

Effects of Organic Acid Treatments and Modified Atmosphere Packaging on the Presence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 and Shelf-life in Meatballs

Funda YILMAZ EKER¹, Esra AKKAYA^{1*}, Enver Barış BİNGÖL¹

¹Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, İstanbul University-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effects of modified atmosphere packaging (ambient air, 80:20/O₂:CO₂ - MAP-O₂, 0.4:30:69.60/CO:CO₂:N₂ - MAP-CO) combined with organic acid (1% and 2% sodium lactate, 0.5% potassium sorbate, 0.5% sodium citrate and 1% sodium acetate) addition on the presence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in meatballs and the quality changes during cold storage. In this context, meatball samples experimentally contaminated with *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 strains were treated with the relevant organic acids and then subjected to modified atmosphere packaging process. The samples were evaluated in terms of microbiological, physicochemical and sensory parameters during the 15-day storage period. The addition of 2% sodium lactate provided the highest inhibition on the number of *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 in meatballs among the organic acids, while the combined CO packaging was the highest inhibition among the treatments. It was determined that off-odour formation was decreased in meatballs added with organic acids and packaged with CO, while red colour stability was achieved in sodium lactate-treated samples, the highest red colour values were observed in meatball samples packaged with CO. In conclusion, the application of organic acid treatment in combination with modified atmosphere packaging inhibits pathogenic microorganisms while prolonging the shelf-life and preserving the sensory properties of meatballs.

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, Meatballs, Modified Atmosphere Packaging, Organic acid, Shelf-life, *Staphylococcus aureus*

Organik Asit Uygulamalarının ve Modifiye Atmosfer Paketlemenin Köftelerde *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 Varlığı ve Raf Ömrü Üzerine Etkileri

ÖZ

Bu çalışma, organik asit (%1 ve %2 sodyum laktat, %0,5 potasyum sorbat, %0,5 sodyum sitrat ve %1 sodyum asetat) ilavesi ile kombine modifiye atmosfer paketleme uygulamalarının (ortam havası, 80:20/O₂:CO₂ - MAP-O₂, 0,4:30:69,60/CO:CO₂:N₂ - MAP-CO) köftelerde *Staphylococcus aureus* ile *Escherichia coli* O157:H7 varlığı üzerine etkilerini belirlemek ve soğuk muhafaza süresince kalite değişimlerini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, deneysel olarak *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 suşları ile kontamine edilen köfte örnekleri ilgili organik asitler ile muamele edildikten sonra modifiye atmosfer paketleme işlemine tabi tutulmuştur. Örnekler 15 günlük muhafaza süresi boyunca mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal parametreler yönünden değerlendirilmiştir. %2 sodyum laktat ilavesi köftelerdeki *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 sayısı üzerinde organik asitler içerisinde en yüksek inhibisyonu sağlarken, kombine olarak CO ile paketleme uygulamaları arasında en yüksek inhibisyon kaydedilen işlem olmuştur. Organik asit ilave edilen ve CO ile paketlenen köftelerde kötü koku oluşumunun azaldığı, sodyum laktat ile muamele edilen örneklerde kırmızı renk stabilitesi sağlarken en yüksek kırmızı renk değerlerinin CO ile paketlenen köfte örneklerinde gözlemlendiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, organik asit muamelesinin modifiye atmosfer paketlemeyle birlikte uygulanması patojen mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon oluştururken, köftelerin raf ömrünün uzamasına ve duyuşal özelliklerinin de korunmasına olanak sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli* O157:H7, Köfte, Modifiye Atmosfer Paketleme, Organik Asit, Raf Ömrü, *Staphylococcus aureus*

To cite this article: Yılmaz Eker F, Akkaya E, Bingöl E.B. Effects of Organic Acid Treatments and Modified Atmosphere Packaging on the Presence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 and Shelf-life in Meatballs. Kocatepe Vet J. (2024) 17(3): 203-213

Submission: 05.04.2024 Accepted: 24.07.2024 Published Online: 02.9.2024

ORCID ID; FYE: 0000-0003-4315-5363, EA: 0000-0002-2665-4788, EBB: 0000-0002-6452-4706

*Corresponding author e-mail: esra.akkaya@iuc.edu.tr

GİRİŞ

Kırmızı et, değerli proteinleri yüksek düzeyde içermesi sebebiyle elzem bir besin kaynağıdır. Aynı zamanda pek çok farklı ürüne dönüştürülerek tüketime sunulan kırmızı et, bozulma yapıcı ve patojen mikroorganizmaların üremesi için riskli gıdalar arasındadır (Djenane ve ark. 2016; Djenane ve Roncalés 2018). Özellikle kıyma ve köfte gibi et ürünleri, yapısal özellikleri nedeniyle mikrobiyal kontaminasyon açısından yüksek risk taşıyan ve bu nedenle koruyucu müdahaleler gerektiren gıdalar olarak değerlendirilmektedir. Bunun yanı sıra; köftenin hijyenik kalitesi üretim yöntemine, çiğ kıymaya eklenen baharat ve diğer bileşenlerin kalitesine ve üreticilerin kişisel hijyenine bağlı olarak değişebilmektedir (Bingol ve ark. 2012; Bingol ve ark. 2014; Meng ve ark. 2022). Belirli bir mikroorganizma yüküne sahip köfte gibi et ürünlerinde saklama koşullarının bozulması, paketlenme hataları, yetersiz ısı uygulamaları gibi dış faktörler de gıda zehirlenmesi riskini arttırarak halk sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu bağlamda, et ürünlerinde söz konusu risk durumunu bertaraf etmek için çeşitli muhafaza yöntemleri uygulanmaktadır. Soğutma ve dondurma işlemi, kıyma ve köftelerin muhafazası için en çok tercih edilen geleneksel yöntemlerdendir (Ozturk ve ark. 2017). Bunlara ilaveten, antimikrobiyal maddelerin kullanımı da bozulma yapıcı ve patojen mikroorganizmaların gelişimini önleyerek veya inhibisyonuna neden olarak gıda maddesinin hijyenik kalitesini sağlamak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla tercih edilen başarılı muhafaza yöntemlerinden biridir (Pegg ve Shahidi 2000; Theron ve Lues 2007). Bu antimikrobiyal maddeler arasında organik asitler ve tuzları; erişilebilirlikleri, toksik olmamaları ve yüksek etkinlikleri nedeniyle et endüstrisinde yaygın olarak kullanılan doğal bileşiklerdir (Coban 2020). Et ürünlerinde kullanılan bu asitler GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) listesinde yer almakta olup, FDA (U.S. Food and Drug Administration, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylı maddelerdir (Mir ve Masoodi 2018). Laktatlar, asetatlar, sitratlar ve sorbatlar gıda endüstrisinde ürünün yapısal özelliklerini geliştirmek ve mikrobiyal büyümeyi yavaşlatmak için kullanılan organik katkı maddeleridir. Laktatlar (L(+)-laktik asit tuzları) mikrobiyal güvenliği sağlamak, raf ömrünü uzatmak, renk stabilitesi sağlamak ve lipid oksidasyonunu en aza indirmek için yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlardır (Kim ve ark. 2006; Mancini ve ark. 2009; Mancini ve ark. 2010). Asetatlar, asetik asidin düşük pKa (asidik iyonlaşma sabiti; 4,76) değeri ve asetatların büyük bir kısmının ayrılmamış formda kalması nedeniyle et ve et ürünlerinde kullanılan güçlü antimikrobiyal maddeler olarak bilinmektedir. Asetatların antioksidan etkileri et ürünlerinin rengini ve lipid oksidasyonunu iyileştirmektedir (Lee ve ark. 2005; Mir ve Masoodi 2018). Sitratlar, et ürünlerinin görünümünü, lezzetini

ve raf ömrünü iyileştirebilen potansiyel antioksidan ve antimikrobiyal koruyuculardır (Igwegbe ve ark. 2019). Diğer bir koruyucu ajan olan sorbatlar ise hem antifungal özellikleri hem de zayıf asitlikleri (pKa = 4,76) ve ayrılmamış asit formları nedeniyle antimikrobiyal amaçla kullanılmaktadır (Stopforth ve Kudron 2020).

