

Staphylococcus aureus ile kontamine edilmiş sığır kıymaları üzerine kamkat kabuğu tozu ve kamkat suyunun antimikrobiyal etkisinin araştırılması

Investigation of antibacterial effect of kumquat bark powder and kumquat juice on Staphylococcus aureus inoculated into beef

Zübeyde POLAT^{1*}, Halil YALÇIN², Ali SOYUÇOK³, Rüveyda ÇOBAN⁴

¹⁻²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

³Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Burdur, Türkiye

⁴Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Burdur, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-6662-1721>; ²<https://orcid.org/0000-0003-2162-2418>; ³<https://orcid.org/0000-0003-2626-5827>; ⁴<https://orcid.org/0009-0006-2459-7894>

To cite this article:

Polat Z., Yalçın H., Soyuçok A. & Çoban R. (2024). *Staphylococcus aureus* ile kontamine edilmiş sığır kıymaları üzerine kamkat kabuğu tozu ve kamkat suyunun antimikrobiyal etkisinin araştırılması. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):690-699

DOI: 10.29050/harranziraat. 1491438

*Address for Correspondence:

Zübeyde POLAT

e-mail:

drcnzbyd@gmail.com

Received Date:

28.05.2024

Accepted Date:

10.09.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ÖZ

Et, protein ve yağ içeriği bakımından insan diyetinin en önemli gıdalarındandır. Et, temel besin öğeleri bakımından zengin olması nedeniyle mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam sağlamakta ve uygun olmayan şartlarda mikrobiyel bozulma hızlı şekillenebilmektedir. Et ürünlerinde raf ömrünü etkileyen en önemli parametre ise mikrobiyal gelişimdir. Bu çalışma kamkat (*Fortunella margarita Swing*) meyvesinden elde edilen toz ve suyun *S. aureus* üzerinde etkisi araştırılmıştır. Kamkat tozu (KT) ve kamkat suyunun (KS) farklı dozları (%0.1 (w/w), %1 (w/w), %2 (w/w)) sığır kıymalarına eklendikten sonra örnekler pişirilip soğutulmuş ve sonra *S. aureus* ile kontamine edilerek +10 °C'de 21 gün boyunca depolanmıştır. Depolanmanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde pH, su aktivitesi (aw), oksidasyon redüksiyon potansiyeli (ORP) analizleri ve *S. aureus* sayımı yapılmıştır. Yapılanlar analizler sonucunda tüm depolama günlerinde gruplar arası en düşük pH değeri KS20 (kamkat suyu %2 (w/w)) grubunda olmuştur (p<0.05). KS01 (kamkat suyu %0.01 (w/w)) hariç tüm gruplarda ilk ve son depolama günlerine göre aw değeri düşmüştür. Son depolama gününde en düşük ORP değeri K grubunda bulunmuştur (p<0.05). KS20 (kamkat suyu %2 (w/w)) grubu 2.23 log kob/g düşüş ile en yüksek inhibisyon derecesine sahip olmuştur (p<0.05). Kamkattan elde edilen toz/suyunun %2 (w/w) konsantrasyonunda et ürünlerine ilavesinin mikrobiyal gelişimin baskılanmasında önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dekontaminasyon, et ürünleri, *Fortunella margarita Swing*, halk sağlığı

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the antibacterial effects of different doses of kumquat powder (KT) and kumquat juice (KS) in ground beef contaminated with *S. aureus* (ATCC 25923). After adding 10% (w/w) water and 2% (w/w) NaCl to the minced meat, different amounts of KS and KT (0.01% (w/w), 1% (w/w), 2% (w/w)) were added to form the experimental groups and the minced meat was cooked. Chilled ground meat was contaminated with *S. aureus*. pH, water activity (aw), oxidation reduction potential (ORP) analyzes and *S. aureus* counts were made on the 0, 7, 14 and 21 days of minced meat stored in a cold environment (+10 °C) for 21 days. According to the findings, the lowest pH value between the groups on all storage days was in the KS20 (kamkat water 2% (w/w)) group. Except for KS01 (kumkat water 0.01% (w/w)), aw value decreased according to the first and last storage days in all groups. The lowest ORP value was found in the K group on the last storage day. The KS20 (kumquat water 2% (w/w)) group had the highest degree of inhibition with a decrease of 2.23 log cfu/g. According to the findings obtained from this study, a practical and healthy method can be created by

adding kumquat powder/juice to prevent possible contamination risks in minced meat and to be used as a natural preservative. It has been demonstrated that *S. aureus* inhibition will be achieved, especially with the addition of 2% (w/w) kumquat juice.

