

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI**

DANIŞMAN

Doç. Dr. KAMİL BOSTAN

**T.C. YÖKSEKÖĞRETİM MURSU LU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**SODYUM LAKTATIN HAZIR KÖFTELERİN
MİKROBİYOLOJİK KALİTE VE
RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ**

T 99251

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim BAYRAM ÇETİN

İSTANBUL - 2000

99251

TEŞEKKÜR

Öncelikle gerek tez çalışmalarında, gerekse diğer bilimsel faaliyetlerimizde yardımlarını gördüğüm bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Muammer Uğur'a ve bölüm öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Özer Ergün ile Prof. Dr. Bülent Nazlı'ya teşekkürlerimi sunmak isterim.

Çalışmalarım sırasında bana her konuda desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Kamil Bostan'a teşekkürü bir borç bilirim.

Özellikle tezimin yürütme aşamasında yardım ve desteklerini gördüğüm bölümümüzde görevli öğretim üyesi sayın Yard. Doç. Dr. Harun Aksu, Araştırma Görevlisi Dr. Özge Özgen, Uz. Hilal Çolak ile diğer bölümümüz görevlilerine de teşekkür ederim.

Yine tezimin yürütme safhasında özellikle deneysel çalışmalarındaki yardımlarından dolayı bütün stajyer öğrenci ve mesai arkadaşlarıma şükranlarımı ayrıca belirtmek isterim.

İyi ve kötü günlerimi paylaştığım ve tezimin yazımında büyük emeği olan sevgili eşim Sibel Çetin'e de sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Bu araştırma 503/180398 sayılı proje ile T.C. İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnegöl Köfte Üretimi ve Özellikleri.....	3
2.2. Hazır Köftelerin Mikrobiyolojik Karakterleri.....	5
2.3. Gıdalara Koruyucu Madde Uygulamaları.....	10
2.4. Koruyucu Madde Olarak Laktik Asit ve Laktatların Kullanımı.....	14
2.4.1. Laktik Asitin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri.....	14
2.4.2. L (+) Laktik Asitin Antimikrobiyel Etkisi.....	18
2.4.3. Sodyum Laktatın Antimikrobiyel Etkisi.....	21
2.4.4. Et Ürünlerinde Sodyum ve Potasyum Laktat Kullanımı.....	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. GEREÇ.....	35
3.1.1. Köfte Örnekleri.....	35
3.1.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Çözeltiler.....	35
3.1.3. Kullanılan Alet ve Gereçler.....	36
3.2. YÖNTEM.....	36
3.2.1. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Hazırlanması.....	36
3.2.2. İnegöl Köfte Örneklerinin Laboratuar Analizleri.....	37
3.2.2.1. Mikrobiyolojik Analizler.....	37
3.2.2.1.1. Toplam Aerob Mezofil Mikroorganizma Sayımı.....	37
3.2.2.1.2. Psikrofil Bakteri Sayımı.....	38
3.2.2.1.3. <i>Pseudomonas</i> spp. Sayımı.....	38

3.2.2.1.4. Koliform Bakteri Sayımı.....	38
3.2.2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı.....	38
3.2.2.1.6. <i>Clostridium perfringens</i> Sayımı.....	38
3.2.2.1.7. Küf - Maya Sayımı.....	39
3.2.2.2. Su Aktivitesi Tayini.....	39
3.2.2.3. Amonyak Tayini.....	40
3.2.2.4. Duyusal Analizler.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Duyusal Değişimler.....	42
4.2. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Toplam Aerob Mezofil Mikroorganizma Sayısındaki Değişimler.....	43
4.3. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Psikrofil Bakteri Sayısındaki Değişimler.....	45
4.4. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında <i>Pseudomonas</i> Cinsi Bakteri Sayısındaki Değişimler.....	47
4.5. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Koliform Bakteri Sayısındaki Değişimler.....	49
4.6. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında <i>S.aureus</i> Sayısındaki Değişimler.....	51
4.7. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında <i>C.perfringens</i> Sayısındaki Değişimler.....	53
4.8. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Küf-Maya Sayısındaki Değişimler.....	55
4.9. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinde Su Aktivitesi Değerleri.....	57
4.10.Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinde Amonyak Miktarları.....	58
5. TARTIŞMA.....	60
6. ÖZET.....	67
7. YABANCI DİLDE ÖZET.....	68
8. KAYNAKLAR.....	69