Ürün formülasyonuna eklenerek gıda güvenliğinin sağlanmasına yardımcı olan organik asit ve tuzlarının yanı sıra, ürünün albenisini arttırması ve raf ömrünü uzatması nedeniyle modern paketlenme teknikleri de sıklıkla tercih edilen uygulamalar olmuştur. Modifiye atmosfer paketlenme (MAP), et ürünlerinin raf ömrünü uzatmayı, mikrobiyal ve duyu kalitesini korumayı amaçlayan modern paketlenme tekniklerinin başında gelmektedir (Bingol ve Ergun 2011; Jaspal ve ark. 2021). Karbondioksit (CO₂), oksijen (O₂) ve nitrojen (N₂) MAP'de yaygın olarak kullanılan gazlardandır (Jaspal ve ark. 2021). Ayrıca, kırmızı rengi stabilize ederek, mikrobiyal gelişmeyi baskılayarak, oksidasyonu ve kemik kararmasını önleyerek, lezzet kabul edilebilirliğini arttırarak etin istenen özelliklerinin korunması için et endüstrilerinde düşük seviyelerde karbonmonoksit (CO) kullanılmasına da izin verilmektedir (Cornforth ve Hunt 2008; Djenane ve Roncalés 2018; Mortazavi ve ark. 2023).

Bu kapsamda, çalışmamızda farklı organik asit uygulaması ile kombine olarak modifiye atmosfer paketlenmenin köftelerdeki *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 gelişimi ile kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deneyisel Köfte Üretimi

Köfte örneklerinin hazırlanmasında kullanılan kıyma, galeta unu, kuru soğan ve baharatlar İstanbul'daki yerel bir marketten temin edilmiş olup, üretim sürecine kadar İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü laboratuvarlarında uygun koşullar altında muhafaza edilmiştir.

Deneyisel köfte üretimi için %10 yağ içeren dana kıyma (%84), galeta unu (%8,3), ince doğranmış soğan (%3), tuz (%2,2), kimyon (%1), karabiber (%0,3), sarımsak (%0,5) ve maydanoz (%0,7) karıştırılarak köfte hamuru elde edilmiştir. Hazırlanan köfte hamuru üç eşit parçaya ayrılarak biri kalite analizlerinde kullanılmak, diğerleri ise ilgili bakteri solüsyonları (*Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7) ile ayrı ayrı kontamine edilmek üzere ayrılmıştır.

Kontamine edilen ve edilmeyen her bir köfte hamuru biri kontrol grubu olmak üzere, beş eşit gruba ayrılmış ve Tablo 1'de belirtilen organik asit çözeltileri ile muamele edilmiştir. Bunun akabinde, organik asitlerle muamele edilen her bir gruptaki köfte hamuru farklı gaz karışımları ile paketlenme uygulamaları için üçer alt gruba ayrılarak paketlenmiştir.

Tablo 1. Deneysel köfte üretiminde kullanılan organik asit tuzları
Table 1. Organic acid salts used in experimental meatball production

Grup	Potasyum sorbat (%)	Sodyum sitrat (%)	Sodyum asetat (%)	Sodyum laktat (%)
K (Kontrol)	-	-	-	-
NaL ₁	-	-	-	1,0
NaL ₂	-	-	-	2,0
A Sol. (A Solüsyonu)	0,5	0,5	1,0	-
B Sol. (B Solüsyonu)	0,5	0,5	-	1,0

Kültürlerin Hazırlanması ve İnokülasyonu

Staphylococcus aureus (ATCC 29213) ve *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 700927) suşları Microbiologics® (Minnesota, ABD) firmasından temin edilmiştir. Suşlar Tryptone Soy Agar'a (Oxoid CM131, UK) ekilerek 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, *Staphylococcus aureus* kolonileri Brain Heart Infusion Broth'a (Oxoid CM1135, UK), *Escherichia coli* O157:H7 kolonileri ise Tryptone Soy Broth'a (Oxoid CM0129, UK) geçilerek 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Kültürler kullanılmadan önce, her bakteriye ait süspansiyonun optik yoğunluğu spektrofotometrede (Shimadzu UV-1202 UV-VIS, Japonya) 620 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Süspansiyon, McFarland Densitometre DEN-1 (Biosan) cihazı ile 1 McFarland standart değerine (3×10^8 kob/ml) ulaşınca kadar TSB içinde sulandırılmıştır.

Konsantrasyonlar daha sonra 10^6 kob/ml düzeyine ulaşınca kadar peptonlu su (Oxoid CM0733, UK) içerisinde seyreltilmiştir ve gruplara ayrılan köfte hamurları her bir bakteri için ayrı olarak hazırlanan sıvı süspansiyon ile karıştırılmıştır. Ortam sıcaklığında 10-15 dakika süreyle bekletilen köfte hamurları porsiyonlara ayrılan kadar 4°C'de bekletilmiştir.

Köfte Örneklerinin Paketlenmesi

Deneysel olarak kontamine edilen ve kontamine edilmemiş köfte hamurları, organik asit muamelelerinin ardından (Tablo 1) 3,5 cm yarıçaplı ve 25 ± 2 g'lık yuvarlak köfteler haline getirilerek, düşük O₂ geçirgenliğine (8–12 cm³/m²/24 sa) sahip polietilen kaplar içerisine (yaklaşık 300 g olarak) yerleştirilmiştir. Köfte örnekleri ortam havası ve modifiye atmosfer (MAP-O₂: 80:20/O₂:CO₂ ve MAP-CO: 0,4:30:69,60/CO:CO₂:N₂) ile vakumlu kapama makinası (VTK 40 SC, Ponapack, İstanbul, Türkiye) kullanılarak paketlenmiştir.

Paketlenen köfteler 15 gün süreyle buzdolabı sıcaklığında ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) muhafaza edilmiş ve depolamanın 1., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerinde ilgili analizlere tabi tutulmuştur. Deneysel köfte üretimi farklı tarihlerde üç kere tekrarlanmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Her bir grup için aseptik koşullar altında steril poşetlere 25 g olacak şekilde alınan köfte örnekleri

üzerine 225 ml steril peptonlu su (Oxoid, CM0061) eklenerek, stomacher cihazında (Interscience, Fransa) homojenize edilmiştir (ISO 6887-1 2017). Ana dilüsyondan sulandırıcı kullanılarak hazırlanan seri dilüsyonlar ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 sayımı gerçekleştirilmiştir.

Staphylococcus aureus sayımı

Staphylococcus aureus sayısının saptanması amacıyla Baird–Parker Agar (BPA - Oxoid CM0275) besiyerine yayma plak ekim yöntemi ile ekim yapılmış ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra üreyen bütün tipik koloniler değerlendirilmiştir. *S. aureus* şüpheli görülen koloniler ise doğrulama amacıyla DNase, koagülaz ve katalaz testlerine tabi tutulmuştur (ISO 6888-1 2021).