Key Words: Decontamination, meat products, *Fortunella margarita* Swing, public health

Giriş

Kırmızı et, yüksek kaliteli protein kaynağı olmasının yanı sıra sağlık için gerekli mikrobeyinler ve yararlı yağ asitleri ile insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda kırmızı et, yetişkin ve çocuklar için elzem olan amino asitleri içeren yüksek biyolojik değere sahip bir protein kaynağıdır (Wyness, 2016). Beslenme için oldukça değerli olan kırmızı et, yüksek miktarda lipit içermeleri nedeniyle ve oksidasyona karşı duyarlı olduğu için kolay bozulabilmektedir. Üretim, işleme, dağıtım ve depolama aşamalarında biyokimyasal ve enzimatik değişikliklerle birlikte mikrobiyal aktivite, et ve et ürünlerinde bozulmalara neden olmaktadır (Lambert ve ark., 2001). Gıda kaynaklı patojenlerin insanlara bulaşmasında kırmızı et önemli bir risk faktördür. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi'nin 2015 yılı gıda kaynaklı hastalık salgınlarının değerlendirmesine ilişkin yayınladığı rapora göre, hastanede yatarak tedavi olan hastaların %3'ünün Stafilokokal enterotoksin kaynaklı olduğu belirtilmektedir (Lee, 2017).

Stafilokoklar insanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara ve intoksikasyonlara neden olan bakteri grubunu oluşturmaktadır. *S. aureus* insanların derilerinde ve üst solunum yollarında doğal olarak bulunmaktadır. Sağlıklı bir insanın burun mukozası florasında bulunan bakterilerin yaklaşık %30-40'ını *S. aureus* oluşturmaktadır. Bu nedenle *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasında ve gıda zehirlenmelerine sebep olmasındaki en önemli kaynağı insanlar oluşturmaktadır (Akçelik ve ark., 2000; Küplülü, 2002). *S. aureus* toksin üreten ve antibiyotiklere dirençli türleri ile dünyada ciddi sorun oluşturmaktadır (Abdalrahman ve ark., 2015). *S. aureus* geniş pH ve sıcaklık aralığında gelişme gösterebilmekte ve birçok gıda maddesinde canlılığını koruyabilmektedir (Bouchard ve ark., 2013). *S. aureus* insan ve hayvanlardan sıklıkla izole edilmesinin yanında özellikle hayvan orjinli birçok gıdada yaygın

şekilde bulunabilmektedir. *S. aureus* ile gıda ürünlerinin kontaminasyonu, etlerden direkt veya gıda işleme süresince yetersiz hijyen sonucu indirekt olarak meydana gelmektedir (Mørk ve ark., 2012).

Et ve et ürünlerinin üretiminde, olgunlaşmasında, raf ömrünün uzatılmasında birçok sentetik ve doğal antioksidan ve antimikrobiyal madde kullanılmaktadır. Ancak sentetik koruyucuların özellikle nitrit ve nitratların insan sağlığı üzerindeki zararları birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Ağaoğlu ve ark., 2007). Sentetik antioksidanların toksikolojik güvenirliliğiyle ilgili endişeler nedeniyle, bitki kaynaklı ekstraktlar tüketiciler tarafından daha sağlıklı ve güvenilir olmaları sebebiyle tercih edilmektedir (Banerjee ve ark., 2012).

Fortunella cinsine ait olan kamkat Rutaceae familyasının bir üyesidir. Aynı zamanda Rutaceae familyasının diğer üyesi Citrus cinsi ile akrabadır (Sadek ve ark., 2009). Rengi turuncu sarı olan kabuk, içerdiği flavonoid ve terpenoidler nedeniyle tipik bir aromaya sahip, tatlı ve yenilebilirdir. Turunçgil meyveleri, birbirlerinden önemli düzeyde farklı kimyasal profil sergilemektedir (Kim ve ark., 2021). Bunlar arasında kamkat, gerek besin öğeleri gerekse fitokimyasallar açısından mükemmel bir kaynak olması ile ön plana çıkmaktadır. Kamkatın uçucu yağları turunçgillerde olduğu gibi kabukta yoğunlaşmıştır. Bu uçucu yağ kompozisyonunu 90'dan fazla bileşiğin oluşturduğu bildirilmektedir. Bunların arasında terpenler en tipik bileşik olup limonen en fazla bulunan terpendir ve tüm yağın %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. Gıda endüstrisinde kamkat esansiyel yağları; aroma vermek, antioksidan ve antimikrobiyal etkisinden yararlanılmak amacıyla kullanılmaktadır (Nuray ve Badayman, 2022).

Bu çalışmada, güçlü bir antimikrobiyal ve antioksidan olan kamkat meyvesinin suyunun (KS) ve tozunun (KT), sığır kıymalarına >5 log kob/gr düzeyinde inoküle edilen *S. aureus*'a karşı

etkinliğinin 10°C'de 21 günlük depolama süresince etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışma kapsamında, Burdur'daki lokal bir marketten temin edilen yağ ve bağ dokuları uzaklaştırılmış 24 saat post mortem sığır eti (musculus semitendinosus) kullanılmıştır. Etler 2 mm'lik aynadan geçirildikten sonra soğuk zincir altında ve aseptik koşullarda laboratuvara getirilerek analiz günlerindeki iş paketlerinde kullanılacak miktarlarına göre porsiyonlanarak çalışılmıştır. Sığır etinden kaynaklanabilecek farklılıkları önlemek için çalışmada kullanılan etler aynı partiden alınmıştır. Çalışmada kullanılan *S. aureus* ATCC 25923 suşu Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalından temin edilmiştir. Çalışmada materyal olarak "Nagami" kamkat (Fortunalla margarita Swing) çeşidi kullanılmıştır. Kamkat 2023 yılı şubat ayında Burdur'daki yerel bir satıcıdan temin edilmiştir.