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Beslenme yaşamın temel koşuludur. Yaşantımızın sağlıklı ve düzenli bir şekilde devam etmesi için günlük diyetimizde bulunduracağımız gıdaların, besleyici unsurları dengeli oranlarda içerecek nitelikte olması zorunludur (91). Et, içermiş olduğu biyolojik değeri yüksek proteinler nedeniyle, insan beslenmesinde vazgeçilmez bir yere sahiptir. Özellikle vücut tarafından sentezlenemeyen eksojen aminoasitleri bol miktarda içermesi, Fe ve Zn gibi mineral maddeler ile vitamin B₁₂ gibi vitaminler yönünden zengin olması açısından, et insan beslenmesinde önemli yere sahiptir (47, 80).

Etin, et ürünlerine işlenmesi de insanlık tarihi kadar eskidir. İlk insanlar avladıkları hayvanların etlerini, o günün ilkel teknikleri ile işlemişlerdir. Daha sonraları teknolojinin gelişmesi ile birlikte etin, et ürünlerine işlenmesi kolaylaşmış ve çeşit sayısı artmıştır (73). Bu teknolojik gelişmeler aynı zamanda insanların yaşam tarzının değişmesine yol açmış, hatta bu değişiklikler yeme-içme alışkanlıklarına bile yansımıştır. Günümüzde bir çok gıda maddesi, pişirilmiş veya pişirilmeye hazır ürün halinde tüketiciye sunulmaktadır (52). Günlük kullanımda kıyma oldukça yüksek miktarlarda tercih edilmekle beraber, günümüzde kıymadan yapılan et ürünlerinin tüketimi büyük oranda artmıştır (50, 73, 74). Hazır köfteler de bunlardan birisidir. Soğutulmuş olarak veya dondurularak piyasaya verilmektedirler. Bu uygulama tüketiciler için büyük bir kolaylık sağlamakla birlikte, bazı sorunları da beraberinde getirmektedir.

Bunlardan ilki, yurt dışında ve ülkemizde yapılan araştırmaların da gösterdiği gibi hammaddeden ve üretim sırasında diğer kaynaklardan bulaşan, halk sağlığını tehdit eden, patojen mikroorganizmalardır. *Salmonella* spp., *Esheria coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus* köfte ve benzeri et preparatlarında bulunması muhtemel olan ve insanlarda gıda zehirlenmesine neden olabilen başlıca mikroorganizmalardır (2, 50, 74, 77). Ayrıca köftelerin pişirilmesinde uygulanan yetersiz ısı işlem, zehirlenme riskini arttırmaktadır. Diğer önemli bir sorun ise, çiğ olarak satışa sunulan ürünlerde, *Pseudomonas* spp. gibi psikrofil özelliğe sahip

mikroorganizmaların üreyerek kısa sürede bozulmaya neden olmaları, dolayısıyla raf ömrünü kısaltmalarındır. Bu da ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Gıda maddesinin bileşim ve niteliklerindeki istenmeyen değişim sonucu olan bozulmanın önlenmesi ve raf ömrünün uzatılabilmesi için, gıda koruma ve işleme yöntemleri geliştirilmiştir. Genellikle gıdalarda mikrobiyolojik ve enzimatik değişimleri önlemek veya sınırlandırmak için çeşitli gıda işleme yöntemleri uygulanmaktadır. Gıdaların bozulmalarını önlemek, dayanma sürelerini uzatmak, kalitelerini arttırmak ve sağlık açısından risk oluşturma olasılığını en aza indirmek açısından gıda korumada, işleme teknolojileri en önemli unsurlardır (78).