Escherichia coli O157:H7 sayımı

Escherichia coli O157:H7 sayısının belirlenmesi için Cefixime-Tellurite Supplement (Oxoid, SR0172) ilave edilen Sorbitol MacConkey (SMAC) Agar'a (Oxoid, CM0813) ekim yapılmıştır. 35°C'de 20-24 saatlik inkübasyondan sonra tipik koloniler O157 ve H7 antiserumları ile doğrulama işlemine tabi tutularak değerlendirilmiştir (ISO 16654 2001/Amd 2 2023).

Fiziko-kimyasal Analizler

Kontamine edilmemiş köfte örneklerinin pH değerleri, dijital bir pH metre (Hanna HI 9321) kullanılarak 10 g örneğin 100 ml saf su içerisinde homojenize edilmesini takiben saptanmıştır (AOAC 2005).

Küçük parçalar halinde kıyılan köfte örneklerinin su aktivitesi (a_w) değerleri, su aktivitesi ölçüm cihazı (Decagon AquaLab Series 4TE) kullanılarak belirlenmiştir (ISO 18787 2017).

Duyusal Analiz

Köfte örneklerinin duyu özellikleri 12 kişilik eğitimli panelist (28-47 yaşları arasında, 5 kadın ve 7 erkek) grubu tarafından değerlendirilmiştir (ISO 8586 2023). Duyusal değerlendirmeden önce panelistlere seçilen özelliklerin her biri için iki ayrı oturumda standartlaştırılmış bir prosedür (ISO 13299 2016) kullanılarak bilgi verilmiştir. Her bir numune çiğ olarak servis edilmiş ve panel soğuk depolamanın 3., 9. ve

15. günlerinde iki oturumda üç tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

Panelistler köfte örneklerini renk ve koku kriterleri yönünden vizüel olarak 9 puanlık iki yönlü-bipolar skala ile değerlendirmiş ve örneklerin puanlamaları sonrasında elde edilen sonuçların aritmetik ortalamalar alınarak hesaplamalar yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Uygulama grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırma zaman periyoduna göre SPSS programının General Linear Model (GLM) prosedürü kullanılarak hesaplanmıştır (SPSS 21.00). İnteraksiyonun önemli bulunduğu durumlarda gruplar arasındaki farkın önem kontrolü için Duncan testi uygulanmıştır.

BULGULAR

İnoküle edilmiş köfte örneklerine ait *Staphylococcus aureus* sayısındaki değişimler

DeneySEL olarak kontamine edilen köftelerin muhafaza süresi boyunca *Staphylococcus aureus* sayısındaki değişimler Tablo 2’te gösterilmiştir. Organik asitlerle muamele edilen köfte örneklerindeki *S. aureus* sayısı 15 günlük muhafaza süresince azalma gösterirken, kontrol grubu örneklerindeki bakteri

sayısında artış kaydedilmiş ve bu değişim, muhafazanın 6. gününden itibaren önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun yanı sıra, başlangıç yükü 5,462 log kob/g düzeyinde olan köfte örneklerinden MAP uygulamasına tabi tutulanların *S. aureus* sayıları muhafaza süresinin sonunda ortam havası ile paketlenenlerden 0,2-0,5 log kob/g daha düşük olarak kaydedilmiştir (Tablo 2). Ortam havasıyla paketlenmiş organik asit gruplarında muhafaza süresinin sonunda 0,3-0,9 log kob/g düzeyinde azalma gözlenirken; yüksek O₂ ile paketlenen köftelerde 0,4-1 log kob/g, CO ile paketlenen örneklerde ise 0,7-1,3 log kob/g inhibisyon belirlenmiştir (Şekil 1). Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketeleme uygulaması, muhafazanın 3. gününden itibaren gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturmuştur ($p<0,05$).

Organik asitler içerisinde %2 NaL ilavesi köftelerdeki *S. aureus* sayısı üzerinde en yüksek inhibisyonu sağlarken, bunu B solüsyonu ile muamele edilen örnekler izlemiştir. Muhafaza süresince en yüksek *S. aureus* inhibisyonu, %2 NaL ilavesiyle üretilen ve CO ile paketlenmiş köfte örneklerinde kaydedilmiştir (Şekil 1).

Tablo 2. Organik asit ve paketeleme uygulamalarının soğuk muhafaza altındaki köftelerin *Staphylococcus aureus* sayıları üzerine etkisi (Log kob/g)
Table 2. Effect of organic acid and packaging treatments on *Staphylococcus aureus* counts of meatballs under cold storage (Log cfu/g)

Özellik	Grup	Muhafaza süresi (4°C)					
		1. gün	3. gün	6. gün	9. gün	12. gün	15. gün
Uygulama	K	5,544	5,648	6,011 ^a	6,181 ^a	6,241 ^a	6,059 ^a
	NaL ₁	5,363	5,337	5,544 ^b	5,438 ^b	5,219 ^b	4,944 ^b
	NaL ₂	5,300	5,227	4,974 ^c	4,877 ^c	4,579 ^c	4,409 ^c
	A Sol.	5,412	5,498	5,710 ^{ab}	5,529 ^b	5,323 ^b	5,014 ^b
	B Sol.	5,350	5,270	5,465 ^b	5,285 ^b	4,961 ^b	4,704 ^{bc}
	SE	0,043	0,121	0,146	0,084	0,183	0,121
	P	0,675	0,111	0,000	0,000	0,000	0,000
Paketeleme	Hava	5,573	5,638 ^a	5,717 ^a	5,662 ^a	5,545 ^a	5,242 ^a
	MAP-O ₂	5,343	5,338 ^b	5,537 ^{ab}	5,472 ^{ab}	5,267 ^b	5,096 ^a
	MAP-CO	5,266	5,211 ^b	5,370 ^b	5,252 ^b	4,981 ^c	4,740 ^b
	SE	0,094	0,044	0,026	0,028	0,094	0,056
	P	0,072	0,010	0,047	0,016	0,001	0,002
Uygulama × Paketeleme		1,000	1,000	1,000	1,000	0,998	0,997

K: Kontrol, NaL₁: %1 Sodyum laktat, NaL₂: %2 Sodyum laktat,

A Sol.: %0,5 Potasyum sorbat + %0,5 Sodyum sitrat + %1,0 Sodyum asetat

B Sol.: %0,5 Potasyum sorbat + %0,5 Sodyum sitrat + %1,0 Sodyum laktat

Hava: Ortam havası ile paketeleme, MAP-O₂: 80:20/O₂:CO₂ gaz karışımları ile paketeleme, MAP-CO: 0,4:30:69,60/CO:CO₂:N₂ gaz karışımları ile paketeleme

SE: Standart hata ^{a,b,c}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan birbirinden anlamlı olarak farklıdır ($p<0,05$).

İnoküle edilmiş köfte örneklerine ait *Escherichia coli* O157:H7 sayısındaki değişimler

Deneysel olarak kontamine edilen köfte örneklerinin muhafaza süresi boyunca *Escherichia coli* O157:H7 sayısındaki değişimler Tablo 3'de gösterilmiştir. Başlangıç *E. coli* O157:H7 sayısı 5,491 log kob/g olan örneklerin bakteri sayıları bütün uygulama gruplarında zaman içerisinde artış göstermiştir. Organik asitlerle muamele edilen köfte örneklerine ait *E. coli* O157:H7 sayısında muhafaza süresi boyunca ortam havası ile paketlenenlerde 0,7-1,4 log kob/g, yüksek O₂ içerenlerde ise 0,2-1 log kob/g düzeyinde artış gösterirken; CO içeren paketlerde 0,2-0,5 log kob/g düzeyinde azalma gözlenmiştir. Organik asit uygulamalarına bağlı olarak *E. coli* O157:H7 sayısında gözlenen değişimler muhafazanın 9. gününden itibaren önemli bulunmuştur (p<0,05).

