulaşmalardan, kullanılan baharatlar ile sebzelerden kaynaklanmaktadır. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, balık köftesine %0.1 veya %0.25 oranında ilave edilen timol'un ürünün PAM, koliform ve maya-küf sayıları üzerine etkisi olmadığı görüldü. Sodyum laktat ve tyhmol'un beraber ilave edildiği köftelerin muhafaza sürelerinin sadece %1 sodyum laktat ilave edilen köftelere göre daha kısa olduğu görüldü. Bu durumda, balık köftelerinde sodyum laktat ile timol'un bir arada kullanılmasının PAM sayıları üzerine sinerjistik bir etkiye sahip olmadığı, tam tersine timol ilavesinin sodyum laktatın etkisini bir miktar engellediği söylenebilir. Yapılan literatür taramasında, sodyum laktat ve timol'un kombine halde kullanıldığı ve gıdanın raf ömrünün incelendiği başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak, bazı ürünlerde sodyum laktat veya timol'un tek başına kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Öksüztepe ve ark. (21), %1 sodyum laktat ilave edilen alabalık köftelerinin raf ömrünün 4°C'de en fazla 8 gün olduğunu, kontrol grubunun ise muhafazanın 6. gününde yaklaşık 8 log₁₀ kob/g mezofilik aerobik mikroorganizma sayısına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Akkuş ve ark. (2) ise çiğ ve haşlanmış hamsi etinden balık köftesi yaparak bu ürünlerin 4°C'de raf ömrünü araştırmışlardır. Araştırmacılar, başlangıç (0. gün) mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı yaklaşık 4.8 log₁₀ kob/g olan balık köftelerinde muhafazanın 9. gününde bu sayının 7 log₁₀ kob/g seviyesine ulaşmadığını ifade etmişlerdir. Bildirdikleri sonuç, bu çalışmadaki ve incelenen diğer çalışmalardaki kontrol grubu köftelerin raf ömrü ile karşılaştırıldığında çok büyük bir farklılık göstermektedir. Bu farklılığın balık köftesine ilave edilen sarımsak miktarından kaynaklandığı söylenebilir. Dolayısıyla elde ettikleri bu çok uzun raf ömrünün ürünün içerisine ilave ettikleri sarımsaktan kaynaklandığı söylenebilir.

Timol ile ilgili yapılan bir çalışmada, sazan filetoları %1 timol + %1 carvacrol içeren solüsyon içerisinde 15 dk daldırma işleminin ardından 5°C'de muhafazaya alınmış ve filetoların raf ömrü incelenmiştir (18). Araştırmacılar, sazan filetolarında mezofilik aerobik mikroorganizma sayılarının muhafazanın 12. gününde dahi 6 log₁₀ kob/g'ı geçmediğini, 16. günde ise 8 log₁₀ kob/g olarak belirlendiğini bildirmişlerdir (18). Sonuçlar kıyaslandığında; bu çalışmada elde edilen raf ömrünün çok üzerinde bir raf ömrüne ulaşıldığı görülmektedir. Bu farklılık materyal ve metot ile katılan timol miktarı ile açıklanabilir. Schirmer ve Langsrud (25), %0.4 oranında timol

ilave ettikleri marine domuz etini vakum paketlenip 4°C'de muhafaza etmişlerdir. Sonuç olarak, %0.4 oranında timol'un ette bozulmaya neden olan bakteriler üzerine herhangi bir antibakteriyel etki göstermediğini bildirmişlerdir.

Köfte grupları koliform grubu bakteriler yönünden incelendiğinde, yine en etkili uygulamanın %1 sodyum laktat olduğu ve bunu %1 sodyum laktat + %0.25 timol kombinasyonunun izlediği görülmektedir. Dolayısıyla, kullanılan konsantrasyonlarda timol'un koliform grubu bakteriler üzerine etkisinin olmadığı söylenebilir. Bazı istisnalar bildirilmiş olsa da, genel olarak Gram negatif bakterilerin esansiyel yağlara ve bileşiklerine karşı daha dirençli olduğu ifade edilmiştir (3,5). Bu direncin sebebi olarak Gram negatif bakterilerde plazma membranını çevreleyen dış membranın lipofilik fenolik bileşiklerin hücre içerisine girişini zorlaştırması gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada da, Gram negatif özellik gösteren koliform grubu bakteriler üzerine timol'un antimikrobiyel aktivite göstermemesi bu duruma bağlanabilir. Timol'un PAM üzerine antimikrobiyel etkisinin görülmeşi de aynı şekilde yorumlanabilir. Çünkü genel olarak balıklarda dominant doğal florayı *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Moraxella* ve *Aeromonas* türleri gibi Gram negatif psikrofilik bakteriler oluşturmaktadır (1,6).