Diğer gıda maddelerinde olduğu gibi, hazır köfte üretiminde de mikrobiyel kalitenin iyileştirilmesi için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Güvenilirlik, uygulama kolaylığı ve maliyet bu yöntemlerin pratiğe aktarılmasında dikkat edilen başlıca hususlardır. Laktik asit ve tuzu olan laktatlar, ette ve birçok fermente gıdada doğal olarak bulunmaları, yüksek etkime gücüne sahip olmaları, tüketiciler için sağlık riski oluşturmamaları, ürünün duysal niteliklerini değiştirmemeleri gibi özellikleri nedeniyle ürünlerin mikrobiyolojik güvenilirliğini arttırmak amacı ile katkı maddesi olarak önerilmektedir (52, 86).

Bu çalışma, ülkemizde sevilerek tüketilen ve pişirmeye hazır olarak piyasaya sunulan İnegöl köfte örneklerine, belirli oranlarda ilave edilecek sodyum laktatın, mikrobiyolojik kalite ve raf ömrüne etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnegöl Köfte Üretimi ve Özellikleri

Yemek kültürümüzün yüzyılların birikimi ile oldukça gelişmiş olması, her yöremizin kendine özgü yemeği ile karşılaşmamızı sağlamaktadır. Bir et ürünü olan İnegöl köfte de, Bursa yöresine özgü çok sevilen bir yiyecek olup, bütün ülke genelinde sevilerek tüketilmektedir. Yine Tekirdağ köfte, Sultanahmet köfte gibi yöresel köfte çeşitleri ve hamburger köfte de yaygın tüketim kapasitesine sahip olan köfte çeşitleridir (73, 90).

İnegöl köfte, kasaplık hayvan gövde etlerinin kemik, tendo, fasia, kıkırdak, lenf yumrusu, sinir ve gerektiğinde yağları ayıklandıktan sonra iç yağ, yemeklik tuz ilave edilip çekilmesi, istendiğinde lezzet ve çeşni verici maddelerden biri veya birkaçı ile gerekli katkı maddeleri katıldıktan sonra tekrar çekilmesi ve homojen hale gelinceye kadar karıştırıldıktan sonra üçüncü kez çekilmesi ile elde edilen köfte hamuruna kalıplarla şekil verildikten sonra soğutmak veya dondurmak suretiyle hazırlanan bir et ürünüdür (5).

İnegöl köfte yapımında kullanılacak etin %71 dana eti ile %12 kuzu eti olması ve dana etinin de gövdenin 1/3 but, 1/3 kol ve 1/3 kaburga kısımlarından oluşması tavsiye edilmektedir. Ayrıca %1 tuz, %0.6 sodyum bikarbonat, %6.2 ekmeke, %8.5 soğan ve karıştırma işlemini kolaylaştırmak amacıyla %0.7 su ilave edilebileceği belirtilmektedir (73). Aynı zamanda köfte harcına kırmızı biber, karabiber, kimyon, yeni bahar ve benzeri baharatlar, sarımsak, pastörize süt, süt tozu, galeta unu ve kuru soğan gibi lezzet ve çeşni verici maddeler; sirke, sitrik asit ve sodyum hidrojen karbonat gibi katkı maddelerinin ilave edilebileceği belirtilmektedir (5).

Köfteler homojen yapıda, en çok 2 cm kalınlıkta, aynı şekil ve büyüklükte, bütün halde olmalıdır. Birbirine ve ambalaj yüzeyine yapışmamalı, dondurulmuş olanların yüzeyinde buz kristalleri oluşmamalıdır. Rengi etin doğal pembe renginden kahve rengine kadar değişen tonlarda olmalı, kararmış olmamalıdır. Kendine has tat ve

kokuda olmalı, kokuşmuş olmamalıdır. Pişirilmiş İnegöl köftelerin kıvamı elastiki yapıda olmalıdır (5).

Soyutemiz (73)'in bildirdiği çiğ ve pişmiş İnegöl köftelerin kimyasal bileşimi ile ilgili kriterler Tablo 1'de belirtilmiştir.

