



The Effect of Essential Oils of Rosemary and Clove on Shelf Life Chicken Meat*

Sezen HARMANKAYA¹ Leyla VATANSEVER²

¹ Kafkas University, Kars Vocational School, Department of Food Processing, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Safety and Public Health, Kars, Turkey

Received: 03.05.2016

Accepted: 12.08.2016

SUMMARY

In this paper, the minimum effective doses of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and clove (*Syzygium aromaticum*), which are consumed for aromatizing the foods, on the food pathogens, and the effects on decontamination of poultry meat and extending the shelf life were investigated. 7 Gram-positive (*Brochotrix thermosphacta*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*) and 6 Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia enterocolitica: O3*) bacteria were used. Firstly, the minimum effective doses of rosemary and clove essential oils at 30th minute and 24th hour were determined separately, and it was found that clove oil is more effective than rosemary oil. Moreover, the fact that rosemary and clove oils were more effective on bacteria at 24th hour indicates that both of the essential oils are delayed-effect ones. In experiments, where the effects on shelf life of drumsticks by spraying the oils of rosemary, clove and their combination, it was observed that clove oil is more effective on the shelf life from antimicrobial efficiency aspect. In replication groups of this research, where the clove and rosemary oils were used together, even though 1 increment or more decreases were observed during the beginning of storage of all the samples, this difference was closed towards the end, and the values that are close to control groups were determined. During the study, it was concluded that, although the rosemary and clove oils were effective on poultry meat's microflora, they were not capable of expanding the shelf life.

Key Words: Clove oil, Rosemary oil, Chicken meat, Antibacterial effects

ÖZET

Tavuk Eti Raf Ömrü Üzerine Biberiye ve Karanfil Uçucu Yağlarının Etkisi

Bu çalışmada gıdalara aroma vermek amacıyla tüketilen biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) bitkilerinin uçucu yağlarının, gıda patojenleri üzerine minimum etkili dozları, kanatlı etinin dekontaminasyonu ve raf ömrünün uzatılması yönünde etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında 7 Gram pozitif (*Brochotrix thermosphacta*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*) ve altı Gram negatif bakteri (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia enterocolitica:O3*) üzerinde karanfil ve biberiye yağlarının 30. dakikada ve 24. saat sonunda etkili olabilen en düşük konsantrasyonları ayrı ayrı belirlenmiş ve karanfil yağının etkinliğinin biberiye yağından daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca biberiye ve karanfil yağlarının bakteriler üzerine 24. saatte daha etkili olmaları, her iki yağında geç etkili olduğunu göstermiştir. Kuru pedlere karanfil yağı, biberiye yağı ve bunların kombinasyonlarının püskürtme yöntemiyle emdirilerek, tavuk butlarının raf ömrüne etkisinin incelendiği çalışmalarda ise antimikrobiyal etkinlik açısından karanfil yağının, biberiye yağına göre daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Biberiye ve karanfil yağının birlikte kullanıldığı deneme gruplarında tüm örneklerde muhafaza sürecinin başlangıç dönemlerinde 1 basamak ve daha fazla indirgeme sağlansa da sürecin sonlarına doğru bu fark kapanmış ve kontrol grubuna yakın değerler aldığı görülmüştür. Çalışmalarda karanfil yağı ve biberiye yağı tavuk etinin mikroflorası üzerinde etki sağlasa da raf ömrünü uzatmakta yeterli olamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Karanfil yağı, Biberiye yağı, Tavuk eti, Antibakteriyel etki

GİRİŞ

Kanatlı eti sağlığa yararlı olduğu kadar başka bazı protein kaynaklarına göre, düşük maliyetli olduğu için doğru beslenmede önemli bir besin kaynağıdır (Çiftçioğlu 2015). Fakat kanatlı etleri uygulanan kesim işlemi, karkasın pH değeri, redoks potansiyeli ve muhafaza sıcaklığına bağlı

olarak patojen ve bozulmaya neden olan birçok mikroorganizmanın kontaminasyonu ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmakta (Çiftçioğlu 2015) ve her geçen gün gıda kaynaklı enfeksiyonların oluşumunda daha fazla rol almaktadırlar (Mulder ve Schlundt 1999).

Bu nedenle kanatlı eti üretiminde her zaman gıda güvenliği

ön plandadır. Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi (HACCP) ve ISO 22000 gibi gıda güvenliğini sağlayan uygulamalar kontaminasyonu önlemede tam anlamıyla yeterli olamayabilirler (Çiftçioğlu 2015). Bu nedenle bulaşmayı önleyici veya azaltıcı daha iyi ve güvenilir hijyen uygulamalarına gereksinim duyulmaktadır. Farklı tekniklerle ve maddelerle yapılan dekontaminasyon uygulamaları kanatlı eti üretiminde sıklıkla kullanılan kontaminasyon azaltıcı yöntemlerdir.

İdeal bir dekontaminasyon yöntemi, öncelikle gıdanın duysal ve besinsel özelliklerini değiştirmemeli, gıda maddesinde kalıntı bırakmamalı, çevreye zarar vermemeli, yasal, ucuz ve teknolojik olarak uygulamaya elverişli olmalıdır. Patojen bakterilerle birlikte bozulmaya neden olan bakterileri de inaktif hale getirerek, gıdaların raf ömrünü uzatmalıdır (Dincer ve Baysal 2004). Baharatlar, şifalı otlar ve bunlardan da elde edilen uçucu yağlar da mikroorganizmalar üzerinde kullanılan dekontaminantlardır (Ertürk 2006). Fakat birçok bitkinin antimikrobiyal etkisi olduğu literatürde bildirilmesine rağmen hepsinin gıdalarda kullanımı henüz mümkün olmamıştır (Cutter 2000). Zamanla fenolik bileşiklerce zengin adaçayı, kekik, biberiye ve karanfil gibi tıbbi ve aromatik bitkilerin gıdalarda koruyucu madde olarak kullanımlarına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bunlar arasında, biberiye üzerinde yoğun olarak çalışılmış ve günümüzde söz konusu bitki, Avrupa ve ABD'de antioksidan olarak kullanıma sunulan tek ticari ürün konumuna gelmiştir (Bozin ve ark. 2007). Antioksidan özelliği güçlü olan bir diğer bitki de karanfildir. Eugenol, karanfil ekstraktının büyük bir kısmını oluşturur ve söz konusu bitkinin antioksidatif ögesidir. Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, karanfilin BHT ve BHA kadar güçlü antioksidatif etki gösterdiği belirtilmiştir (Lean ve Suhaila 1999).

Çiğ tavuk etinin bakteriyel kontaminasyon durumu, gerek insan sağlığı gerekse ekonomik açıdan önemli bir sorundur. Bununla birlikte, araştırmacıların bu gıdalar için, bozulma yapıcı veya patojen nitelikte mikroorganizmaları sayıca indirgeyebilecek veya elimine edebilecek, doğal ve kabul edilebilir özellikte antimikrobiyal ve antioksidan maddeleri ya da uygulamaları bulma arayışları artarak devam etmektedir. Bu noktadan hareketle, bu çalışma ile genellikle gıdalara aroma vermek amacıyla kullanılan biberiye ve karanfil bitkilerinin uçucu yağlarının, gıda patojenleri üzerine minimum etkili dozları, kanatlı etinin dekontaminasyonu ve raf ömrünün uzatılması yönünde kullanım potansiyellerini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bölgede bulunan bir kasaptan temin edilen ticari bir firmaya ait olan soğutulmuş taze kesim broiler tavuk butları, kasa ile soğuk zincir korunup aseptik koşulların sağlanmasına dikkat edilerek, kısa sürede laboratuvara getirildi ve analizlere başlayıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi. Esansiyel yağ eldesi için kullanılacak olan biberiye ve karanfil bitkileri ise bölgede bulunan bir aktardan kurutulmuş olarak alındı. Referans suşlar (*Lb. casei*, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides*, *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *B. thermosphacta*, *M. luteus*, *Y. enterocolitica* O3, *P. aeruginosa*) Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinden temin edildi.