Öksüztepe ve ark. (21) tarafından yapılan çalışmada, alabalık köftelerine ilave edilen %1 oranındaki sodyum laktatın koliform grubu bakteriler üzerine etkili bulunduğu ifade edilmiştir. Çetin ve Bostan (7) İnegöl köftelerine ilave ettikleri %1 oranındaki laktatın koliform grubu bakteriler üzerine baskılayıcı etkide bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da, sazan köftelerine ilave edilen %1 oranındaki sodyum laktatın koliform türleri üzerine etkili olduğu görülmüştür.

Maya ve küfler normal olarak balık florasında bulunmazlar. Bu mikroorganizmalar genellikle toprak orjinli olup, balıkların avlandıktan sonra temas ettikleri yüzey, alet ve malzemelerden bulaşmaktadır (9,23). Bu çalışmada, filetoda 2.23 log₁₀ kob/g seviyesinde olan maya-küf sayısı köfte yapımı esnasında tüm gruplarda bir miktar artış göstermiş ve muhafaza süresince bu artış gruplara bağlı olarak az veya çok miktarda devam etmiştir. Çetin ve Bostan (7), %1 oranında sodyum laktat ilave ettikleri İnegöl köfteleri 10 gün boyunca buzdolabında muhafaza etmişler ve muhafaza süresi içerisinde maya-küf sayısı bakımından

sodyum laktat ilave edilen grup ile kontrol grubu arasında farklılık bulunduğunu tespit etmişlerdir. Öksüztepe ve ark. (21), %1 oranında sodyum laktat ilave edilen alabalık köftelerinin maya küf sayısı bakımından kontrol grubuna göre daha iyi durumda olduğunu bildirmişlerdir.

Köfte örneklerinin pH değerleri incelendiğinde, muhafaza süresince pH değerlerinin çok dar bir aralıkta (6.54 – 6.71) dalgalandığı ve muhafaza süresince fazla bir artış göstermediği tespit edildi. Gerek sodyum laktat ve gerekse esansiyel yağlarla yapılan çalışmalarda pH'nın bu maddelerin antimikrobiyel etkinliğiyle yakın ilişki içerisinde olduğu belirtilmektedir (5,10,19,27). Gıda maddesinin pH'sı düştükçe sodyum laktatın antimikrobiyel etkisinin arttığı bildirilmiştir (19). Bu çalışmada kullanılan köfte örneklerinin pH değerinin yüksek olması sodyum laktatın antimikrobiyel etkisi üzerine negatif etki göstermiş olabilir. Esansiyel yağların antimikrobiyel etkileri üzerine yapılan çalışmalarda da (10,26,78), gıdanın pH'sı düştükçe esansiyel yağların antimikrobiyel etkilerine karşı bakterilerin duyarlılığının arttığı bildirilmiştir. Juven ve ark. (14), timol'ün bakteriler üzerine inhibe edici etkisinin pH 5.5'te pH 6.5'e göre çok daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, timol moleküllerinin düşük pH'larda daha hidrofobik olduğunu ve böylece hücre membranının lipid tabakasında daha kolay yayılabileceğini söylemişlerdir. Çalışmamızda timol'den beklenen etkinin elde edilememesinin sebeplerinden biri de köfte örneklerinin pH'sının 6.5'in üzerinde olması olabilir. Ayrıca, gıdada yüksek oranda bulunan yağ veya proteinin bakterileri esansiyel yağların etkisinden koruduğunu da bildiren çalışmalar mevcuttur (5,26).

Esansiyel yağların ürünlerde kullanılmasının önündeki en büyük engel lezzet ve koku üzerine olan olumsuz etkileridir (5,26,27). Yapılan bu çalışmada da, %0.25 oranında timol'ün tek başına veya %1 oranında sodyum laktat ile birlikte kullanıldığı köfte örneklerinin diğer gruplarla karşılaştırıldığında kabul edilemez bir lezzete ve kokuya sahip oldukları tespit edildi. Yapılan değerlendirmede en düşük puanı bu gruplar aldı. Aynı şekilde, %0.1 oranında timol içeren balık köfteleri her ne kadar kabul edilebilir bir lezzete ve kokuya sahip olsa da, yapılan değerlendirmede kontrol ve %1 sodyum laktat içeren gruplara göre daha düşük puan aldılar. Renk açısından değerlendirildiğinde, gruplar genel olarak birbirine yakın puanlar aldılar.

Sonuç olarak, balık köftelerine %1 sodyum laktat ile birlikte veya tek başına %0.1 veya %0.25 timol ilavesinin ürünün duyu ve mikrobiyel kalitesi üzerine olumlu bir etki yapmadığı, sodyum laktat ile birlikte kullanıldıklarında sinerjistik bir etki göstermedikleri, aksine sodyum laktatın etkisini zayıflattıkları kanaatine varılmıştır. Aynı zaman da, timol'ün çok yoğun aromatik etkisinden dolayı %0.1'in üzerindeki konsantrasyonlarda ürünün lezzetini ve kokusunu olumsuz etkilediği belirlenmiştir.