Tablo 1: İnegöl köftenin kimyasal bileşimi (73).

İnegöl Köfte	Rutubet(%)	Protein(%)	Yağ(%)	Kül(%)	Tuz(%)
Çiğ	60.92	14.94	9.4	3.01	1.45
Pişmiş	58.73	16.94	13.25	3.8	1.72

Tabloda da görüldüğü gibi İnegöl köfte protein yönünden zengin bir gıda maddesidir. Proteinin besleyici değeri, içerdiği eksojen aminoasitlerin türü, miktarı ve bu miktarın birbirine olan dengeli oranına bağlıdır (30, 91). İnegöl köfte içerdiği %71 dana ile %12 kuzu eti karışımı (73) ve soya proteini, kazein ve soğan gibi unsurları içermesi nedeniyle daha fazla besleyici değer ve iştah açma özelliğine sahiptir. İnegöl köftenin, 10°C' de ortalama 7.47 gibi nötre yakın bir pH'a sahip olduğu bildirilmiştir (75).

Türk Standartları Enstitüsü'nün hazırladığı TS 10581 İnegöl Köfte Standardı'na (5) göre; köftelerde en çok %65 rutubet, en çok %2 tuz, %25 yağ ve %0.4-1 sarımsak olabileceği belirtilmektedir.

Yöresel köfte çeşitlerimizden olan Tekirdağ köfte hazırlanmasında da genel olarak %84 dana eti, %8.3 ekmek, %3 soğan, %1.4 tuz, %1.2 yumurta, %0.7 sodyum bikarbonat, %1 kimyon, %0.3 karabiber, %0.1 sarımsak kullanılmaktadır. Tekirdağ köftenin kimyasal bileşimi ise yaklaşık olarak %56.66 rutubet, %16.86 protein, %16.86 yağ, %2.7 kül, %2.21 tuzdan oluşmaktadır (90).

Çiğ hamburger köfte örneklerinin kimyasal bileşimi ise ortalama %53.45 rutubet, %14.67 protein, %17.38 yağ, %2.37 kül ve %2.29 tuz olarak bildirilmiştir. Ayrıca bunların ortalama 6.20 pH'ya sahip olduğu açıklanmıştır (46).

2.2. Hazır Köftelerin Mikrobiyolojik Karakterleri

Köftelerin mikrobiyolojik kalitesi, köfte üretiminde kullanılan ham ve yardımcı maddelerin mikrobiyolojik kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Köftelerin hammaddesi olan çiğ kıyma, mikroorganizmaların hızla gelişip çoğalması için fevkalade uygun bir ortamdır. Normal olarak et yüzeyinde bulunan bakteriler, kıyma yapımı esnasında parçalama ve karıştırma işlemleri ile tüm ürüne yayılmaktadır. Et yüzeyi ne kadar büyük olursa, bakteri sayısı da o oranda fazla olmaktadır. En büyük yüzeye kıyma sahip olduğundan, en fazla bakteri de kıymada bulunmaktadır. Bir kasta, bakterilerin bulaşmasına karşı bir bariyer gibi görev yapan bağ dokusu, kıyma haline gelmiş ette parçalanmış olduğundan, et korumasız kalmaktadır (47, 91).

Etlerde sık rastlanan başlıca mikroorganizmaların *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Acitenobacter*, *Staphylococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, koliform bakteriler, *Salmonella* ve küf - mayalar olduğu belirtilmektedir (47,91).

Çeşitli ülkelerde sığır kıymasının mikrobiyolojik kalitesi üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Goepfert (35) 955 sığır kıyması üzerinde yaptığı araştırmada; örneklerin %39'unda 5.0×10^6 /g.'dan daha fazla genel mikroorganizma, %51'inde ise 1.0×10^2 /g. koliform bakteri saptamıştır.

Westraff ve Feidstein (87) 140 sığır kıyma örneğinde ortalama 2.0×10^6 /g. genel mikroorganizma ve 2.0×10^2 /g. koliform bakteri saptamışlardır.