Metot

Bitki uçucu yağlarının analizi

Kurutulmuş biberiye bitkisinin yaprakları ve karanfil bitkisinin çiçek tomurcukları öğütüldükten sonra, uçucu yağları Clevenger (Wisdom-Wise Therm) cihazında, su buharı distilasyonu yöntemiyle elde edildi (Wichtl 1971). Uçucu yağların kimyasal bileşenleri GS_MS ile Adams (2004) tarafından belirtilen yöntemle göre yapıldı.

Uçucu Yağlar ile Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) Belirleme Denemeleri

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinden temin edilen mikroorganizma kültürlerinin konsantrasyonu McFarland 0.5 (10⁸ mikroorganizma/ml)'e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturuldu. Karanfil ve biberiye yağının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkilerini belirlemek için ise Nostro ve ark. (2001) tarafından bildirilen Broth Dilüsyon Metodu kullanıldı. *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Laktik asit bakterileri, *Brochotrix thermosphacta*, ve *Y. enterocolitica* O3 mikroorganizmaların sayımı ve tanımlanmaları belirlenmek üzere, Tablo.1'de belirtilen besiyerlerine anaerob bakteriler dökme plak yöntemi ile aerob bakteriler yayma plak yöntemi ile ekimleri yapıldı. Ekim yapılan petripler Tablo 1'de belirtilen inkübasyon koşullarında inkübe edildi.

Uçucu Yağlar ile Raf Ömrü Belirleme Denemeleri

MIC çalışmalarında alınan sonuçlar göz önünde bulundurularak tavuk eti örneklerine farklı konsantrasyonlarda uçucu yağ karışımları uygulandı. Oral ve ark. (2009) tarafından kullanılan yöntem temel alınarak deneysel düzeneğin planlanması aşamasında on iki grup oluşturuldu. Her bir konsantrasyon sırasıyla A (Biberiye %10 + Karanfil %10), B (Biberiye %15 + Karanfil %5), C (Biberiye %5 + Karanfil %3), D (Biberiye %5+ Karanfil %10), E (Biberiye %10), F (Karanfil %10), G (Biberiye %15), H (Karanfil %5), I (Biberiye %5), J (Karanfil %3), K (Kontrol: Hiçbir işlem uygulanmadı), T (1/1000 oranında Tween 80'li su: sıvı ortam etkisizleştirmek ve Tween 80'in herhangi bir antibakteriyel etkisinin olup olmadığının kontrolü için) olarak adlandırıldı.

Muhafaza periyodunun 0, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. günlerinde et örnekleri alınarak organoleptik, fiziksel, mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri yapıldı. Denemeler 3 defa tekrarlandı.

Mikrobiyolojik analizler

Tavuk butu örnekleri tartılıp steril poşetlere alındıktan sonra üzerlerine but ağırlığının 9 katı kadar FTS (Fizyolojik tuzlu su) eklendi. Daha sonra her bir grup örnek poşetin ağzı kapatılarak 10 dk süre ile çalkalamak suretiyle sıvıların butlara iyice temas etmesi sağlandı. Her bir gruptan steril tüplere yeteri kadar sıvı alındı. Mikrobiyel yükü belirlemek amacıyla homojenizatın desimal dilüsyonları hazırlanarak, toplam aerobik mezofilik bakteri (TMAB), toplam aerobik psikrotrof bakteri (TPAB), *Pseudomonas* spp, laktik asit bakterileri, *Enterobacteriaceae*, koliform grubu ve fekal koliform grubu analizleri (Harrigan ve ark. 1998), *Enterococcus* spp. (Burkwal ve ark. 1964), *Brochotrix* spp. (Holley ve ark. 2005), Stafilkok/Mikrokok (Götz ve ark. 2006) ve Maya/Küf grubu (Anonim 2010) mikroorganizma sayılarını belirlemek üzere Tablo. 2'de belirtilen besiyerlerine yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı. Ekim yapılan petripler Tablo. 2'de belirtilen inkübasyon koşullarında inkübe edildi.

Tablo.1 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun (MIC) etki denemelerinde kullanılan bakteri kültürleri ve inkübasyon koşulları

Table.1 The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) effect of bacterial cultures used in the experiment and incubation conditions

Mikroorganizma	Kullanılan Besiyeri	İnkübasyon Koşulları	Literatür
<i>Escherichia coli</i>	Violed Red Bile Agar (Oxoid CM0107)	Aerob 44,5 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Salmonella enteritidis</i>	Brillant Green Agar (Modified) (Oxoid CM0329)	Aerob 37 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Salmonella typhimurium</i>	Brillant Green Agar (Modified)	Aerob 37 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Shigella dysenteriae</i>	Salmonella -Shigella Agar (Merck 1.07667)	Aerob 37 °C 24 sa.	Anonim 2015
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeria Selective Agar Base (Oxoid CM0856)	Aerob 30 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker Agar Base* (Oxoid CM0275)	Aerob 37 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Micrococcus luteus</i>	Baird Parker Agar Base*	Aerob 37 °C 24 sa.	Anonim 2014
<i>Lactococcus lactis</i>	M.R.S. Agar (de man-Rogosa, Sharpe) (Oxoid CM0361),	Aerob 30 °C 24 sa.	Harrigan ve ark. 1998
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	M.R.S. Agar	Aerob 30 °C 24 sa.	Harrigan ve ark. 1998
<i>Lactobacillus casei</i>	MRS Agar	Anaerob 30 °C 24 sa.	Harrigan ve ark. 1998
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonas Agar Base*** (Oxoid CM0559)	Aerob 30 °C 24 sa.	Harrigan ve ark. 1998
<i>Yersinia enterocolitica 03</i>	Yersinia Selective Agar Base**** (Oxoid CM0653)	Aerob 30 °C 24 sa.	Halkman 2005
<i>Brochotrix thermosphacta</i>	STAA Agar Base** (Oxoid CM0881)	Anaerob 25 °C 24 sa.	Holley ve ark. 2005

Baird Parker Agar Base*(Oxoid CM0275)**STAA Supplement** (Oxoid SR 151E), ***** + CFC Supplement** (Oxoid SR 103) ****** + Yersinia Selective Supplement** (Oxoid SR 0109E).

Tablo 2. Mikrobiyolojik Analizler ve Bakteri Kültürlerinin İnkübasyon Koşulları

Table 2. Microbiological Analysis and Incubation Conditions of Bacterial Cultures

Mikroorganizma	Kullanılan Besi Yeri	İnkübasyon Koşulları
Muhtemel Fekal Koliform Grubu Bakteri	Violed Red Bile Agar (Oxoid CM0107)	Aerob 44.5 °C 24-48 sa.
Muhtemel Koliform Grubu Bakteri	Violed Red Bile Agar	Aerob 37 °C 24 sa.
<i>Enterobacteriaceae</i>	Violed Red Bile Glucose Agar (Oxoid CM0485)	Aerob 37 °C 24 sa.
<i>Pseudomonas spp</i>	Pseudomonas Agar Base**	Aerob 30 °C 24 sa.
Toplam Mezofilik Aerob Bakteri (TMB)	Plate Count Agar (PCA)(Oxoid CM0325)	Aerob 30 °C 24 sa.
Toplam Psikrotrof Aerob Bakteri (TMB)	Plate Count Agar (PCA) (Oxoid CM0325)	Aerob 7 °C 10 gün
Stafilokok/Mikrokok	Baird Parker Agar Base*	Aerob 37 °C 24 sa.
Laktik Asit Bakterileri (LAB)	M.R.S. Agar	Aerob 30 °C 24 sa.
<i>Brochotrix spp.</i>	STAA Agar Base***	Anerob 25 °C 24 sa.
<i>Enterococcus</i>	Slanetz and Bartley Agar (Oxoid CM0377)	Aerob 37 °C 24-48 sa
Maya-Küf	Patato Dekstroz Agar (PDA) (BAM Media M127)	Aerob 25 °C 3-5 gün

* **Egg yolk K-Tellurite:** Baird Parker Agar Base (Oxoid CM0275) + (10 ml egg yolk, 0,212 g NaCl, 0,105 g K. Tellurite, 50 ml distile su + 950 ml besiyeri), ****CFC Supplement** (Oxoid SR 103), *****STAA Supplement** (Oxoid SR 151E).