Ortam havası ile paketlenen kontrol grubu örneklerindeki *E. coli* O157:H7 sayısı muhafazanın sonunda 1,9 log kob/g düzeyinde artış gösterirken, organik asit içeren gruplarda bu değişim 1,2-1,7 log

kob/g olarak belirlenmiştir. Yüksek O₂ ile paketlenen kontrol grubu örneklerinin bakteri sayısındaki artış muhafaza süresinin sonunda 1,5 log kob/g olarak tespit edilirken, organik asit ile muamele edilen gruplarda 0,7-1 log kob/g düzeyinde artış gözlenmiştir. CO ile paketlenen kontrol grubu örneklerindeki bakteri sayısı ise 0,5 log kob/g düzeyinde artarken, organik asit gruplarında 0,04-0,4 log kob/g artış kaydedilmiştir (Şekil 1). Farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenen muhafazanın 3. gününden itibaren gruplar arasında önemli bir farklılık oluşturmuştur (p<0,05).

Organik asitler içerisinde %2 NaL ilavesi köftelerdeki *E. coli* O157:H7 sayısı üzerinde en yüksek inhibisyonu sağlarken, bunu sırasıyla B solüsyonu, A solüsyonu ve %1 NaL ilavesi izlemiştir. Muhafaza süresince en yüksek *E. coli* O157:H7 inhibisyonu %2 NaL ilavesiyle üretilen CO ile paketlenen köfte örneklerinde kaydedilmiştir (Şekil 1).

Tablo 3. Organik asit ve paketlenme uygulamalarının soğuk muhafaza altındaki köftelerin *Escherichia coli* O157:H7 sayıları üzerine etkisi (Log kob/g)

Table 3. Effect of organic acid and packaging treatments on *Escherichia coli* O157:H7 counts of meatballs under cold storage (Log cfu/g)

Özellik	Grup	Muhafaza süresi (4°C)					
		1. gün	3. gün	6. gün	9. gün	12. gün	15. gün
Uygulama	K	5,573	5,561	5,804	6,117 ^a	6,565 ^a	6,798 ^a
	NaL ₁	5,477	5,494	5,575	5,895 ^{ab}	6,230 ^{ab}	6,530 ^{ab}
	NaL ₂	5,357	5,360	5,439	5,569 ^b	5,798 ^c	6,133 ^c
	A Sol.	5,440	5,465	5,623	5,851 ^{ab}	6,103 ^{bc}	6,397 ^{bc}
	B Sol.	5,386	5,446	5,580	5,722 ^b	5,923 ^{bc}	6,249 ^{bc}
	SE	0,043	0,121	0,086	0,042	0,063	0,242
	p	0,746	0,834	0,345	0,042	0,001	0,006
Paketleme	Hava	5,553	5,702 ^a	5,986 ^a	6,359 ^a	6,694 ^a	7,019 ^a
	MAP-O ₂	5,430	5,531 ^a	5,750 ^a	5,869 ^b	6,180 ^b	6,501 ^b
	MAP-CO	5,357	5,163 ^b	5,077 ^b	5,263 ^c	5,497 ^c	5,744 ^c
	SE	0,054	0,062	0,094	0,086	0,022	0,094
	p	0,346	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
	Uygulama × Paketleme		1,000	1,000	0,964	0,984	0,991

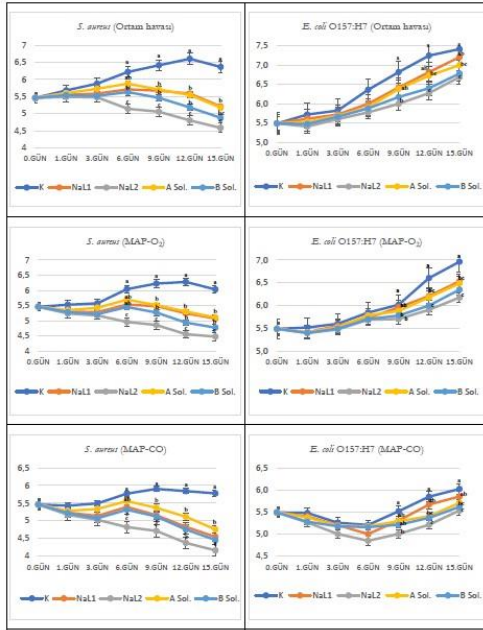
K: Kontrol, NaL₁: %1 Sodyum laktat, NaL₂: %2 Sodyum laktat,

A Sol.: %0,5 Potasyum sorbat + %0,5 Sodyum sitrat + %1,0 Sodyum asetat

B Sol.: %0,5 Potasyum sorbat + %0,5 Sodyum sitrat + %1,0 Sodyum laktat

Hava: Ortam havası ile paketlenme, MAP-O₂: 80:20/O₂:CO₂ gaz karışımları ile paketlenme, MAP-CO: 0,4:30:69,60/CO:CO₂:N₂ gaz karışımları ile paketlenme, SE: Standart hata

^{a,b,c}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan birbirinden anlamlı olarak farklıdır (p<0,05).



Şekil 1: Organik asit ilavesi ile üretilen modifiye atmosfer paketlenmiş köftelerin soğuk muhafaza süresince *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 sayılarındaki değişimler (Log kob/g)
Fig 1: Changes in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 counts during cold storage of modified atmosphere packaged meatballs produced with organic acid addition (Log cfu/g)

Bakteri inoküle edilmemiş köftelerin fiziko-kimyasal özelliklerindeki değişimler

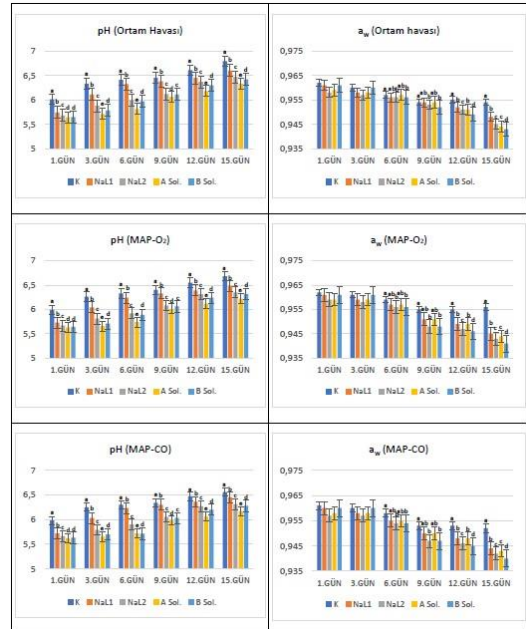
Bütün uygulama gruplarındaki köftelerin pH değerleri depolama süresi boyunca artış göstermiştir. Hem organik asit uygulanan gruplar arasındaki hem de modifiye atmosfer paketlenme uygulamalarındaki farklılıklar muhafaza süresi boyunca istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 2, $p < 0,05$).