Kamkat tozu eldesi

Temin edilen kamkat meyveleri öncelikle saf su ile yıkanmış, bıçakla soyularak elde edilen kabuklar 45°C'de 2 gün boyunca etüvde kurutulmuştur. Kabuklar kurutulduktan sonra toz haline getirmek için ev tipi kahve öğütücüsünden (Sinbo SCM-2934) geçirilmiştir. Öğütülen kabuklar çalışma gününe kadar - 20°C'de muhafaza edilmiştir.

Kamkat suyu eldesi

Kamkatlar deneyin yapılacağı gün taze bir şekilde temin edilmiş ve aseptik şartlarda elde sıkım yöntemiyle, oda sıcaklığında kamkat suyu elde edilmiştir. Kamkat suyu steril ortamda bir süzgeç kullanılarak posasından ayrılmıştır.

pH analizi

Kamkat suyu ve kamkat tozu için ayrı pH ölçümü yapılmıştır. Analiz için kamkat tozundan 5 g tartılıp üzerine 95 ml saf eklenerek 100 g'a tamamlandıktan sonra pH metre (WTW 3310, Almanya) kullanılarak ölçüm yapılmıştır (Gül ve ark., 2021).

Et model sisteminin hazırlanması

Kıymalara et ağırlığı üzerinden %10 su (w/w) ve %2 NaCl (w/w) ilave edildikten sonra deneme grupları için porsiyonlama işlemi yapılmıştır. Çizelge 1'de verilen oranlarda kamkat tozu/suyu içeren deneme grubu 50 mL'lik santrifüj tüplerine (Isolab, Türkiye) doldurulmuştur. Her bir deneme grubundan depolamanın 0, 7, 14, ve 21. günlerinde kullanılmak üzere 4 adet tüp dolumu yapılmıştır. Dolumu yapılan tüpler, sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirildikten sonra su banyosunun sıcaklık derecesi 85°C'ye yükseltilmiştir. Daha sonra bir termokupl (ISOLAB, thermomether) yardımıyla deneme gruplarının merkez sıcaklığı takip edilmiştir. Örneklerin merkez sıcaklığı 74°C'ye ulaştığında pişirme işlemi sona erdirilmiştir (Çemtekin ve ark., 2019). Pişirilen örnekler oda sıcaklığında soğutulmaya bırakılmıştır. Soğuyan örneklerin sıvı fazı uzaklaştırılarak 10°C'de 21 gün depolanmıştır.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan deneme grupları
Table 1. Trial groups used in the research

Gruplar	İçeriği
K	Kamkat ve <i>S. aureus</i> içermeyen deneme grubu
MO	Sadece <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT01	%0.1 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT10	%1 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT20	%2 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS01	%0.1 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS10	%1 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS20	%2 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu

Deneme gruplarının kontaminasyonu

Patojen mikroorganizmaların et modelindeki davranışını belirlemeden önce 18-24 saatlik taze kültürden mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Yapılan ön denemeler sonucunda *S. aureus* ATCC 25923 suşunun 37°C 18 saat sonrası yaklaşık 9 log kob/mL düzeyinde olduğu belirlenmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 suşu ana stoktan 30 µL alınarak 10 mL'lik TSB içeren tüplere aktarılmıştır. Bu tüpler 5.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Besiyeri kalıntıları uzaklaştırıldıktan sonra kalan peletler aynı hacim %0.9 (w/w) fizyolojik tuzlu su ile 2 defa yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonunda kalan pelet aynı hacimdeki (10 mL) %0.1 (w/w) peptonlu su içerisinde çözündürülmüştür. Et modelindeki kontaminasyon seviyesi yaklaşık 5 log kob/g olarak hedeflenmiştir. Pişirme işlemi sonunda oda sıcaklığına soğutulan örneklerin pişirme suyu aseptik olarak uzaklaştırılmıştır. Steril kabin içerisinde örnek steril bir pens yardımıyla çıkartılıp ve bakteri süspansiyonundan 1 mL ilave edilerek örnek tekrar tüp içerisine yerleştirilmiştir. Et örneği, kontaminasyon sıvısının bulunduğu tüpte yaklaşık 30 saniye boyunca kontamine edildikten sonra kontaminasyon sıvısı boşaltılmıştır. Her bir depolama günü (0, 7, 14 ve 21. gün) için bir tüp hazırlanmıştır.

pH analizi

Çalışmada pH ölçümü pH metre (WTW 3310, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. 5 g örnek 50 mL saf su içerisinde homojenize edildikten sonra pH metre yardımıyla pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Su aktivitesi analizi

Örneklerin su aktivitesi değerleri depolamanın 0,7, 14 ve 21. günlerinde su aktivitesi cihazı (Novasina AG Lab Swift, İsviçre) kullanılarak tespit

edilmiştir.

Oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP)

Örneklerde meydana gelen oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin değişimi WTW pH-ORP 3110 (Almanya) ile belirlenmiştir. Oksijenin etkisini azaltmak için örnek tüp içerisinden çıkartılmamıştır. Örneğin merkezine prob yerleştirilmiş ve 2 dakika beklendikten sonra okuma yapılmıştır (Houser, 2004)

Staphylococcus aureus sayımı

Aseptik şartlarda 25 g örnek steril homojenizatör poşetlerine tartılıp üzerine 225 mL peptonlu su ilave edilmiştir. 1 dakika homojenize edildikten sonra bu dilüsyondan seri dilüsyonlar hazırlanarak Baird Parker Agar (Merck, 105406) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 1-2 mm çapında siyah renkli, şeffaf zonlu kolonilerin sayımı yapılarak, sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir. Çalışma üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Tenderis ve ark., 2020).

İstatistik analiz

Depolamanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde deneme gruplarından aseptik olarak örnekler alınmıştır. Depolama günlerinde yapılan analizlerin farklılıkları istatistiksel olarak ortaya konmuştur. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics Paket programı Version 25 sürümü kullanılmıştır. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildikten sonra önemli bulunması

önemli bulunması halinde ($p < 0.05$) Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Analizler 3 paralelli yapılmış olup sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

pH analizi

Kamkat suyunun pH değerleri ortalaması 3.09 bulunurken kamkat tozunun pH değeri ortalaması 3.23 olarak tespit edilmiştir. Bulunan değerler yapılan diğer çalışma sonuçlarıyla uyumludur (Gül ve ark., 2021; Turgut ve ark., 2015).

Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyım örneklerinin 10°C'de depolanmasında elde edilen pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Deneme gruplarının 0. gün pH değerleri 5.59 ile 5.79 arasında değişmekle birlikte KT ilaveli gruplar arasında ve KS10 ile KS20 arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Elde edilen verilerde tüm depolama günlerinde gruplar arası en düşük pH değeri KS20 grubunda olmuştur ($p < 0.05$). Buradan yola çıkarak kamkat suyu miktarının artırılması pH'yı düşürmekte etkili olmuştur. Benzer sonuçlar Gedikoğlu ve Clarke (2019)'ın yaptıkları çalışmada da ortaya konulmuştur. %1 ile %5 narenciye lifi ilave edilen pişmiş kıymalarda kontrol grubuna göre pH'da önemli bir değişikliğe sebep olmazken %10'luk narenciye lifi pH'yı düşürmüştür (Gedikoğlu ve Clarke, 2019). Bingöl ve ark. (2011), limon suyunun çiğ köftede *S. Enteriditis* ve *E. coli*'nin canlılığına etkisini araştırdıkları çalışmalarında limon suyu miktarının artmasıyla pH düşüşünün arttığını tespit etmişlerdir ve bu sonuçlar verilerimizle paralellik göstermektedir (Bingöl ve ark., 2011). Mexis ve ark. (2012), oksijen bağlayıcısı olarak narenciye özütünün tavuk kıymasında kullanıldığı bir çalışmada, narenciye ekstraktının eklenmesinin kullanılan konsantrasyondan bağımsız olarak pH'ı önemli ölçüde etkilemediğini ortaya koymuşlardır (Mexis ve ark., 2012).

Bu veriler ile araştırmamızda elde edilen sonuçlar uyuşmamaktadır. Bunun sebebinin kullanılan narenciye'nin cinsine ve ekstraktın elde edilme yöntemine göre değişebileceği düşünülmektedir. Depolamanın 7. gün analizlerinde KS20 grubu hariç tüm grupların pH değerlerinde bir yükselme meydana gelmiştir ($p < 0.05$). Depolamanın 14. gün analizlerinde 7. güne kıyasla MO, KT20 ve KS10 grupları hariç pH değerleri sabit kaldığı tespit edilmiştir. Son analiz gününde ise tüm grupların pH değeri düşmüştür. Analiz günlerindeki pH değişimlerinin istikrarlı olmamasının sebebi mikroorganizmanın ortama uyum sağlamasıyla üremesine ve ortam sıcaklığının 10°C olmasına bağlanabilir. Depolama süresi boyunca KT01, KT10 ve KS01 gruplarında ilk gün ve son gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaz iken, KT20 ve KS10 gruplarında pH'da istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş meydana gelmiştir ($p < 0.05$). Hsouna ve ark. (2017), limon esansiyel yağının kıymaya inoküle edilen *L. monocytogenes*'e karşı koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada depolamanın son gününde ilk gününe göre pH'da yükseliş tespit etmişlerdir (Hsouna ve ark., 2017). Bu yükselişin sebebi etin bozulması sonucunda proteinlerin parçalanması ve alkali reaksiyon bileşiklerince oluşan NH₃ ve aminlerin ortaya çıkmasına bağlanabilir. Elde edilen veriler ışığında KT20 grubunda kullanılan dozun pH'ı depolamanın son günü dahi düşürmesinin bozulmayı geciktirdiği varsayılmaktadır. Ayrıca kamkat suyunun %1 ve %2'lik konsantrasyonunun pH'ı düşürmede daha etkili olduğu belirlenmiştir. Kamkat suyunun, kamkat tozuna göre pH'ı düşürmede daha etkili olduğu söylenebilir. Bunun sebebinin kurutma işlemi sırasında kamkatta uçucu bileşiklerin ve özellikle flavonoidlerin kaybedilmesine bağlı olduğu düşünülebilir.