Fiziko-Kimyasal Analizler

pH Testi:

Örneklerin homojenizatlarının ve denemeler için hazırlanan biberiye, karanfil ve bunların kombinasyonlarını içeren sıvıların pH'ları pH metre (Hanna H1221) ile ölçülüp kaydedildi (Lightfoot ve Maier 2003).

Kokuşma Testi:

Soğuk muhafaza süresinde kokuşmanın tespiti amacıyla örneklerde Eber testi ile amonyak tespiti Vural (1992)'ın belirlediği yöntemle yapılarak kokuşmanın varlığı araştırıldı. Deney için bir tüp içerisine yaklaşık 2 parmak yüksekliğinde Eber ayracı (1 kısım HCl (d: 1.125), 1 kısım eter ve 3 kısım alkol (%96'lık) konuldu. Numuneden nohut büyüklüğünde bir parça uzunca bir pens yardımıyla tüp kenarlarına değdirilmeden reaktifte en yakın mesafede tutuldu. Ette bulunan amonyaka bağlı olarak amonyum

klorürden ibaret dumanın oluşumu kokuşma pozitif olarak kabul edildi.

Malondialdehit (MDA) Analizi

Et örneğinden 0.25 gr alınarak 5 ml fosfat tamponu ile doku homojenizatörü (Biospec, 985370) yardımıyla parçalandı. Daha sonra 4000 rpm'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant, Malondialdehit (MDA) ölçümünde kullanılmak üzere -18 °C'de stoklandı. Örneklerdeki Malondialdehit (MDA) miktarı tayininde sonuçlar, oluşturulan standart eğri yardımıyla mgMDA/kg olarak değerlendirildi. Bu amaçla, 0.494 ml 1.1.3.3-tetraetoksipropan (Sigma-Aldrich. T9889) (D.0.02; %97; MA: 220.3) ile 20 µmol/l'lik standart çözelti elde edildi. Bu çözeltiden 2.5 µmol/l, 5 µmol/l ve 10 µmol/l'lik dilüsyonlar hazırlandı. 535 nm'de köre (n-Bütanol) karşı optik dansiteleri Spektrofotometre (Thermo Alpha Helix) ile okundu (Yoshioka ve ark. 1979).

Duyusal Analizler

Duyusal analizlerin değerlendirilmesi beşli Hedonic Test kartları kullanılarak yapıldı. Örnekler mikrobiyolojik analiz için kullanılmadan önce paketler steril ortamda açılarak görünüş, renk ve koku yönünden değerlendirildi. Panelistlerin verdiği rakamlar puan olarak kabul edildi ve ortalamaları alındı. Duyusal analizler muhafazanın 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7. günlerinde yapıldı (Lim 2011).

İstatistiksel Analizler

Bağımsız üç tekrar olarak yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelendi. Gruplar arasındaki fark değerlendirilirken Duncan testi kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS 16 paket programı ile yapıldı.

BULGULAR

Uçucu Yağların Kompozisyonuna Ait Bulgular

GC-MS ile analizi yapılan karanfil yağı'nın ana bileşeni %87.5 oranında eugenol olarak tespit edildi. Elde edilen karanfil ve biberiye yağının bileşimini oluşturan maddelere ait konsantrasyon bilgileri aşağıdaki Tablo. 3'de sunuldu.

Tablo 3. Biberiye ve karanfil yağında tanımlanan bileşikler
Table 3. The compounds identified in rosemary and clove oil

Sıra	Biberiye Bileşenleri	Oranı
1.	α -Pinene	16.71
2.	β -Pinene	7.76
3.	1,8-Cineole	24.97
4.	δ -Terpinene	2.77
5.	Terpinolene	0.91
6.	Linalool	1.71
7.	Camphor	9.49
8.	Pinocamphone	0.39
9.	Borneol	10.98
10.	α -Terpineol	7.50
11.	Verbenone	0.95
12.	Bornyl Acetate	4.30
13.	Eugenol	1.31
14.	α -Copaene	0.33
15.	Z-Caryophyllene	4.39
16.	β -Longipinene	0.07
17.	α -Humulene	0.98
18.	AR-Curcumene	0.07
19.	α -Zingiberene	0.05
20.	α -Muuroolene	0.06
21.	δ -Cadinene	0.18
22.	Δ -Cadinene	0.23
23.	Caryophyllene oxide	0.19
24.	Nonadecane	0.13
25.	Abietatrene	0.03
26.	Tritetracontane	0.04
27.	δ -Cadinene	0.18
	Karanfil Bileşenleri	Oranı
1.	Eugenol	87.5
2.	α -Humulene	8
3.	(E,E)- α -FARNESENE	2.1
4.	Δ -Amorphene	1.4
5.	Caryophyllene oxide	0.2

Esansiyel Yağlar ile Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) Belirleme Bulguları

Karanfil ve biberiye esansiyel yağlarının MIC değerlerine ait sonuçlar Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Biberiye ve karanfil esansiyel yağlarının mikroorganizmalar üzerine MIC değerleri

Table 4. MIC values of rosemary and clove essential oils on microorganism

Bakteri	D.K.B. Y.	Biberiye (%)		Karanfil (%)	
		30 dk	24 Saat	30 dk	24 Saat
<i>Lb. casei</i>	2.1x10 ⁷	40 *	5	1	0.6
<i>Lc. lactis</i>	2.8x10 ⁷	40 *	7	1	0.5
<i>Leu. mesenteroides</i>	1.7x10 ⁷	40 *	1	1	0.5
<i>S. aureus</i>	3.9x10 ⁸	40 *	10	1	0.5
<i>S. dysenteriae</i>	2.0x10 ⁷	2	1.5	1	0.5
<i>E. coli</i>	1.7x10 ⁷	3	1.5	0.25	0.25
<i>S. typhimurium</i>	1.4x10 ⁸	2.5	1	0.3	0.3
<i>S. enteritidis</i>	1.5x10 ⁸	2	1	0.3	0.3
<i>L. monocytogenes</i>	3.7x10 ⁷	30	2	0.8	0.6
<i>B. thermosphacta</i>	1.9x10 ⁸	5	4	1	1
<i>M. luteus</i>	2.9x10 ⁷	28	1	1	1
<i>Y. enterocolitica O3</i>	2.9x10 ⁷	26	0.5	0.5	0.2
<i>P. aeruginosa</i>	1.2x10 ⁸	35 *	35 *	30 *	30 *

Raf Ömrü Denemelerine Ait Bulgular

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Bu çalışmada biberiye ile karanfil yağının farklı konsantrasyonları ve her iki yağın birlikte kullanıldığı farklı konsantrasyonların broiler butları üzerinde bulunan mikrofloraya ve tavuk butlarında bozulmaya neden olacak bakteriler üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bakteri sayıları muhafaza süresi boyunca değişim gösterse de muhafaza süresinin sonunda en düşük TMAB sayısı H grubunda, TPAB sayısı G ve H grubunda, Koliform bakteri sayısı D, A, F, H gruplarında *Enterobacteriaceae* sayısı A, B ve C gruplarında, *Enterococcus* sayısı E grubunda, LAB sayısı F grubunda, Maya-Küf B grubunda, Stafilokok-Mikrokok sayıları D grubunda bulunmuştur (P<0.05). Raf ömrü denemelerine ait bulgular ve muhafaza süresince olan değişimler Tablo 5'te verilmiştir.