Başlangıç pH değeri 5,77 olan köftelerin muhafaza süresi sonunda kontrol grubundaki pH değeri 6,5'i geçerken, bu gruba ait en düşük değerler CO ile paketlenmiş örneklerde gözlenmiştir. Organik asit ilave edilen köftelerin pH değerleri, bütün paketlenme gruplarında kontrol örneklerinden daha düşük seyretmiştir. Ortam havası ile paketlenmiş kontrol grubu köftelerin pH değeri muhafazanın 3. gününden itibaren 6,3'ün üzerindeyken; %1 NaL ilave edilen köfteler 6. günden, %2 NaL ve B solüsyonu ilave edilen köfteler 12. günden, A solüsyonu ilave edilen köftelerin pH değerleri ise 15. günden itibaren bu değerin üzerinde belirlenmiştir.

CO ile paketlenmiş kontrol grubu örneklerinin pH değeri muhafazanın 6. gününde 6,3'e ulaşırken; %1 NaL ilave edilen köfteler 9. günde, %2 NaL ilave edilen köfteler 15. günde bu değere ulaşmıştır. Buna karşın, A ve B solüsyonları ilave edilerek üretilen köfteler muhafazanın 15. gününde bile bu değere ulaşmamıştır. Organik asit ilavesinin yanı sıra modifiye atmosfer paketlenmede CO kullanımı, köftelerin pH değerlerindeki artışın daha düşük seviyelerde kalmasını sağlamıştır (Şekil 2, $p < 0,05$).

Köftelerin su aktivitesi değerleri ise muhafaza süresi boyunca azalma göstermiştir (Şekil 2). Farklı organik asit ilavesiyle üretilen köfte örneklerinin a_w değerleri arasındaki farklılık, muhafazanın 6. gününden itibaren istatistiksel olarak önemli bulunurken; benzer şekilde farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenmiş gruplar arasında da muhafazanın 6. gününden itibaren önemli bir farklılık belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Başlangıçta 0,965 olarak ölçülen köfte örneklerinin a_w değeri, 15 günlük muhafazanın sonunda 0,940-0,956 değerlerine düşmüştür. Kontrol grubu köftelerinin a_w değerleri, organik asit ilave edilen gruplara göre nispeten daha yüksek seyretmiştir. Organik asit ilavesine bağlı olarak a_w değerlerinde azalma tespit edilirken, muhafaza süresinin sonunda en düşük a_w değerleri B solüsyonu ve %2 NaL ilave edilen köftelerde ölçülmüştür. Ayrıca, ortam havası ile paketlenmiş köfte örneklerinin a_w değerleri, diğer paketlenme gruplarına göre nispeten daha yüksek seyredirken, en düşük a_w değerleri CO ile paketlenmiş köfte örneklerinde saptanmıştır.



Şekil 2: Organik asit ilavesi ile üretilen modifiye atmosfer paketlenmiş köftelerin soğuk muhafaza süresince pH ve a_w değerlerindeki değişimler

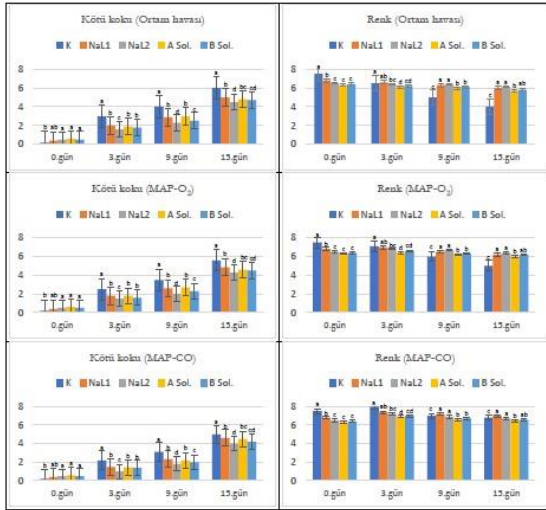
Fig 2: Changes in pH and a_w values of modified atmosphere packaged meatballs produced with organic acid addition during cold storage

Bakteri inoküle edilmemiş köftelerin duyu özelliklerindeki değişimler

Farklı organik asit ilavesi ile üretilen modifiye atmosfer paketlenmiş köftelerin muhafaza süresi boyunca koku ve renk özelliklerindeki değişimler Şekil 3'te gösterilmiştir. Farklı organik asitler ve kombinasyonları ile muamele edilen uygulama gruplarına ait koku değerleri muhafaza süresi boyunca önemli bir farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Kötü koku oluşumu 15 günlük muhafaza süresi boyunca artış gösterirken, organik asit ilave edilen gruplardaki kötü koku oluşumu kontrol gruplarına göre daha az olarak

belirlenmiştir. Depolama sürecinde paketlerde oluşan kötü koku teşekkülü en az %2 NaL ilave edilen köftelerde tespit edilirken, bunu sırasıyla B ve A solüsyonları ilave edilen örnekler takip etmiştir. Modifiye atmosfer paketleme uygulamaları arasındaki farklılık muhafazanın 3. gününden itibaren istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Paketleme grupları içerisinde en fazla kötü koku oluşumu ortam havası ile paketlenen örneklerde gözlenirken, CO ile paketlenen köftelerde kötü koku oluşumu en az olarak belirlenmiştir.

Organik asit uygulanan gruplara ait renk değerleri muhafaza süresi boyunca azalırken, bu değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Muhafaza periyodunun başlangıcında organik asit ilave edilen gruplardaki köftelere ait kırmızı renk kontrol grubu köftelerine göre daha az olarak belirlenirken, bu durum muhafazanın 3. gününden sonra değişiklik göstermiş ve muhafazanın 9. gününde yapılan değerlendirmede kontrol grubu köftelerindeki kırmızı rengin (CO ile paketlenen örnekler hariç) organik asit ilave edilen örneklerden daha az olduğu belirlenmiştir. Kırmızı renk stabilitesi en yüksek NaL ilave edilen köftelerde tespit edilirken, en düşük olarak A solüsyonu eklenen köftelerde saptanmıştır. Modifiye atmosfer paketleme uygulamaları arasındaki farklılık muhafazanın 3. gününden itibaren istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); en yüksek kırmızı renk değeri CO ile paketlenen köfte örneklerinde belirgin olarak gözlenmiştir.



Şekil 3: Organik asit ilavesi ile üretilen modifiye atmosfer paketli köftelerin soğuk muhafaza süresince duyu değerlerindeki (koku ve renk) değişimler

Fig 3: Changes in sensory values (odour and colour) of modified atmosphere packaged meatballs produced with organic acid addition during cold storage

TARTIŞMA

Köfte gibi et ürünleri mikrobiyal bozulmaya ve lipid oksidasyona eğilimli, kolay bozulabilir gıda ürünleri olmaları sebebiyle raf ömürlerini arttırmak için farklı muhafaza yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple son yıllarda, doğal koruyucular ile paketleme

koşullarının birlikte uygulandığı muhafaza tekniklerinin kullanımı önem kazanmıştır. Organik asitler ve tuzları ile kombine uygulanan kimyasal, fiziksel veya biyolojik kaynaklı kontrol önlemlerinin temel amacı; antimikrobiyal etkinin artırılması, duyu kalitenin iyileştirilmesi ve raf ömrünün uzatılması ile et endüstrisinde ekonomik kazanç sağlamaktır. Bu yönde yapılan çalışmalarda organik asitler ve paketleme yöntemlerinin sinerjik etkilerinin ürünlerde oluşturduğu olumlu değişimler vurgulanmıştır (Jaspal ve ark. 2021; Meng ve ark. 2022).