Çizelge 2. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin pH sonuçları
Table 2. pH results of cooked ground meat samples contaminated with *S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	5.77±0.00 ^{abc}	5.83±0.00 ^{abA}	5.82±0.00 ^{bA}	5.79±0.00 ^{aB}
MO	5.79±0.00 ^{ab}	5.84±0.00 ^{aA}	5.79±0.01 ^{dB}	5.77±0.00 ^{aC}
KT01	5.67±0.01 ^{cB}	5.78±0.01 ^{CA}	5.81±0.00 ^{CA}	5.70±0.02 ^{cB}
KT10	5.70±0.02 ^{cB}	5.81±0.00 ^{bA}	5.84±0.01 ^{aA}	5.68±0.01 ^{cB}
KT20	5.67±0.01 ^{cd}	5.85±0.00 ^{aA}	5.79±0.00 ^{dB}	5.75±0.00 ^{bC}
KS01	5.74±0.00 ^{bb}	5.83±0.00 ^{abA}	5.82±0.00 ^{bA}	5.74±0.00 ^{bb}
KS10	5.63±0.00 ^{dd}	5.74±0.00 ^{dA}	5.70±0.00 ^{eB}	5.66±0.00 ^{dC}
KS20	5.59±0.02 ^{db}	5.60±0.01 ^{eAB}	5.64±0.01 ^{fA}	5.51±0.01 ^{eC}

(↓) Farklı küçük harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

(→) Farklı büyük harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Su aktivitesi analizi (a_w)

Su aktivitesi, bakteriyel bozulmayı, ürünlerin stabilitesini ve raf ömrünü etkileyen en güçlü faktörlerden biridir. *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinde kamkat suyu/tozunun etkinliğinin araştırıldığı çalışmada elde edilen su aktivitesi (a_w) sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. 0. gün a_w sonuçları 0.90±0.00 ile 0.91±0.00 arasında değişmekle birlikte en düşük a_w değeri KT10 ve KS gruplarında elde edilmiştir (p<0.05). Depolamanın 7. gününde en düşük a_w değeri KS20 grubunda bulunmuştur. Ayrıca KS01 hariç tüm gruplarda ilk depolama gününe göre a_w değeri düşmüştür. 14. gün en düşük a_w değeri K grubunda bulunmakla birlikte, a_w değerleri 7. gün sonuçlarına göre genellikle artma eğilimi göstermiştir. Son depolama gününde K, MO ve KS01 gruplarında en yüksek ve benzer değerler elde edilirken, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). İlk

ve son depolama günleri ele alındığında KS01 grubu hariç tüm gruplarda a_w değerinin düştüğü tespit edilmiştir. KS01 grubunun a_w değeri tüm depolama günleri boyunca sabit kalmıştır. Tüm veriler ele alındığında kamkat tozunun tüm dozlarının ve kamkat suyunun %1 ve üzeri dozlarının a_w değerini düşürdüğü söylenebilmektedir. Viuda-Martos ve ark. (2010), narenciye lifi ve baharat esansiyel yağlarının mortadella peynirinin kalite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre lifli gruplarda a_w değerlerinde düşme tespit etmişlerdir (Viuda-Martos ve ark., 2010). Robertson ve ark. (2000), narenciye ve elma diyet liflerinin nişastanın hidrasyon özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada nişastanın a_w değerinin düştüğü tespit edilmiştir (Robertson ve ark., 2000). Yapılan çalışmaların sonuçları elde ettiğimiz verilerle paralellik göstermektedir.

Çizelge 3. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin su aktivitesi (a_w) sonuçları
Table 3. Water activity (a_w) results of cooked ground meat samples contaminated with *S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	0.91±0.00 ^{abA}	0.89±0.00 ^{bC}	0.89±0.00 ^{dC}	0.90±0.00 ^{aB}
MO	0.91±0.00 ^{aA}	0.90±0.00 ^{aC}	0.90±0.00 ^{aB}	0.90±0.00 ^{aC}
KT01	0.91±0.00 ^{abA}	0.89±0.00 ^{abB}	0.90±0.00 ^{abA}	0.89±0.00 ^{abcB}
KT10	0.90±0.00 ^{CA}	0.89±0.00 ^{abB}	0.90±0.00 ^{abcA}	0.89±0.00 ^{bcB}
KT20	0.91±0.00 ^{bA}	0.89±0.00 ^{bB}	0.90±0.00 ^{abcA}	0.89±0.00 ^{cB}
KS01	0.90±0.00 ^{CA}	0.90±0.00 ^{aA}	0.90±0.00 ^{bcdA}	0.90±0.00 ^{abA}
KS10	0.90±0.00 ^{CA}	0.90±0.00 ^{abB}	0.90±0.00 ^{cdB}	0.89±0.00 ^{abcB}
KS20	0.90±0.00 ^{CA}	0.89±0.00 ^{cC}	0.90±0.00 ^{abcA}	0.89±0.00 ^{cB}