Fiziko-Kimyasal Test Sonuçları

pH Değeri

Deneme gruplarının her analiz gününde ölçülen pH sonuçlarına göre örneklerin 0. gün pH değerlerinin, A, G, I ve T kontrol gruplarının dışında 1. gün değerlerine göre daha yüksek olduğu görüldü de istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı görüldü. Aynı şekilde diğer günlerde de pH değerlerindeki değişim istatistiksel açıdan önemli bulunmadı (P>0.05). Her gün ayrı olarak kendi içinde değerlendirildiğinde de gruplar arasında çok küçük fark olsa da istatistiksel açıdan önemli olmadığı görüldü (P>0.05).

Tablo 5. Muhafaza Süresi Boyunca Gruplardaki Mikroorganizma Sayısı**Table 5.** The Number of Microorganisms in the Group During the Storage Period

	Gruplar	0.gün	1.gün	3.gün	5.gün	7.gün
TMAB	A	6.14±0.00 ^e	6.92±0.03 ^e	8.00±0.00 ^b	9.56±0.09 ^c	11.50±0.00 ^d
	B	5.55±0.03 ^e	6.84±0.03 ^e	9.71±0.09 ^f	10.07±0.02 ^f	11.53±0.00 ^d
	C	5.50±0.01 ^b	7.49±0.06 ^g	8.40±0.10 ^c	9.53±0.01 ^c	10.70±0.10 ^a
	D	6.85±0.03 ^g	7.97±0.00 ⁱ	9.00±0.00 ^e	9.55±0.02 ^c	11.34±0.02 ^c
	E	6.50±0.01 ^f	7.72±0.06 ^h	9.73±0.02 ^f	10.00±0.00 ^f	11.55±0.02 ^d
	F	5.07±0.02 ^a	6.50±0.00 ^d	8.90±0.03 ^e	10.07±0.02 ^f	11.19±0.06 ^b
	G	6.07±0.02 ^e	7.14±0.03 ^f	7.79±0.00 ^b	8.92±0.00 ^a	10.69±0.02 ^a
	H	5.86±0.03 ^d	6.85±0.03 ^e	7.00±0.00 ^a	9.38±0.02 ^b	10.67±0.01 ^a
	I	6.92±0.03 ^g	7.64±0.01 ^h	8.29±0.21 ^c	9.71±0.03 ^d	11.55±0.01 ^d
	J	5.72±0.04 ^c	6.07±0.02 ^a	8.64±0.07 ^d	10.50±0.00 ^g	11.38±0.02 ^c
LAB	K	5.52±0.06 ^b	6.21±0.04 ^b	8.62±0.00 ^d	10.53±0.00 ^g	11.60±0.01 ^d
	T	5.50±0.01 ^b	6.34±0.01 ^c	8.64±0.01 ^d	9.84±0.03 ^e	11.55±0.01 ^d
	A	2.90±0.02 ^b	3.41±0.02 ^c	3.22±0.02 ^a	3.48±0.04 ^c	3.67±0.01 ^b
	B	3.56±0.02 ^g	3.79±0.01 ^g	3.54±0.00 ^d	3.11±0.03 ^a	3.88±0.01 ^d
	C	3.43±0.01 ^f	3.53±0.01 ^f	3.57±0.00 ^d	3.32±0.02 ^b	4.60±0.02 ⁱ
	D	3.17±0.02 ^d	3.65±0.01 ^f	3.46±0.00 ^c	3.47±0.02 ^c	3.69±0.00 ^b
	E	3.27±0.02 ^e	3.14±0.02 ^a	3.54±0.00 ^d	4.30±0.03 ^g	4.50±0.00 ^h
	F	2.69±0.02 ^a	4.17±0.03 ^h	3.54±0.01 ^d	3.22±0.04 ^b	3.25±0.02 ^a
	G	2.95±0.01 ^b	3.44±0.03 ^{cd}	3.68±0.00 ^e	3.74±0.00 ^d	3.96±0.00 ^e
	H	3.03±0.04 ^c	3.49±0.01 ^{de}	3.34±0.02 ^b	3.90±0.00 ^e	4.27±0.01 ^f
TPAB	I	3.70±0.01 ^h	3.20±0.03 ^a	4.06±0.06 ^g	4.47±0.02 ^h	3.94±0.00 ^e
	J	4.20±0.03 ⁱ	3.34±0.02 ^b	3.83±0.02 ^f	3.98±0.07 ^e	4.27±0.01 ^f
	K	3.69±0.01 ^h	3.69±0.01 ^f	3.50±0.01 ^{cd}	3.75±0.01 ^d	4.34±0.02 ^g
	T	3.56±0.02 ^g	3.84±0.01 ^g	3.81±0.01 ^f	4.14±0.05 ^f	3.74±0.00 ^c
	A	5.86±0.00 ^e	6.07±0.02 ^a	7.97±0.00 ^c	9.07±0.00 ^c	10.73±0.02 ^c
	B	5.50±0.00 ^b	6.07±0.02 ^a	8.07±0.02 ^{cd}	9.86±0.02 ^g	11.07±0.01 ^g
	C	5.38±0.02 ^a	6.66±0.02 ^d	8.34±0.01 ^d	9.07±0.01 ^c	10.77±0.00 ^c
	D	5.97±0.00 ^f	6.07±0.02 ^a	8.93±0.01 ^e	9.14±0.00 ^d	11.00±0.02 ^f
	E	6.07±0.02 ^g	7.41±0.03 ^f	9.50±0.00 ^f	9.92±0.00 ^h	11.07±0.00 ^g
	F	5.38±0.00 ^a	6.34±0.01 ^b	8.79±0.00 ^e	9.96±0.00 ⁱ	10.97±0.00 ^e
Maya-Küf	G	6.00±0.00 ^f	6.97±0.00 ^e	7.53±0.00 ^b	8.79±0.00 ^a	9.86±0.00 ^a
	H	5.80±0.00 ^d	6.53±0.01 ^c	6.91±0.00 ^a	8.98±0.01 ^b	9.88±0.00 ^a
	I	6.07±0.02 ^g	6.34±0.01 ^b	7.25±0.33 ^b	9.53±0.02 ^e	10.98±0.00 ^e
	J	5.73±0.00 ^c	6.38±0.00 ^b	8.07±0.02 ^{cd}	9.07±0.00 ^c	10.97±0.00 ^e
	K	5.53±0.01 ^b	6.55±0.02 ^c	8.38±0.00 ^d	10.00±0.00 ⁱ	10.66±0.00 ^b
	T	6.07±0.02 ^g	6.38±0.00 ^b	8.34±0.01 ^d	9.80±0.00 ^f	10.83±0.00 ^d
	A	2.07±0.02 ^b	3.11±0.02 ^e	3.55±0.00 ^c	3.73±0.00 ^a	4.14±0.01 ^{ab}
	B	2.84±0.01 ^d	3.20±0.01 ^d	3.59±0.00 ^c	4.66±0.01 ^e	4.06±0.06 ^a
	C	3.39±0.02 ^f	3.22±0.02 ^d	3.54±0.00 ^b	4.57±0.01 ^d	4.41±0.01 ^c
	D	2.81±0.00 ^d	3.34±0.02 ^{fg}	3.25±0.02 ^a	4.55±0.00 ^d	4.55±0.00 ^d
E	3.06±0.33 ^{def}	2.90±0.00 ^c	3.65±0.00 ^e	5.23±0.01 ^g	5.57±0.01 ^g	
Genel Koliform	F	2.03±0.04 ^b	2.03±0.04 ^a	3.62±0.00 ^d	4.49±0.00 ^c	4.20±0.03 ^b
	G	1.67±0.10 ^a	3.30±0.03 ^f	3.49±0.00 ^b	4.79±0.00 ^f	4.11±0.03 ^a
	H	2.39±0.00 ^c	2.39±0.00 ^b	3.74±0.00 ^f	4.75±0.00 ^f	5.47±0.02 ^f
	I	3.14±0.01 ^{ef}	3.32±0.02 ^{fg}	4.03±0.04 ^h	4.47±0.01 ^c	4.69±0.00 ^e
	J	3.86±0.00 ^g	3.39±0.00 ^g	3.86±0.00 ^g	4.22±0.05 ^b	4.69±0.00 ^e
	K	3.23±0.01 ^f	3.62±0.01 ^h	4.30±0.03 ⁱ	5.20±0.03 ^g	5.69±0.00 ^h
	T	3.27±0.01 ^f	3.34±0.02 ^{fg}	3.88±0.01 ^g	4.47±0.02 ^c	4.65±0.00 ^e
	A	3.46±0.08 ^{ab}	3.49±0.00 ^b	3.70±0.00 ^e	3.74±0.00 ^c	3.76±0.00 ^c
	B	3.54±0.04 ^{bcd}	3.73±0.00 ^e	3.85±0.00 ^f	4.27±0.01 ^e	5.49±0.00 ^f
	C	3.56±0.02 ^{cd}	3.60±0.01 ^c	3.54±0.00 ^b	4.79±0.00 ^f	5.59±0.00 ^{gh}
D	3.43±0.03 ^a	3.49±0.00 ^b	3.59±0.00 ^c	3.50±0.01 ^a	3.47±0.01 ^a	
E	3.61±0.01 ^d	3.79±0.00 ^f	3.61±0.00 ^c	5.47±0.01 ^j	5.38±0.02 ^e	
F	3.50±0.01 ^{abc}	3.69±0.00 ^d	3.41±0.01 ^a	4.76±0.00 ^f	3.59±0.00 ^b	
G	3.61±0.01 ^d	3.34±0.01 ^a	3.67±0.01 ^{de}	5.14±0.03 ⁱ	5.50±0.01 ^{fg}	
H	4.30±0.08 ^f	3.94±0.00 ⁱ	4.56±0.01 ⁱ	4.27±0.01 ^e	3.83±0.00 ^d	
I	3.47±0.02 ^{abc}	3.91±0.00 ^h	3.74±0.00 ^e	4.92±0.01 ^g	5.47±0.03 ^f	
J	3.62±0.01 ^d	3.78±0.00 ^f	4.63±0.01 ^j	4.04±0.00 ^d	5.53±0.01 ^{fg}	
K	3.85±0.00 ^e	3.77±0.00 ^f	3.66±0.01 ^d	3.57±0.01 ^b	5.60±0.02 ^h	
T	3.84±0.04 ^e	3.84±0.01 ^g	4.22±0.02 ^h	5.07±0.00 ^h	5.47±0.04 ^f	