Farklı organik asit ilavesi ile kombine olarak uygulanan modifiye atmosfer paketleme uygulamalarının köftelerdeki *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7 gelişimi ile kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bu çalışmada, hem ilgili mikroorganizmalarda istatistiksel olarak önemli bir inhibisyon sağlandığı hem de ürünlerin raf ömrünün uzatıldığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, soğuk zincir altında depolama süresince köfte örneklerinin duyu özelliklerinde de olumlu etkiler olduğu kaydedilmiştir.

Farklı gıda matrislerinde uygulanan organik asit ilavesi ve/veya paketleme tekniklerinin ürünlerdeki antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda, Lim ve Mustapha (2004) potasyum sorbatın tek başına veya diğer asitlerle kombinasyon şeklinde kullanılmasının sığır etlerindeki patojen bakterilerin, özellikle de *S. aureus*'un inhibisyonunda etkin bir rol oynayabilmesi için $>0,1$ konsantrasyonlarda ürüne ilave edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Abu-Ghazaleh (2013), $0,05$ 'lik potasyum sorbat ve $0,03$ 'lük sitrik asit bileşiminin farklı ortamlara inoküle edilen *S. aureus* sayısında büyük oranda azalmaya neden olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca, $0,09$ 'luk potasyum sorbatın 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda mevcut *E. coli* sayısında 18 oranında inhibisyon sağladığı bildirilirken, kekik ekstraktı ($0,3$) ile $0,05$ 'lik potasyum sorbat kombinasyonunun *S. aureus* düzeyini belirgin bir şekilde düşürdüğü gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Aynı konsantrasyondaki potasyum sorbatın sitrik asitle ($0,03$) birlikte kullanımı ise mevcut bakteri yükünde total inhibisyona neden olmuştur.

Organik asitlerin (Monolaurin, sorbik asit ve potasyum sorbat) *S. aureus*'un ve *E. coli* O157:H7'nin gelişimi üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin incelendiği bir diğer çalışmada, uygulanan asitlerin maksimum konsantrasyonlarda dahi *E. coli* O157:H7 üzerinde inhibitör etki göstermediği, sadece potasyum sorbatın

S. aureus'u 2500 MIC seviyelerinde tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir (Amin Zare ve ark., 2014).

Hwang ve Juneja (2011), kıyma örneklerine katmış oldukları laktat içeren tuz kombinasyonunun *E. coli* O157:H7'nin gelişimini geciktirebildiğini hatta baskılayabildiğini ifade etmiştir. Araştırmacılar laktatın bu inhibitör mekanizmasını, bakteri hücrelerinin sitoplazmasını asitleştirmesine ve dissosiyeye olmayan halinin hücre metabolik faaliyetleri üzerindeki etkisine

bağlamıştır. Ponrajan ve ark. (2011), sığır etlerinde sodyum sitrat ve sodyum diasetat ilavesinin vakum paketlenme ile kombine olarak uygulandığı çalışmalarında, *E. coli* O157:H7 seviyesini örneklerde 6 log kob/cm² olacak şekilde inoküle etmişler ve bir kısmı çiğ olarak diğer yarısı ise iç sıcaklık 60°C'ye ulaşınca kadar pişirildikten sonra 4°C'de 10 gün boyunca depolanmışlardır. Bu süre sonunda çiğ numunelerde *E. coli* O157:H7 sayısında 0,6 kob/g'a kadar önemli bir azalma gözlenirken, pişirilen numunelerin hiçbirinde *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir.

S. aureus'un üreme potansiyeli üzerinde farklı paketlenme metodlarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, yüksek sıcaklıkların üremeyi arttırmaya yönelik etkisi ve düşük sıcaklıkların mevcut mikroorganizma sayısındaki inhibisyon etkisi dikkat çekici bulunmuştur (Yu ve ark. 2020). Buna ek olarak, Farber (1991) et örneklerinde uyguladığı modifiye atmosfer paketlenme tekniğinin *S. aureus* gelişimini engellemede oldukça başarılı olduğunu, bunun paketlenme bileşimindeki yüksek CO₂ konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleştiğini ifade etmiştir.

Uyttendaele ve ark. (2001), deneysel olarak *E. coli* O157:H7 inoküle ettikleri sığır eti örneklerine uyguladıkları modifiye atmosfer paketlenme (%40 CO₂/%60 N₂) işleminin ilgili mikroorganizma sayısını önemli ölçüde etkilemediğini bildirmiştir (p>0,05). Ayrıca, sığır eti kompozisyonuna yakın içerikteki bir besiyerine yapılan ekimde modifiye atmosfer paketlenme uygulanan örneklerdeki mikroorganizma sayısında 1,6 log düzeyinde azalma saptandığı görülmüş olup, bu durumun et suyunun olduğu ortamda rekabetçi floranın bulunmamasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Benzer olarak, Beterams ve ark. (2023) paketlenme uyguladıkları gıda örneklerindeki *E. coli* sayılarının muhafaza süresi boyunca anlamlı bir değişime uğramadığını, mevcut mikroorganizma sayısının inokülasyon seviyesinde kaldığını bildirmişlerdir.

Gıda maddelerinin muhafazası sırasında pH değerlerinde değişimler meydana gelmektedir. Et ve et ürünleri hafif asidik yapıya sahip olup, ürün çeşidine göre değişiklik göstermekle birlikte bu değer ortalama 5,3-6,5 arasındadır. Ürünün tazeliğiyle ve hijyenik kalitesi ile alakalı olan bu parametre, patojen mikroorganizmaların gıdalarda üremesiyle açığa çıkan alkali maddelerden dolayı artış gösterebilmektedir. Çalışmamızda da köfte örneklerinin pH değerlerinde muhafaza süresince anlamlı artışlar kaydedilmiştir (Şekil 2; p<0,05). Suman ve ark. (2010), laktat ile muamele edilmiş köfte örneklerinin pH değerini 5,79 olarak tespit ederken, muamele edilmemiş kontrol grubu örneklerinin pH değerini 5,69 olarak belirlemişlerdir. Tenderis ve ark. (2020) pişmiş sığır kıymasının pH değerlerinin 4°C ve 10°C'de depolanmanın başlangıcında sırasıyla 5,49-6,09 ve 5,52-6,27 arasında değiştiğini ve depolama sırasında sodyum laktat ilavesinin pH üzerinde önemli bir etkisi

olmadığını bildirmişlerdir. Djordjević ve ark. (2018) modifiye atmosfer paketlenme uygulanan kıyma örneklerinin pH değerinin depolama süresi boyunca artış gösterdiğini ifade etmişlerdir. Başlangıç pH değeri ortalama 5,85 olan örnekler 15. günün sonunda 6,43-6,49 aralığına ulaşmış olup, bu durum istatistiksel olarak önemli (p<0,05) bulunmuştur. Bunun yanı sıra, Byrne ve ark. (2002) sodyum laktatın sığır burgerlerinde pH değerini düşürdüğünü belirtmişlerdir. Sallam ve Samejima (2004) da kıymaya sodyum laktat ilavesinin pH değişimlerini sabit seviyede tuttuğunu vurgulamıştır. Amin Zare ve ark. (2014) ise organik asitlerin pH seviyesi ile ters orantılı olarak aktivite gösterdiklerini belirtmiştir (p<0,05).

Gıda maddelerinde mikrobiyal üreme ile doğru orantılı olan su aktivitesi değeri, taze etlerde 0,98-1,00 arasındadır. Nem içeriği yüksek gıda maddelerinden olan köfte örneklerine ait a_w değerleri muhafaza süresince düzenli bir azalma eğilimi göstermiştir. Buna uygun olarak, Tenderis ve ark. (2020) pişmiş kıymada a_w değerlerinin 4°C ve 10°C'de depolanmanın ilk gününde sırasıyla 0,92-0,96 arasında değiştiğini vurgulamıştır. Aynı şekilde María ve ark. (2015) sodyum laktatın ürünlerin su aktivitesi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu fikrini desteklemiştir.