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

Oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP)

Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin 10°C'de depolanmasında elde edilen ORP analiz sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. İlk depolama günü ORP değerleri -127.35 ± 0.65 ile -95.70 ± 0.90 arasında bulunmuştur. İlk depolama günü en düşük ORP değeri K grubunda tespit edilirken, diğer gruplarda genellikle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Depolamanın 7. günü en düşük ORP değerleri KT10 ve KT20 grubunda benzer olarak bulunmuştur. Araştırmanın 7. günü tüm gruplarda ORP değeri ilk depolama günü sonuçlarına göre yükselmiştir. 14. günde en düşük ORP değerleri KT10, KS01 ve KS10 gruplarında benzer olarak bulunmuştur ($p > 0.05$) ve genel olarak tüm gruplarda 7. güne kıyasla artış meydana gelmiştir. Son depolama gününde en düşük ORP değeri K grubunda tespit edilmiştir ve K grubuna kıyasla MO grubunun ORP değerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu veri Tenderis ve ark. (2020)'nin yaptığı sodyum laktat, polifosfatlar ve bunların kombinasyonlarının pişmiş kıymada *S. aureus* gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmanın sonuçlarıyla uyumaktadır (Tenderis ve ark., 2020). Bu bilgilere bakılarak *S. aureus* varlığının ORP değerini arttırdığı söylenebilir. Son depolama günü kamkat suyunun katıldığı gruplarda kamkat tozunun katıldığı gruplara göre daha yüksek ORP değerleri elde edilmiştir. İlk

depolama günü ile son depolama günü karşılaştırıldığında tüm gruplarda ORP değeri yükselmiştir. Karwowska ve Dolatowski (2007)'nin sığır etinde doğal antioksidanların oksidatif süreçler üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada çoğu deney grubunda ORP değerlerinin depolama süresince arttığı ortaya konulmuştur ve çalışmamızda elde edilen verilerle paralellik göstermektedir (Karwowska ve Dolatowski, 2007). Tenderis ve ark. (2020)'nin, sodyum laktat, polifosfatlar ve bunların kombinasyonlarının pişmiş kıymada *S. aureus* gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, son depolama gününde en yüksek ORP değerini kontrol grubunda bulunmuşlardır (Houser, 2004). Tenderis ve ark. (2021)'nin sodyum laktat ve polifosfatların işlenmiş kıymadaki *L. monocytogenes* ve *P. fluorescens* büyümesini araştırdıkları çalışmada ise her iki bakteri grubunda da depolamanın sonunda negatif kontrol ve mikroorganizma kontrol gruplarının daha yüksek ORP değerine sahip oldukları bulunmuştur (Tenderis ve ark., 2021). Bu çalışmaların verileri araştırmamızda elde edilen sonuçlarla uyumamaktadır. Bunun sebebin katılan maddelerin farklılığından ve farklı sıcaklık derecelerinde depolanmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Çizelge 4. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP) sonuçları (mV)

Table 4. Oxidation reduction potential analysis (ORP) results (mV) of cooked ground meat samples contaminated with *S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	-127.35 ± 0.65^{cD}	-31.75 ± 1.05^{dB}	2.70 ± 0.10^{aA}	-56.00 ± 0.10^{fC}
MO	-110.30 ± 15.70^{abcC}	-31.95 ± 0.15^{dB}	-12.80 ± 0.60^{cAB}	12.90 ± 1.70^{cA}
KT01	-95.70 ± 0.90^{aC}	-30.20 ± 2.40^{cdB}	-17.25 ± 3.55^{cdA}	-9.20 ± 1.40^{dA}
KT10	-107.45 ± 0.15^{abD}	-39.15 ± 0.45^{eC}	-25.20 ± 0.20^{eA}	-34.10 ± 0.40^{eB}
KT20	-98.20 ± 0.00^{aC}	-36.15 ± 1.35^{eB}	-17.10 ± 0.50^{cdA}	-37.30 ± 1.60^{eB}
KS01	-118.60 ± 0.00^{bcC}	-17.50 ± 0.50^{bB}	-21.45 ± 2.05^{deB}	38.10 ± 0.80^{aA}
KS10	-105.90 ± 0.00^{abC}	-26.85 ± 1.35^{cB}	-25.95 ± 0.15^{eB}	32.50 ± 1.40^{bA}
KS20	-109.7 ± 0.00^{abcd}	-12.75 ± 1.05^{aC}	-7.1 ± 0.80^{bB}	34.45 ± 0.25^{abA}