Tablo 5'in devamı

Enterobacteriaceae	A	3.16±0.05 ^{abc}	3.56±0.02 ^d	3.17±0.01 ^a	5.27±0.01 ^{ab}	5.22±0.02 ^a
	B	3.33±0.02 ^{cde}	3.55±0.02 ^d	3.50±0.33 ^{bc}	5.43±0.02 ^{cd}	5.20±0.03 ^a
	C	3.07±0.02 ^{ab}	3.55±0.02 ^d	3.77±0.00 ^{cd}	5.17±0.01 ^a	5.25±0.02 ^a
	D	3.08±0.08 ^{ab}	3.77±0.00 ^f	3.60±0.01 ^{bc}	5.77±0.00 ^e	5.81±0.00 ^d
	E	3.32±0.01 ^{cde}	3.69±0.00 ^e	4.25±0.02 ^{ef}	6.43±0.02 ^g	6.39±0.00 ^h
	F	3.21±0.07 ^{abcd}	3.34±0.01 ^a	3.51±0.00 ^{bc}	5.39±0.05 ^{bc}	6.32±0.01 ^g
	G	3.18±0.04 ^{abcd}	3.46±0.00 ^c	3.46±0.00 ^b	6.51±0.00 ^g	6.17±0.03 ^f
	H	3.20±0.03 ^{abcd}	3.69±0.00 ^e	4.00±0.00 ^{de}	5.53±0.12 ^d	5.88±0.00 ^e
	I	3.00±0.00 ^a	3.39±0.00 ^b	4.50±0.00 ^{fg}	6.53±0.01 ^g	5.94±0.00 ^e
	J	3.23±0.06 ^{bcd}	3.70±0.00 ^e	4.07±0.02 ^e	5.32±0.03 ^{bc}	5.64±0.00 ^c
	K	3.38±0.17 ^{de}	3.56±0.02 ^d	4.14±0.01 ^e	5.39±0.02 ^{bc}	5.46±0.00 ^b
T	3.46±0.01 ^e	3.69±0.00 ^e	4.55±0.02 ^g	6.20±0.03 ^f	6.66±0.02 ⁱ	
Enterococcus	A	2.30±0.02 ^{cd}	2.27±0.01 ^{cd}	2.59±0.00 ^e	2.11±0.03 ^{ab}	2.46±0.00 ^{bcd}
	B	2.40±0.02 ^{de}	2.07±0.02 ^a	2.17±0.01 ^b	2.38±0.00 ^{cde}	2.62±0.01 ^f
	C	2.62±0.00 ^{fg}	2.62±0.00 ^f	2.70±0.00 ^{fg}	2.27±0.01 ^{cd}	2.71±0.01 ^f
	D	2.32±0.01 ^{cde}	2.25±0.02 ^c	2.43±0.02 ^d	2.38±0.02 ^{cde}	2.37±0.04 ^{abc}
	E	2.36±0.01 ^{de}	2.14±0.01 ^b	2.62±0.01 ^{ef}	2.41±0.03 ^{de}	2.32±0.01 ^a
	F	2.41±0.03 ^e	2.53±0.00 ^e	2.63±0.01 ^{efg}	2.43±0.02 ^{de}	2.49±0.06 ^{de}
	G	2.38±0.00 ^{de}	2.22±0.04 ^c	2.46±0.00 ^d	2.60±0.03 ^f	2.51±0.05 ^e
	H	1.76±0.08 ^a	2.04±0.00 ^a	2.07±0.02 ^a	1.99±0.04 ^a	2.43±0.02 ^{bcd}
	I	2.56±0.02 ^f	2.32±0.01 ^d	2.31±0.03 ^c	2.28±0.07 ^{cd}	2.39±0.02 ^{abcd}
	J	2.25±0.02 ^c	2.14±0.01 ^b	2.39±0.04 ^{cd}	2.22±0.04 ^{bc}	2.39±0.00 ^{abcd}
	K	2.70±0.00 ^g	2.51±0.00 ^e	2.71±0.01 ^g	2.48±0.11 ^{ef}	2.36±0.03 ^{ab}
T	2.07±0.02 ^b	2.14±0.03 ^b	2.16±0.05 ^b	2.52±0.02 ^{ef}	2.47±0.01 ^{cde}	
Stafilokok-Mikrokok	A	2.65±0.01 ^b	2.30±0.03 ^b	1.97±0.10 ^a	2.30±0.03 ^a	2.36±0.27 ^a
	B	3.49±0.01 ^f	2.60±0.03 ^{cd}	2.11±0.03 ^{ab}	2.39±0.02 ^b	2.20±0.01 ^a
	C	3.25±0.02 ^e	3.17±0.03 ^e	2.39±0.02 ^c	2.66±0.00 ^d	3.11±0.03 ^b
	D	2.77±0.01 ^c	2.47±0.03 ^c	2.39±0.02 ^c	2.54±0.00 ^c	2.16±0.05 ^a
	E	2.60±0.03 ^b	2.69±0.01 ^d	2.43±0.00 ^c	2.69±0.01 ^d	2.11±0.03 ^a
	F	2.87±0.00 ^d	2.60±0.02 ^{cd}	3.52±0.17 ^e	2.39±0.02 ^b	3.18±0.07 ^b
	G	2.39±0.04 ^a	1.98±0.07 ^a	2.41±0.03 ^c	3.36±0.02 ^f	3.27±0.04 ^b
	H	2.65±0.01 ^b	1.97±0.10 ^a	2.17±0.03 ^b	2.69±0.00 ^d	2.39±0.04 ^a
	I	2.78±0.00 ^c	2.65±0.00 ^d	2.54±0.00 ^{cd}	2.51±0.01 ^c	2.32±0.01 ^a
	J	3.84±0.01 ⁱ	3.60±0.01 ^f	2.47±0.02 ^c	2.64±0.00 ^d	2.17±0.03 ^a
	K	3.39±0.00 ^f	2.65±0.00 ^d	2.46±0.00 ^c	2.75±0.01 ^e	2.22±0.02 ^a
T	3.63±0.03 ^h	2.74±0.00 ^d	2.69±0.01 ^d	2.77±0.00 ^e	2.11±0.03 ^a	
Pseudomonas	A	4.34±0.01 ^b	4.94±0.00 ^c	6.22±0.04 ^a	7.82±0.01 ^b	9.64±0.20 ^c
	B	4.63±0.01 ^{ef}	5.27±0.01 ^d	7.23±0.01 ^{ef}	8.36±0.02 ^{ef}	9.97±0.00 ^d
	C	4.54±0.03 ^d	6.30±0.02 ^g	7.22±0.02 ^{ef}	8.29±0.05 ^{de}	9.43±0.00 ^{ab}
	D	4.41±0.02 ^{bc}	4.75±0.01 ^b	7.25±0.01 ^f	7.66±0.02 ^a	9.36±0.01 ^a
	E	4.25±0.02 ^a	5.76±0.01 ^f	7.17±0.03 ^e	8.23±0.01 ^d	9.83±0.00 ^d
	F	4.95±0.00 ^h	4.81±0.00 ^b	6.74±0.01 ^c	8.25±0.01 ^d	9.36±0.03 ^a
	G	4.34±0.02 ^b	5.25±0.04 ^d	6.81±0.01 ^d	7.94±0.00 ^c	9.59±0.01 ^{bc}
	H	4.61±0.00 ^e	5.59±0.00 ^e	6.68±0.00 ^c	8.47±0.03 ^g	9.44±0.01 ^{ab}
	I	4.79±0.01 ^g	4.59±0.02 ^a	6.70±0.00 ^c	7.66±0.02 ^a	9.25±0.02 ^a
	J	4.69±0.01 ^f	5.26±0.04 ^d	6.60±0.02 ^b	8.22±0.04 ^d	9.43±0.05 ^{ab}
	K	4.47±0.34 ^{cd}	5.32±0.02 ^d	6.59±0.00 ^b	8.41±0.03 ^{fg}	9.86±0.00 ^d
T	4.25±0.28 ^a	5.27±0.02 ^d	6.60±0.03 ^b	7.81±0.01 ^b	9.89±0.00 ^d	
Brochoatrix	A	2.68±0.00 ^b	3.79±0.00 ^c	5.07±0.02 ^{ab}	7.72±0.01 ^g	7.88±0.01 ^{fg}
	B	2.74±0.01 ^b	3.32±0.01 ^a	5.69±0.03 ^b	7.00±0.00 ^d	7.55±0.02 ^b
	C	3.72±0.03 ^f	4.56±0.02 ^e	5.69±0.02 ^b	7.86±0.00 ^h	8.46±0.00 ⁱ
	D	3.34±0.02 ^d	4.62±0.01 ^f	4.34±0.00 ^a	7.67±0.01 ^{fg}	7.82±0.01 ^e
	E	4.25±0.02 ^g	4.68±0.00 ^g	5.60±0.03 ^b	7.41±0.03 ^e	7.97±0.00 ^h
	F	2.73±0.00 ^b	4.63±0.01 ^f	5.60±0.01 ^b	7.72±0.01 ^g	7.04±0.00 ^a
	G	2.07±0.02 ^a	4.81±0.01 ⁱ	5.66±0.02 ^b	7.65±0.00 ^{fg}	7.91±0.00 ^h
	H	3.59±0.04 ^e	3.69±0.02 ^b	5.30±0.03 ^b	6.47±0.02 ^b	7.90±0.02 ^{fg}
	I	3.54±0.01 ^e	4.93±0.00 ⁱ	5.63±0.01 ^b	6.99±0.04 ^d	7.65±0.01 ^c
	J	2.70±0.01 ^b	4.74±0.01 ^h	5.60±0.02 ^b	6.39±0.00 ^a	7.86±0.01 ^f
	K	3.17±0.01 ^c	4.36±0.02 ^d	5.90±0.01 ^b	6.74±0.00 ^c	7.77±0.00 ^d
T	3.11±0.02 ^c	4.77±0.01 ^h	5.43±0.02 ^b	7.69±0.01 ^{fg}	7.97±0.00 ^h	