Et ürünlerinin duyu özellikleri tüketiciler tarafından kabul edilmesinde ve seçilmesinde önemli parametrelerin başında gelmektedir. Yapılan pek çok çalışmada duyu özelliklerin kalite üzerine olan etkisi gösterilmiştir. Bu bağlamda, Mir ve Masoodi (2018) depolama süresi boyunca sodyum asetat ilavesiyle köfte kalitesinin belirli bir ölçüde iyileştirilebileceğini belirtmiştir. İşlem görmüş örneklerin lezzet, sululuk ve genel kabul edilebilirlik puanları, depolama boyunca işlem görmemiş köftelerden daha yüksek olduğu vurgulanmıştır. Buna uygun olarak, Hoffman ve ark. (2008) ürünlerin duyu özelliklerini arttırmak için fosfat ve laktatların sığır eti kaslarına enjeksiyon karışımları olarak uygulanmasının kabul edilebilir olduğunu belirtmiştir. Quilo ve ark. (2009), %3 potasyum laktat ile muamele edilen kıyma örneklerinin genel renk özellikleri için 1-3. günlerde muamele edilmeyenlere göre daha yüksek puanlar aldığını ve antimikrobiyal ajanlar kullanıldığında daha düşük renk değişikliği gözlemlendiğini bildirmiştir. Antimikrobiyal maddelerin eklenmesinden sonra kıymanın duyu özelliklerinde teşhirin ilk gününde tespit edilebilir bir farklılık olmamasına rağmen, depolanmanın sonunda işlem görmemiş örneklere kıyasla daha düşük renk değişikliği görüldüğü bildirilmiştir (Quilo ve ark. 2010). Öte yandan, Suman ve ark. (2010) laktatın kıymanın yüzey renk değişikliği üzerindeki etkisinin paketlenme sistemlerinden etkilendiğini belirtmiştir. PVC ve vakum ambalajlardaki laktat eklenmiş köfteler, işlem görmemiş kıymaya kıyasla daha düşük renk değişikliği gösterirken, CO ve yüksek O₂ ile paketlenen örneklerde laktat işlemleri için herhangi bir fark bulunmamıştır.

SONUÇ

Laktat, asetat ve sitrat gibi organik asitlerin ve tuzlarının farklı kombinasyonlar şeklinde ilavesinin köftelerin raf ömrünü önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir. Konsantrasyona bağlı olarak organik asitlerin hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilerin gelişimini inhibe ettiği, ürünün duyuşal özelliklerinde istenmeyen bir değışikliğe neden olmadığı ve hatta taze ürüne özgü rengin korunarak köftenin kalite özelliklerinin iyileştirildiğı tespit edilmiştir.

Farklı gaz oranları kullanılarak uygulanan modifiye atmosfer paketlemenin köftelerin raf ömrünü önemli ölçüde etkilediğı; düşük oranda CO içeren modifiye atmosfer paketleme ile bakteriler üzerinde daha fazla inhibisyon sağlarken, köftelerin kırmızı renginin korunduğı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, sodyum sitrat, potasyum sorbat ve sodyum laktat solüsyonu ile tek başına sodyum laktatın %2'lik konsantrasyonda köftelere ilavesi, %0,4 CO paketleme ile kombine olarak uygulandığında soğuk muhafaza altında depolanan köftelerin duyuşal özelliklerinin 12 güne kadar korunmasında etkili olduğı saptanmıştır.

Çıkar çatışması: Yazarların bildirecekleri çıkar çatışması yoktur.

Yazarların Katkıları: EBB, projenin fikrine, tasarımına ve çalışmanın yürütülmesine katkıda bulunmuştur. FYE ve EA, verilerin elde edilmesine katkıda bulunmuştur. FYE, EBB ve EA, verileri analiz etmiştir. FYE ve EA, taslağı hazırlamış ve yazmıştır. FYE, EA ve EBB, taslağı eleştirel bir şekilde incelemiştir. Tüm yazarlar, son halini almış taslağı okumuş ve onaylamıştır.

Etik onay: Bu çalışma, "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" 8 (k) uyarınca HADYEK iznine tabi değildir. Bu makalede sunulan veriler, bilgiler ve belgeler, akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edilmiştir.

Teşekkür: Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne "Türk köftelerinde farklı organik asit tuz uygulamalarının *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* varlığına etkileri" başlıklı 15423 numaralı projeye katkılarından dolayı teşekkür etmek isterim.

KAYNAKLAR

- Abu-Ghazaleh, B. M. (2013). Effects of ascorbic acid, citric acid, lactic acid, NaCl, potassium sorbate and Thymus vulgaris extract on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 7-12. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.042>
- Amin Zare, M., Razavi Rohani, S. M., Raesi, M., Javadi Hosseini, S. H., & Hashemi, M. (2014). Antibacterial

effects of monolaurin, sorbic acid and potassium sorbate on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 1, 52-55.

- AOAC (2005). Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists (18th Ed.) (Washington). Determination of pH. Method 940.23.
- Beterams, A., Tolksdorf, T., Martin, A., Stingl, K., Bandick, N., & Reich, F. (2023). Change of *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* counts in packaged broiler breast meat stored under modified atmosphere and vacuum conditions at 4 and 10°C based on cultural and molecular biological quantification. *Food Control*, 145, 109337. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109337>
- Bingol, E. B., Colak, H., Cetin, O., & Hampikyan, H. (2014). Effects of sodium lactate on the shelf life and sensory characteristics of cig köfte - A Turkish traditional raw meatball. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1024-1036. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12059>
- Bingol, E. B., Colak, H., Cetin, O., Kahraman, T., Hampikyan, H. & Ergun, O. (2012). Effects of high-Oxygen modified atmosphere packaging on the microbiological quality and shelf-life of Tekirdag köfte: A Turkish type meatball. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11, 3148-3155. <https://doi.org/10.3923/javaa.2012.3148.3155>
- Bingol, E. B., & Ergun, O. (2011). Effects of modified atmosphere packaging (MAP) on the microbiological quality and shelf life of ostrich meat. *Meat Science*, 88, 774-785. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.013>
- Byrne, C. M., Bolton, D. J., Sheridan, J. J., Blair, I. S., & McDowell, D. A. (2002). Determination of the effect of sodium lactate on the survival and heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in two commercial beef patty formulations. *Food Microbiology*, 19, 211-219. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0462>
- Coban, H. B. (2020). Organic acids as antimicrobial food agents: Applications and microbial productions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43, 569-591. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02256-w>
- Cornforth, D., & Hunt, M. (2008). The American Meat Science Association. Low-oxygen packaging of fresh meat with carbon monoxide. Meat quality, microbiology and safety. White Paper Ser.2.
- Djenane, D., Beltrán, J. A., Camo, J. & Roncalés, P. (2016). Influence of vacuum at different ageing times and subsequent retail display on shelf life of beef cuts packaged with active film under high O₂. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 4244-4257. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2419-1>
- Djenane, D., & Roncalés, P. (2018). Carbon Monoxide in Meat and Fish Packaging: Advantages and Limits. *Foods*, 7, 12. <https://doi.org/10.3390/foods7020012>
- Djordjević, J., Bošković, M., Starčević, M., Ivanović, J., Karabasil, N., Dimitrijević, M., Lazić, I. B., & Baltić, M. Ž. (2018). Survival of *Salmonella* spp. in minced meat packaged under vacuum and modified atmosphere. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 607-613. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.09.009>

- Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology-a review. *Journal of Food Protection*, 54, 58-70. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.1.58>
- Hoffman, L. C., Muller, M., & Vermaak, A. (2008). Sensory and preference testing of selected beef muscles infused with a phosphate and lactate blend. *Meat Science*, 80, 1055-1060. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.04.025>
- Hwang, C. A., & Juneja, V. (2011). Effects of salt, sodium pyrophosphate, and sodium lactate on the probability of growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Journal of Food Protection*, 74, 622-626. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-325>
- Igwegbe, A. O., Idakwo, P. Y., Yusuf, H. L., Agbara, G. I., Maijalo, A. I. & Abubakar, F. (2019). Effects of sodium citrate and garlic on organoleptic properties, proximate composition, free fatty acid and thiobarbituric acid levels of treated smoke-dried meat stored at ambient temperatures. *CPQ Medicine*, 5, 1-14.
- ISO 13299 (2016). Sensory Analysis - Methodology, General Guidance for Establishing a Sensory Profile.
- ISO 16654 (2001). Microbiology of the food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157.
- ISO 18787 (2017). Foodstuffs - Determination of water activity.
- ISO 6887-1 (2017). Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination-Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
- ISO 6888-1 (2021). Microbiology of the food chain. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1: Method using Baird-Parker agar medium.
- ISO 8586 (2023). Sensory analysis. General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors.
- Jaspal, M. H., Ijaz, M., Anwaar ul Haq, A., Yar, M. K., Asghar, B., Manzoor, A., Badar, I. H., Ullah, S., Islam, Md. S. & Hussain, J. (2021). Effect of oregano essential oil or lactic acid treatments combined with air and modified atmosphere packaging on the quality and storage properties of chicken breast meat. *LWT-Food Science and Technology*, 146, 111459. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.11145>
- Kim, Y. H., Hunt, M. C., Mancini, R. A., Seyfert, M., Loughin, T. M., Kropf, D. H. & Smith, J. S. (2006). Mechanism for lactate-color stabilization in injection-enhanced beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7856-7862. <https://doi.org/10.1021/jf061225h>
- Lee, S., Decker, E. A. & Faustman, C. (2005). The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science*, 70, 683-689. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.017>
- Lim, K., & Mustapha, A. (2004). Effects of cetylpyridinium chloride, acidified sodium chlorite, and potassium sorbate on populations of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* on fresh beef. *Journal of Food Protection*, 67, 310-315. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.2.310>
- Mancini, R. A., Suman, S. P., Konda, M. K., & Ramanathan, R. (2009). Effect of carbon monoxide packaging and lactate enhancement on the color stability of beef steaks stored at 1°C for 9 days. *Meat Science*, 81, 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.021>
- Mancini, R. A., Ramanathan, R., Suman, S. P., Konda, M. K., Joseph, P., Dady, G. A., Naveena, B. M., & López-López, I. (2010). Effects of lactate and modified atmospheric packaging on premature browning in cooked ground beef patties. *Meat Science*, 85, 339-346. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.001>
- María, C., Adriana, L. B., Guadalupe, M., & Luis, R. P. J. (2015). Thermal diffusivities and influence of cooking temperature combined with sodium lactate addition on microbiological characteristics of rabbit ham. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 7, 242-249. <http://dx.doi.org/10.19026/ajfst.7.1302>
- Meng, X., Wu, D., Zhang, Z., Wang, H., Wu, P., Xu, Z., Gao, Z., Mintah, B. K., & Dabbour, M. (2022). An overview of factors affecting the quality of beef meatballs: Processing and preservation. *Food Science & Nutrition*, 10, 1961-1974. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2812>
- Mir, S. A., Masoodi, F. A. (2018). Use of organic acids for preservation and safety of traditional meat products. *Journal of Food Safety*, 38, 12514.
- Mortazavi, S.M.H., Kaur, M., Farahnaky, A., Torley, P.J., Osborn, A.M. (2023). The pathogenic and spoilage bacteria associated with red meat and application of different approaches of high CO₂ packaging to extend product shelf-life. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(12), 1733-1754. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1968336>.
- Ozturk, H. M., Ozturk, H. K., & Koçar, G. (2017). Microbial analysis of meatballs cooled with vacuum and conventional cooling. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2825-2832. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2720-7>
- Pegg, R. B., & Shahidi, F. (2000). Nitrite curing of meat. The N-Nitrosamine Problem and Nitrite Alternatives. Food and Nutrition Press, UK.
- Ponrajan, A., Harrison, M. A., Segers, J. R., Lowe, B. K., McKeith, R. O., Pringle, T. D., Martino, K. G., Mulligan, J. H., & Stelzleni, A. M. (2011). Effects of sodium citrate plus sodium diacetate and buffered vinegar on *Escherichia coli* O157:H7 and psychrotrophic bacteria in brine-injected beef. *Journal of Food Protection*, 74, 359-364. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-294>
- Quilo, S. A., Pohlman, F. W., Dias-Morse, P. N., Brown, A. H., Crandall, P. G., Baublits, R. T. & Aparicio, J. L. (2009). The impact of single antimicrobial intervention treatment with potassium lactate, sodium metasilicate,

peroxyacetic acid, and acidified sodium chlorite on non-inoculated ground beef lipid, instrumental color, and sensory characteristics. *Meat Science*, 83, 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.05.015>

Quilo, S. A., Pohlman, F. W., Dias-Morse, P. N., Brown, A. H., Crandall, P. G., & Story, R. P. (2010). Microbial, instrumental color and sensory characteristics of inoculated ground beef produced using potassium lactate, sodium metasilicate or peroxyacetic acid as multiple antimicrobial interventions. *Meat Science*, 84, 470-476. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.09.018>

Sallam, K. I., & Samejima, K. (2004). Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 37, 865-871. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.003>

SPSS 21.00. Statistical Package for the Social Sciences. SPSS Inc., Chicago, IL, USA.

Stopforth, J., & Kudron, T. (2020). Sorbic Acid and Sorbates. In: *Antimicrobials in Food* (4th Ed), CRC Press.

Suman, S. P., Mancini, R. A., Joseph, P., Ramanathan, R., Konda, M. K. R., Dady, G., Naveena, B. M., & López-López, I. (2010). Color-stabilizing effect of lactate on ground beef is packaging-dependent. *Meat Science*, 84, 329-333. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.051>

Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2020). Impact of sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates T and their combinations on *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* growth in cooked ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108560. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108560>

Theron, M. M., & Lues, J. F. (2007). Organic acids and meat preservation: A review. *Food Reviews International*, 23, 141-158. <https://doi.org/10.1080/87559120701224964>

Uyttendaele, M., Jozwik, E., Tutenel, A., De Zutter, L., Uradzinski, J., Pierard, D., & Debevere, J. (2001). Effect of acid resistance of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of buffered lactic acid to decontaminate chilled beef tissue and effect of modified atmosphere packaging on survival of *Escherichia coli* O157:H7 on red meat. *Journal of Food Protection*, 64, 1661-1666. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-64.11.1661>

Yu, H. H., Song, Y. J., Kim, Y. J., Lee, H. Y., Choi, Y.-S., Lee, N.-K., & Paik, H.-D. (2020). Predictive model of growth kinetics for *Staphylococcus aureus* in raw beef under various packaging systems. *Meat Science*, 165, 108108. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108108>