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

Staphylococcus aureus sayımı

S. aureus ile kontamine edilmiş pişmiş kıyım örneklerinde kamkat suyu/tozunun *S. aureus* sayısı üzerindeki etkinliği ve elde edilen sonuçlar Çizelge 5'te verilmiştir. İlk depolama gününde K grubu dışında tüm gruplardaki *S. aureus* sayısı 4.22 ile 4.06 log kob/g arasında tespit edilmiştir ve deneme gruplarında hedeflenen *S. aureus* düzeyinde kontamine edilmiştir. Depolamanın 7. gününde K grubu hariç tüm gruplarda ilk güne göre *S. aureus* sayısında artış meydana gelmiştir ve en yüksek sayı (6.30 log kob/g) KT01 grubunda bulunurken, en düşük sayı KS20 (4.49 log kob/g) grubunda bulunmuştur. 14. günde K grubu hariç diğer gruplarda 7 güne kıyasla *S. aureus* sayısı genellikle artma eğilimi göstermiştir ve en düşük sayı KS20 grubunda bulunmuştur. Son depolama gününde en yüksek *S. aureus* sayısı MO grubunda bulunurken en düşük sayı KS20 grubunda bulunmuştur. 14. gün ile son depolama günü arasında KT20 ve KS10 grupları hariç *S. aureus* sayısı istatistiksel olarak sabit kalmıştır. Son depolama gününde MO grubuna kıyasla *S. aureus* sayısında en az düşüş 0.23 log ile KT10 grubunda bulunurken, en fazla düşüş 2.23 log ile KS20 grubunda olmuştur. KS20 grubu tüm depolama günlerinde en az *S. aureus* sayısı içeren grup olmuştur. Veriler ele alındığında *S. aureus* üzerindeki inhibisyon etkisinin aynı dozlarda eklenen kamkat sularının kamkat tozlarına göre

daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kamkat suyu miktarının artması ile inhibisyon etkisinin de arttığı ortaya konulmuştur. Bunun nedeninin taze

kamkat suyunda uçucu bileşen (limonen, myrcene, α -Pinen) miktarlarının kurutulma ile elde edilen kamkat tozuna göre daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Hsouna ve ark. (2017), narenciye limon esansiyel yağının kıyım etinde aşılınmış *L. monocytogenes*'e karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada 4°C'de 6 günlük saklamanın ardından *L. monocytogenes* sayısının kontrol grubuna göre 2.5 log azaldığı ortaya konmuştur (Hsouna ve ark., 2017). Bingol ve ark. (2011), limon suyunun çiğ köftede *S. Enteritidis* ve *E. coli*'nin yaşama etkisini araştırdığı çalışmada limon suyunun her iki bakteri sayısında düşüşün sağlandığını ve limon suyu miktarının artmasıyla inhibisyon etkisinin arttığını ortaya koymuştur (Bingol ve ark., 2011). Eldahrawy ve ark. (2022) soğuk depolama sırasında kıyım kalitesinin iyileştirilmesinde limon ve portakal kabuğu tozlarının etkinliğini araştırdığı bir çalışmada, kıymalara yaklaşık olarak 2.5 log *S. aureus* ilave edildiği ve 12. günden itibaren portakal ve limon kabuğu tozu ilave edilen tüm gruplarda *S. aureus*'un tamamen inhibe olduğu bildirilmişlerdir (Eldahrawy ve ark., 2022). Yukarıda bahsedilen çalışmalarda narenciye sularının veya tozlarının gıdalarda mikrobiyal gelişime engel olduğu ve raf ömrünü uzattığı görülmüştür. Tüm bu veriler çalışma sonuçlarımızla uyum içerisindedir. Narenciyelerin gösterdiği bu aktimikrobiyal özelliğin kabuklarındaki fenolik bileşiklerden geldiği düşünülmektedir.

Çizelge 5. *S. aureus* sayım sonuçları (log kob/g)Table 5. *S. aureus* count results (log cfu/g)

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	<2	<2	<2	<2
MO	4.10±0.10 ^{aC}	5.15±0.05 ^{cB}	6.40±0.10 ^{aA}	6.60±0.04 ^{aA}
KT01	4.13±0.13 ^{aB}	6.30±0.09 ^{aA}	6.28±0.07 ^{aA}	6.29±0.04 ^{bA}
KT10	4.13±0.04 ^{aC}	5.50±0.10 ^{bB}	6.30±0.10 ^{aA}	6.37±0.16 ^{abA}
KT20	4.19±0.02 ^{aD}	5.15±0.05 ^{cC}	5.70±0.20 ^{bB}	6.17±0.06 ^{bA}
KS01	4.22±0.04 ^{aC}	5.60±0.10 ^{bB}	6.41±0.04 ^{aA}	6.23±0.02 ^{bA}
KS10	4.18±0.01 ^{aD}	4.75±0.05 ^{dC}	5.34±0.07 ^{aB}	5.64±0.12 ^{cA}
KS20	4.06±0.06 ^{aB}	4.49±0.01 ^{eA}	4.60±0.10 ^{dA}	4.37±0.07 ^{dA}