A: % 10 Biberiye + % 10 Karanfil, B: % 15 Biberiye + %5 Karanfil, C: %5 Biberiye + %3 Karanfil, D: %5 Biberiye + %10 Karanfil, E: % 10 Biberiye, F: % 10 Karanfil, G:%15 Biberiye H: % 5 Karanfil, I: % 5 Biberiye J % 3 Karanfil, K (Kontrol), T(Kontrol) (a,b,c,....: Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)).

Duyusal Analiz Bulguları

Çalışmada kullanılan uçucu yağlar her hangi bir renk değişikliğine neden olmadığı için panelistlerin çığ tavuk etlerinde derideki renk değişikliklerini ve deri kaldırıldıktan sonra kastaki renk değişikliklerini belirlemeleri güç olmadı. Deride ve deri kaldırıldıktan sonra kaslarda ilk üç gün renk değişikliği görülmezken 4. günde bozulmaya bağlı renk değişiklikleri görüldü. En belirgin renk değişikliği A, F, K, T gruplarında oldu. Muhafaza periyodunun ilk günlerinde yoğun olan EO kokusu ilerleyen günlerde bozulmaya paralel olarak azalma gösterdi. Örneklerin bozulması sonucu ortaya çıkan koku kontrol guruplarında daha yoğun hissedilmesine karşın yüksek oranda EO içeren gruplarda bozulma kokusu baskılandığı için bu gruplar bozulma belirtisi göstermesine rağmen kokunun algılanması zor oldu. Deneme gruplarında kaynatma-kızartma deneylerinde sadece biberiye yağı içeren deneme gruplarının tencere kapağı açıldığında biberiye kokusunun çığ tavuk etinde hissedilen kokudan daha belirgin olduğu bildirildi. Ağızdaki karanfil aroması biberiye aromasına göre daha kabul edilebilir olarak değerlendirildi.

Kokuşma Testleri

Örneklerdeki kokuşma belirtilerine ait bulgular Tablo. 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Eber Deneyine Ait Bulgular

Table. 6. The Result of Eber Test

Grup	Günler							
	0	1	2	3	4	5	6	7
A	-	-	-	-	-	+	+	+
B	-	-	-	-	-	-	+	+
C	-	-	-	-	+	+	+	+
D	-	-	-	+	+	+	+	+
E	-	-	-	-	+	+	+	+
F	-	-	-	-	+	+	+	+
G	-	-	-	-	-	-	+	+
H	-	-	-	-	-	+	+	+
I	-	-	-	-	-	-	-	+
J	-	-	-	-	-	-	-	+
K	-	-	-	-	-	-	-	+
T	-	-	-	-	+	+	+	+

+: Kokuşma var -: Kokuşma yok

Antioksidan Etkinlik

Malondialdehit (MDA) Analizi

Biberiye yağı, karanfil yağı ve bunların kombinasyonlarının antioksidan etkilerinin değerlendirildiği bu çalışmada deneme grupları arasında etkinlik açısından ayırıcı bir özellik tespit edilemedi.