Teşekkür

Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne verdikleri destek (Proje No: VF.11.07) dolayısıyla teşekkür ederiz.

Kaynaklar:

1. Al-Harbi AH, Uddin MN. Aerobic bacterial flora of common carp (*Cyprinus carpio* L.) cultured in Earthen Ponds in Saudi Arabia. J Appl Aquacult 2008; 20(2): 108-19.
2. Akkuş Ö, Varlık C, Erkan N, Mol S. Çiğ ve haşlanmış balık etinden yapılmış köftelerin bazı kalite parametrelerinin incelenmesi. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28(1): 79-85.
3. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiol 2004; 21(1): 33-42.
4. Bajpai VK, Baek K-H, Kang SC. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. Food Res Int 2012; 45(2): 722-34.
5. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. Int J Food Microbiol 2004; 94(3): 223-53.

6. Cahill MM. Bacterial flora of fishes: A review. *Microb Ecol* 1990; 19 (1): 21-41.
7. Çetin B, Bostan K. Hazır köftelerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine sodyum laktatın etkisi. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26(4): 843-8.
8. Ersoy B, Yılmaz AB. Karabalık (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) köftesinin dondurularak muhafazası. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27(4): 827-32.
9. Göktan D. Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi Cilt 1 Et Mikrobiyolojisi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1990; pp. 149-165.
10. Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int J Food Microbiol* 2008; 124(1): 91-7.
11. Halkman AK. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ankara: Başak Matbaacılık Ltd. Şti., 2005; p. 136.
12. Harrigan WF. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Third Edition. London: Academic Press Limited, 1998; p. 165.
13. ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. *Microorganisms in Foods 2. Sampling for Microbiological Analyses: Principles and specific applications*. Second Edition. Toronto: Blackwell Scientific Publications, 1986; p. 190.
14. Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol* 1994; 76(6): 626-31.
15. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol* 2001; 91(3): 453-62.
16. Lv FEI, Liang H, Yuan Q, Li C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res Int* 2011; 44(9): 3057-64.
17. Mahaffey KR. Fish and shellfish as a dietary sources of methylmercury and the ω -3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risk and benefits. *Environ Res* 2004; 95(3): 414-28.
18. Mahmoud BSM, Yamazaki K, Miyashita K, Il-Shik S, Dong-Suk C, Suzuki T. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiol* 2004; 21(6): 657- 66.
19. Mani-López E, Garcia HS, López-Malo A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Res Int* 2012; 45(2): 713-21.
20. Metin S, Erkan N, Varlık C. The application of hypoxanthine activity as a quality indicator of cold stored fish burgers. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26(2): 363-7.
21. Öksüztepe G, Çoban ÖE, Güran HŞ. Sodyum laktat ilavesinin taze gökkuşluğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* W) yapılan köftelere etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16 (Supply A): 65-72.
22. Özpolat E, Çoban ÖE. Kara balık (*Capoeta trutta*, Heckel, 1843) ve Sarı balığın (*Capoeta umbla*, Heckel, 1843) köfte olarak değerlendirilmesi ve kalite kriterleri üzerine farklı muhafaza sıcaklıklarının etkisi. *Ege J Fish Aqua Sci* 2012; 29(3): 127-31.
23. Patır B, Inanlı AG, Oksuztepe GA, Dincoglu AH, İlhak OI. Shelf-life, sensory attributes and microbiological and chemical characteristics of processed mirror carp (*Cyprinus carpio* L) filets. *J Anim Vet Adv* 2009; 8(6): 1101-9.

24. SAS Institute Inc., 2000. SAS/STAT® User's Guide SAS system, Version 8.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
25. Schirmer BC, Langsrud S. Evaluation of natural antimicrobials on typical meat spoilage bacteria in vitro and in vacuum-packed pork meat. J Food Sci 2010; 75(2): M98-M102.
26. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 2010; 21(9): 1199–218.
27. Tiwari BK, Valdramidis VP, O'donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. Application of natural antimicrobials for food preservation. J Agric Food Chem 2009; 57(14): 5987–6000.
28. Valverde IM, Periago MJ, Santaella M. The content and nutritional significance of minerals on fish flesh in the presence and absence of bone. Food Chem 2000; 71(4): 503-9.
29. United State Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS). Food additives for use in meat and poultry products: Sodium diacetate, sodium acetate, sodium lactate and potassium lactate. In: Rules and regulations. Fed. Reg. 65(3), 3121–3123. 9CFR Part 424, (Docket No. 99-028DF). 2000.
30. Xu J, Zhou F, Ji BP, Pei RS, Xu N. The antimicrobial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. Lett Appl Microbiol 2008; 47(3): 174–9.

Yazışma Adresi:

Doçent Doktor Osman İrfan İlhak
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin
Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 23119,
Elazığ-TÜRKİYE
Tel: 0 424 2470000/3962
Email: oiih@firat.edu.tr
irfanilhak@hotmail.com