Chambers ve ark. (22) da 457 sığır kıyma örneği üzerinde çalışmışlar ve örneklerin %90'ında 1.5×10^7 /g.'ın altında genel mikroorganizma saptadıklarını bildirmişlerdir.

Rao ve Ramesh (66) soğuk olmayan koşullarda bekletilen kıymalarda mikrobiyel bozulmanın, *E.coli* ve *S.aureus* gibi mezofil mikroorganizmaların üremesine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar perakende satış yapan dükkanlara ait kıymaların %32'sinin, modern mezbahalardan elde edilen kıymaların %25'inin *S.aureus* içerdiğini bildirmişlerdir. *E.coli*'nin ise perakende satış yapan dükkanlarda

hazırlanan kıymaların %15'inde, modern işletmelerde hazırlanan kıymaların %1'inde bulunduğunu ve *Proteus* spp. bakterilerin, perakende satış yapan dükkanlardan alınan kıymalarda %1 olduğu halde, modern işletmelerden alınan kıymalarda bu bakteri cinsine rastlanmadığını saptamışlardır.

Kanada standartlarına göre (64) genel mikroorganizma sayısının dondurulmamış kıymalarda $\leq 1.0 \times 10^7/g.$, dondurulmuş kıymalarda ise $\leq 1.0 \times 10^6/g.$ olması istenmektedir.

Almanya'da uygulanan standartlarda ise kıymada; genel mikroorganizma sayısının $1 \times 10^7/g.$, *E.coli* $1.0 \times 10^2/g.$, *S.aureus* $1.0 \times 10^2/g.$ 'dan fazla olmaması ve 25 gram kıyma örneğinde hiç *Salmonella* spp. bulunmaması istenmektedir. ABD'de eyaletlere göre farklı uygulamalar olmakla beraber, Georgia eyaletinde uygulanan standartlara göre; kıymanın genel mikroorganizma sayısı $5.0 \times 10^6/g.$, koliform bakteri $1.0 \times 10^3/g.$, *E.coli* 0/g. ve *S.aureus* $1.0 \times 10^2/g.$ 'dan fazla olamayacağı belirtilmektedir (77).

Türk Standartları Enstitüsü'nün hazırladığı TS 11566 Hazır Kıyma Standardı'na (4) göre; hazır kıymanın gramında toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısının 5×10^6 , *S.aureus* sayısı 5×10^2 , *E.coli* sayısı 5×10^2 , psikrofil bakteri sayısı 10^5 , *C.perfringens* sayısı 10^2 ve küf sayısının 10^2 adet olabileceği ve 25 gramında hiç salmonella bulunamayacağı belirtilmektedir.

Ülkemizde, kıyma üretiminde genellikle ikinci sınıf hijyenik kalitesi düşük et ve yağ kullanıldığından, kıymaların mikrobiyolojik kalitesi olumsuz etkilenmektedir (11). Hazır kıymalar ile ilgili yapılan çalışmalarda; toplam aerob mezofil mikroorganizma, psikrofil bakteri ve koliform bakteri sayılarının, olması gereken değerlerin çok üstünde olduğu belirtilmektedir. Ayrıca bu çalışmalarda kıymanın *E.coli*, *S.aureus*, sülfiti indirgeyen anaeroplara, *C.perfringens* gibi gıda enfeksiyon ve intoksikasyonuna neden olabilen mikroorganizmaları içerebileceği belirtilmektedir (2, 47, 73, 91).