Analizin 0. gününde B ve E gruplarının oksidatif stabilitesinin (0.004 mg MDA/kg) aynı olduğu görülmesine rağmen ilerleyen günlerde bu benzerliğin ortadan kalktığı görüldü. Aynı şekilde 0. günde aynı oksidatif stabiliteyi gösteren C ve H grupları (0.006 mg MDA/kg), D, F, T grupları (0.003 mg MDA/kg) ve I, J, K grupları (0.002 mg MDA/kg) gruplar arasındaki benzerlikte ortadan kalktı. Analizin 3. gününde en yüksek oksidatif stabiliteyi gösteren B grubu çalışmanın ilerleyen günlerinde bu farkı kapattı ve diğer deneme grupları gibi düşük oksidatif stabilite ile çalışmayı tamamladı. Analiz günleri boyunca

deneme grupları arasında çok büyük fark görülmemiş ve istatistiksel olarak da gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Gıda sanayinde ve halk sağlığında büyük sorunlara yol açan patojenik ve bozulma yapan bakterilere karşı, birçok bitki ve baharat ile minimum etkili olabilecek inhibisyon konsantrasyonunu belirlemek üzere birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde *S. aureus* ATTC 25923, *E. cloacae*, *S. Paratyphi*, *K. pneumoniae*, *E. coli* ATTC 35218, *E. coli*, *Citrobacter* spp. ve *C. albicans* için karanfil yağının minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) sırasıyla 2.4, 1.6, 0.27, 0.016, 0.23, 1.63, 0.73, 0.067 mg/ml olarak belirlenmiştir (Ayoola ve ark. 2008). Karanfil yağının broth dilüsyon metodu ile çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkili minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC) belirlendiği bir çalışmada *P. aeruginosa* ve *S. aureus* için MIC değeri 24 mg/ml olarak belirlenirken *E. coli* için 18 mg/ml olarak belirlenmiştir (Ali ve ark. 2009). Biberiye yağının minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC) belirlendiği bir çalışmada biberiye yağının Gram pozitif bakteriler üzerine etkisi Gram negatif bakterilere göre daha düşük bulunmuştur. MIC değerleri *E. coli* ve *P. aeruginosa* için 0-60. dk, 60-120. dk ve 120-240. dakikada 1 mg/ml olarak bulunmuştur. *S. aureus* için ise ilk 1 saatte MIC değeri 0.5 mg/ml olarak belirlenirken, 60-120. dk ve 120-240. dakikada 0.25 mg/ml olarak belirlenmiştir. *B. cereus* için ilk saat MIC değeri 0.062 iken 60-120. dk ve 120-240. dakikada 0.125 mg/ml olmuştur (Genena ve ark. 2008). Bu çalışmada ise *E. coli* için ilk 30. dakika da MIC değeri %3 (v/v) iken 24. saat sonunda %1.5 (v/v) olarak belirlendi, *P. aeruginosa* için ise ilk 30. dk. ve 24. saatte %35 (v/v) biberiye yağı konsantrasyonu etkisiz oldu. *S. aureus* için ilk 30 dakikada %40 (v/v) konsantrasyon etkisiz olurken %10(v/v) konsantrasyon 24. saat için MIC değeri olarak belirlendi. Benzer şekilde *Lb. casei*, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides*, *S. dysenteriae*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *B. thermosphacta*, *M. luteus*, *Y. enterocolitica* O3 bakterilerinin birçoğunda biberiye yağı 24. saat sonunda daha etkili oldu (P<0.05).

Biberiye ve karanfil yağlarının tek başına ve birlikte kullanılarak antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bazı bakteriler üzerine etkili minimal inhibisyon konsantrasyonu belirlenmiş ve karanfil yağı için MIC değerlerinin %0.062 - %0.500 (v/v) arasında olduğu, biberiye yağının MIC değerlerinin ise %0.125 - %1000 (v/v) arasında olduğu ve çalışmanın sonunda biberiye yağının antimikrobiyel etkinliğinin karanfil yağına göre daha az olduğu tespit edilmiştir (Wada ve Fang 1992). Bahsi geçen çalışmalara paralel olarak bu çalışmada da karanfil yağının antimikrobiyel etkinliğinin biberiye yağına oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (P<0.05).

Birçok araştırmacı çeşitli bitki ve bunlara ait uçucu yağların gıdalarda antimikrobiyel ajan olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (Burt 2004; Qussallah ve ark. 2004; Nassar ve ark. 2007). Vatansver ve ark. (2008) kekiğin %10'luk buhar distilatını tavuk butlarına 10 dakika süreyle yüzey yıkaması şeklinde uyguladıkları çalışmada kekik gruplarında raf ömrünü 7 gün olarak ifade etmektedirler. Chouliara ve ark. (2007) tarafından yapılan ve tavuk göğüslerinin %1 kekik uçucu yağı ile muamele edilip 4 °C'de muhafaza edildiği çalışmada, muhafazanın 3 ve 6. günlerinde LAB ve *Enterobacteriaceae* tamamen inhibe olurken *Pseudomonas* sayısında 3. günde 3, 6. günde

4 log kob/g indirgeme olduğu belirtilmektedir. Oral ve ark. (2009) sıvı emici pede püskürtülen %1.5 konsantrasyonundaki kekik uçucu yağının (*Origanum onites*) aerobik paketlenen ve buzdolabı koşullarında (4°C) saklanan broiler butlarının raf ömrünü 2 gün uzattığını ifade etmektedirler. Bitkisel yağlar mikroorganizmalar üzerine tek başına etkili olabildikleri gibi birlikte kullanıldıklarında da sinerjik ve antagonist etki gösterebilmektedirler (Evren ve Tekgüler 2011). Bu çalışmada da toplam psikrotrof bakteri ve toplam mezofil bakteri sayıları üzerine %15 Biberiye yağı ve %5 Karanfil yağı karışımının birlikte kullanıldığı B grubunun, daha düşük konsantrasyondaki kombine C grubuna göre daha az etkili olduğu, aynı şekilde biberiye yağının tek başına kullanıldığı G grubu ve karanfil yağının tek başına kullanıldığı H gruplarının B grubundan daha etkili olduğu görüldü (P<0.05). Diğer bakteriler üzerine de EO yağ gruplarının etkileri farklı şekilde oldu. Qussalah ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada %1 kekik, %1 biberiye ve %1 kekik biberiye ilaveli PPİ filmleri etler üzerine uygulamış ve etteki *Pseudomonas* ve *E. coli* gelişimi ile antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda et örneklerinde uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinden dolayı *E. coli* O157:H7 ve *Pseudomonas* gelişimi önemli derecede azalmış ve et örneklerinin yağ oksidasyonu üzerinde de geciktirici etkisi olduğu bildirilmiştir. Biberiye ve karanfilin yukarıda görüldüğü gibi bazı çalışmalarda kombine edildikleri maddelerle sinerjik etkilerinin olduğu görüldü de bu yüksek oranda kullanıldıklarında geçerlidir. Gerek yüksek konsantrasyonla oluşturulan kombine gruplar olsun gerekse biberiye ve karanfilin tek başına kullanıldığı gruplar olsun tavuk butları üzerine antibakteriyel bir etki sağlasa da raf ömrünü uzatmakta yetersiz kalmaktadır. Yapılan bir çalışmada in-vitro koşullarda bakteriler üzerine 0.05-5 µl ml-1 oranındaki bitkisel ekstrakt etkili olabilirken gıda ortamında daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyulduğunu belirtmektedir (Burt 2004). Bu çalışmada da in-vitro koşullarda düşük konsantrasyonlarda bitkisel yağ etkili olurken, gıda ortamında aynı etki sağlanamadı. Bu durum tamamen inhibe edici etki sağlamak için çok yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç olduğunu düşündürse de yüksek oranda esansiyel yağ içeren grupların kokusu panalistler tarafından tüketilemez nitelikte bulundu. Ayrıca antimikrobiyal etki testlerinde sonuçları etkileyen birçok faktör olması nedeniyle gıda ortamında yapılan çalışmalar ile tüp içerisinde belirli besiyeri kullanılarak laboratuvar şartlarında yapılan araştırmalar arasında da büyük farklılıklar olabilmektedir. Gıda ortamında antimikrobiyal maddenin etkisini sınırlayan etmenleri kontrol etmek oldukça zordur. Laboratuvar ortamında ise kullanılan besiyerlerinin bileşimi ve pH değerleri, inkübasyon ısıları, inoküle edilen miktar, seçilecek patojen gibi ortam şartları çok daha kolay kontrol edilebilmektedir. Daha doğru sonuçlar elde etmek için yapılacak denemelerde mutlaka tüm etkenlerin belirlenip kontrol altına alınması gerekmektedir (Davidson ve Naidu 2000).