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

Sonuçlar

Et ve et ürünlerinin üretiminde, olgunlaşmasında, raf ömrünün uzatılmasında birçok sentetik ve doğal olarak antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Bu çalışma ile kamkat meyvesinin doğal bir koruyucu olarak antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. 10°C'de 21 gün boyunca pişmiş kıymada kamkat suyu/tozu ilavesinin *S. aureus* üzerinde gelişimi baskıladığı bulunmuştur. Bu etki özellikle %2 (w/w) kamkat suyu ilavesi yapılan grupta belirlenmiştir. Kamkat suyunun %1 (w/w) ve üzerindeki dozlarının et ürünlerinin işlenmesi veya depolanmasında meydana gelebilecek kontaminasyonları azaltmada etkili olabileceği ortaya konulmuştur. Çalışmada kullanılan dozlar, ürünün tat ve koku gibi duyuşsal niteliklerini etkilemesi ihtimali düşünülerek belirlenmiştir. Kamkat suyunun yüksek dozlarda gıdalarda kullanımı *S. aureus* sayısını azaltabileceği ancak kullanılacak bu yüksek doza bağlı olarak ürünün duyuşsal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak kamkat suyunun gıdalarda sentetik maddelerin yerine kullanılabilir sağlıklı, ucuz ve kolay temin edilebilir yeni doğal bir koruyucu olarak uygulanabilme potansiyeline sahiptir.

Çıkar Çatışması: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

ederler.

Yazar Katkısı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

- Abdulahman, L. S., Stanley, A., Wells, H., & Fakhr, M. K. (2015). Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6), 6148-6161.
- Ağaoğlu, S., Dostbil, N., & Alemdar, S. (2007). Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51, 53-57.

- Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H. B., Gürgün, V., Halkman, A. K., & Tükel, Ç. (2000). Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Böl, 2.
- Banerjee, R., Verma, A. K., Das, A. K., Rajkumar, V., Shewalkar, A. A., Narkhede, H. P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Science*, 91(2), 179-184.
- Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., Smaoui, S., & Hamdi, N. (2017). Citrus lemon essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Lipids in Health and Disease*, 16, 1-11.
- Bingol, B. E., Cetin, O., & Muratoglu, K. (2011). Effect of lemon juice on the survival of *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli* in cig kofte (raw meatball). *British Food Journal*, 113(9), 1183-1194.
- Bouchard, D.S., Rault, L., Berkova, N., Le Loir, Y., & Even, S. (2013). Inhibition of *Staphylococcus aureus* invasion into bovine mammary epithelial cells by contact with live *Lactobacillus casei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(3), 877-885.
- Çemtekin, B., Kılınc, E., Karabacak, L., Dağtekin, T., Tiryaki, T., Soyuçok, A., & Kılıç, B. (2019). An evaluation of guelder rose (*Viburnum opulus* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna*) concentrates as alternative antioxidant sources to BHT and nitrite in poultry meat model system. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 62(2).
- Eldahrawy, M., Salem, A. M., & Nabil, M. (2022). The efficiency of citrus peel powders in improvement of meat quality during chilled storage. *Benha Veterinary Medical Journal*, 42(2), 208-213.
- Gedikoğlu, A., & Clarke, A. D. (2019). Quality attributes of citrus fiber added ground beef and consumer acceptance of citrus fiber added Turkish meatballs. *Food and Health*, 5(4), 205-214.
- Gül, E. N., Altuntaş, E., & Öcalan, O. N. (2021). Nagami Çeşidi Kamkat Meyvelerinin Fiziko-Mekanik Karakteristikleri ile Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(4), 1064-1072.
- Houser, T. A. (2004). Quality characteristics of irradiated ready-to-eat meats. Iowa State University.
- Karwowska, M., & Dolatowski, Z. J. (2007). The effect of natural antioxidants on the oxidative processes in beef. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(1), 17-25.
- Kim, D. S., Lee, S., Park, S. M., Yun, S. H., Gab, H. S., Kim, S. S., & Kim, H. J. (2021). Comparative metabolomics analysis of citrus varieties. *Foods*, 10: 1-15.
- Küplülü, Ö. (2002). Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile stafilkokal enterotoksin varlığının belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(3), 631-637.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462.
- Lee, S. U. (2017). Analysis of *Kudoa septempunctata* as a cause of foodborne illness and its associated differential diagnosis, *Epidemiology and Health*, 39.

- Mexis, S. F., Chouliara, E., & Kontominas, M. G. (2012). Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 49(1), 21-27.
- Mørk, T., Kvitle, B., & Jørgensen, H. J. (2012). Reservoirs of *Staphylococcus aureus* in meat sheep and dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 81-87.
- Nuray, C., & Badayman, M. (2022). Kamkatın muhafazası ve çeşitli gıdaların üretiminde kullanımı. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1), 36-44.
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J. F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 33(2), 72-79.
- Sadek, E. S., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2009). Polyphenolic composition and antioxidant characteristics of kumquat (*fortunella margarita*) peel fractions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 297-302.
- Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2020). Impact of sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates 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.
- Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2021). Controlling growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* in thermally processed ground beef by sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates incorporation. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 144, 111169.
- Turgut, D. Y., Gölükcü, M., & Tokgöz, H. (2015). Kamkat (*Fortunella margarita* Swing.) meyvesi ve reçelinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Derim*, 32(1), 71-80.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. *Meat Science*, 85(3), 568-576.
- Wyness, L. (2016). The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 227-232.