Bu çalışmada olduğu gibi sentetik özellik taşıyan antioksidanların yerine gıdalarda bozulmayı engellemek amacıyla kendilerine özgü lezzet ve aromaları olan ve geniş bioaktivite profiline sahip olan bitki ve baharatlar gıda sektöründe alternatif olarak kullanılabilir doğal antioksidan maddeler olarak değerlendirilmektedir (Pope ve Cherry 2000).

Antimikrobiyal ve antioksidan aktivite çalışmalarında genel olarak sonuçların birbiriyle karşılaştırılması ve tam

bir uyumun elde edilmesi oldukça zordur. Bunun en önemli nedeni antimikrobiyal aktivitenin artırılmasında kullanılan tekniklerin tam bir standardizasyona oturtulmayıp araştırmacıdan araştırmacıya değişmesi olabilir. Bir başka neden de kullanılan uçucu yağların, aynı tür bitkilerden elde edilmiş olmasına rağmen, genotipik özelliklerinin, yetiştikleri coğrafi bölgelerin, bu bölgelere ait iklimsel özelliklerin ve toplanma tarihlerinin farklı olmasıdır. Bunun yanında uçucu yağın farklı yöntemlerle elde edilmesi, bitkinin kuru ya da yaş olması, uçucu yağın eldesinde bitkinin hangi kısmının kullanıldığı ve bu kısmın dövülmüş ya da dövülmemiş olması bile uçucu yağ kompozisyonunda değişikliklere neden olabilmektedir. (Hammer ve ark. 1999; Hraš ve ark. 2000).

Bu çalışmada da in-vitro koşullarda özellikle karanfil bitkisi bakteriler üzerine düşük dozlarda dahi etkili olurken gıda ortamında aynı etki sağlanamamıştır. Yapılan MIC çalışmasında karanfil yağı biberiye yağına göre daha etkili bulunmuş ve her iki yağında 24. saatin sonunda ilk yarım saate göre daha etkili oldukları görülmüştür. Tavuk butlarının raf ömrünü uzatma çalışmalarında ise muhafaza süresi boyunca bakteri sayılarında azalma olmuş fakat raf ömrünü uzatmada hiçbir grup etkili olamamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Kafkas Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2010-VF-48 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adams RP (2004). Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured, Carol Stream, IL, USA.
- Ali HS, Kamal M, Mohamed SB (2009). In vitro clove oil activity against periodontopathic bacteria. *J Sc Tech*, 10 (1), 1-7.
- Anonim (2010). Food Microbiological Examination: Enumeration of Yeasts and Molds. National Food Safety Standard of P. R. China, 4789. 15, 1-7.
- Anonim (2014). Identification of *Staphylococcus* species, *Micrococcus* species and *Rothia* species. UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England, 3, 1-32.
- Anonim (2015). Identification of *Shigella* species. UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England, 3, 1-22.
- Ayoola GA, Lawore FM, Adelowotan T, Aibinu IE, Adenipekun E, Coker HAB, Odugbemi TO (2008). Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzgium aromaticum* (clove). *Afr J Microbiol Res*, 2, 162-166.
- Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J Agric Food Chem*, 55 (19), 7879-7885.
- Burkwal MK, PA Hartman (1964). Comparison of direct plating media for the isolation and enumeration of enterococci in certain frozen foods. *App Microbiol*, 12,18-23.
- Burt S (2004). Essential Oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-review. *Int J Food Microbiol*, 94, 223-253.
- Chouliara E, Karatapanis A, Savvaidis IN, Kontominas MG (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging 127 on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiol*, 24(6), 607-617.
- Cutter CN (2000). Antimicrobial effect of herb extracts against *Eshericia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *J Food Protect*, 63 (5), 601-607.
- Çiftçiöğlu G (2015). Kanatlı Etlere Hijyeni ve Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Ders Notu. 1-13.
- Davidson PM, Naidu ES (2000). Phyto-Antimicrobials in *Natural Food Antimicrobial Systems*, Eds. Naidu A. S.: CRC Press, (<http://www.foodnetbase.com/ejournals/books>), erişim tarihi: 13. 03. 2012.
- Dincer HA, Baysal T (2004). Decontamination techniques of pathogen bacteria in meat and poultry. *Crit Rew Microbiol*, 30, 197-204.

- Ertürk Ö (2006).** Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia, Bratislava*, 61 (3), 275-278.
- Evren M, Tekgüler B (2011).** Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9 (3), 28-40.
- Genena AK, Hense H, Smânia-Junior A, Souza SM (2008).** Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciênc Tecnol Aliment*, 28 (2), 463-469.
- Götz F, Bannerman T, Schleifer KH (2006).** The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. *Prokaryotes*, 4, 5-75.
- Halkman K (2005).** *Yersinia enterocolitica*. Merk Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları Ankara, ISBN: 975-00373-0-8, 209-211.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*, 86, 985-990.
- Harrigan WF (1998).** Laboratory Methods in Food Microbiology. Third Ed., Academic Press. California, USA.
- Holley RA, Patel D (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol*, 22, 273-292.
- Hraš AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D (2000).** Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem*, 71, 229-233.
- Lean LP, Suhaila M (1999).** Antioxidative and antimycotic effect of turmeric, lemon-grass, betel leaves, clove, black pepper leaves and garcinia a triviridis on butter cakes. *J Sci Food Agr*, 79 (13), 1817-1822.
- Lightfoot NF, Maier EA (1998).** Microbiological analysis of food and water: guidelines for quality assurance. Elsevier Science B.V., Amsterdam. (ISBN: 0-444-82911-3).
- Lim J (2011).** Hedonic scaling: A review of methods and theory. *Food Quality and Preference*, 22, 733-747.
- Mulder RWAW, Schlundt J (1999).** Safety of Poultry Meat: From farm to table. 1- 29. In: Mollins RA, and Corry J Eds. ICGFI Report (International Consultative Group on Food Irradiation), United Kingdom.
- Nassar MI, Gaara AH, El-Ghorab AH, Farrag AH, Shen H, Huq E, Mabry TJ (2007).** Chemical constituents of clove (*Syzygium aromaticum*, Fam. Myrtaceae) and their antioxidant activity. *Rev Latinoamer Quím*, 35 (3), 47-57.
- Nostro A, Bisignano G, Cannatelli MA, Crisafi G, Germano MP, Alonzo V (2001).** Effects of *Helichrysum italicum* extract on growth and enzymatic activity of *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Ag*, 17, 517- 520.
- Oral N, Vatanserver L, Sezer C, Aydın B, Guven A, Gulmez M, Baser KHC, Kurkcuoğlu M (2009).** Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees celsius. *Poultry Sci*, 85, 1466- 1471.
- Qussallah M, Caillet S, Salmieri S, Saucier L, Lacroix M (2004).** Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J Agr Food Chem*, 52, 5598-5605.
- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 18 (5), 414- 420.
- Pope MJ, Cherry TE (2000).** An evaluation of the presence of pathogens on broilers raised on poultry litter treatment-treated litter. *Poultry Sci*, 79, 1351-1355.
- Vatanserver L, Gulmez M, Oral N, Guven M, Otlı S (2008).** Effects of sumac (*Rhus coriaria L*), oregano (*Oreganum vulgare L.*) and lactic acid on microbiological decontamination and shelf-life of raw broiler drumsticks. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 14 (2), 211-216.
- Vural N (1992).** Besin Analizleri. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Yayın no: 69, Ankara.
- Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M (1979).** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 372- 376.
- Wada S, Fang X (1992).** The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and α -tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat. *J Food Process Pres*, 16, 263-274.
- Wichtl M (1971).** Die Pharmakognostische Analyse. Band 2, Frankfurt/M