Tekinşen ve ark. (77) Ankara'da tüketime sunulan hazır kıymaların toplam mikroorganizma sayısını örneklerin %75'inde $1.0 \times 10^7/g.$ ve koliform bakteri sayısının örneklerin tamamında $1.0 \times 10^5/g.$ 'dan fazla olduğunu, bu iki mikrobiyolojik kriter yönünden kıymaların bakteriyolojik kalitelerinin, çeşitli ülkelerde belirtilen kriterlerden

oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun, mikroorganizmaların bulaşma ve gelişmelerini kısıtlamaya yönelik mezbahalarda; kıymanın üretimi, taşınması ve satışı sırasında yeterli önlemlerin alınmamasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Akıllı (2) Ankara'da süpermarketlerde satılan hazır kıymaların %90'ında 1.0×10^7 'den fazla genel bakteri, örneklerin tamamında ise 1.0×10^5 /g'dan fazla koliform bakteri saptadığını ve hiç bir örnekte salmonella'ya rastlamadığını bildirmiştir.

Piştirilmeye hazır köfte örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda da kıymalara benzer sonuçlar alınmıştır. Karım (49) 120 çiğ hamburger köfte örneğinde yaptığı araştırmada; örneklerin %17'sinde toplam aerop bakteri sayısını 1.0×10^7 /g.'ın üzerinde tespit etmiş, koliform bakteri sayısını ise örneklerin %28'inde 10^3 - 10^4 /g. olduğunu açıklamıştır. Aynı zamanda örneklerin %62'inde stafilocok türlerinin bulunduğunu ve bunların %37'sini koagülaz pozitif türlerin oluşturduğunu bildirmiştir. Araştırmacı 30 pişmiş hamburger örneğinde ise toplam bakteri sayısının 10^3 - 10^4 /g. olduğunu, örneklerin %83'ünde koliform bakteriye rastlanmadığını ve hiç stafilocok üremediğini belirtmiştir.

Duitschaever ve ark. (32) dondurulmuş hamburger köfteleri üzerinde yaptıkları araştırmada; örneklerin %19'unda toplam aerop bakteri sayısını 10^7 /g.'ın üzerinde bulmuşlardır. Doksan dokuz numunenin 93'ünde *S.aureus* bulunduğunu ve bunların 83'ünde *S.aureus* sayısının 10^3 /g.'ı aştığını bildirmişlerdir. Ayrıca 98 örneğin 28'inin *E.coli* içerdiğini ve bunun da %25'inde organizma sayısının 500/g.'ın üzerinde olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, kızartılmış hamburgerlerin %96.3'ünde ise toplam aerop bakteri sayısının 10^4 /g.'dan fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Rossi Junior ve ark. (69) 30 adet endüstriyel koşullarda hazırlanan ve 30 adet de herhangi bir kontrol olmaksızın küçük imalatçılar tarafından hazırlanan hamburger köfteleri üzerinde yaptıkları araştırmada; küçük imalathanelere ait örneklerde %36.6 mezofil, %16.6 fekal koliform, %13.3 *S.aureus* ve %10 sülfid indirgeyen anaerob bakteri saptamışlar ve psikrofil bakteri sayısını 10^9 /g. olarak açıklamışlardır. Araştırma sonucunda, küçük üreticilerin hamburger örneklerinde hijyenik kalitenin yetersiz olduğunu bildirmişlerdir.

Çetin ve Yücel (27) Bursa'da kasap dükkanlarında üretilen kasap köfteleri üzerinde yaptıkları araştırmada; toplam bakteri sayısını ortalama $1.1 \times 10^6/g.$, koliform bakteri sayısını $4.4 \times 10^5/g.$, *E.coli* sayısını $1.8 \times 10^4/g.$, *S.aureus* sayısını $1.7 \times 10^4/g.$, olarak belirtmişler, üç örnekte de sarmonella tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak kasap köftelerinin üretiminde hijyen kurallarına yeterince uyulmadığı ve kalitenin farklılık gösterdiği görüşüne vardıklarını açıklamışlardır.

Yine Bursa'da ızgara köfteler üzerinde yapılan bir araştırmada (74); toplam aerop bakteri sayısı $3.7 \times 10^7/g.$, koliform bakteri $1.1 \times 10^7/g.$, *S.aureus* $1.9 \times 10^6/g.$, sülfid indirgeyen anaeroplara $2.5 \times 10^1/g.$, toplam küf-maya sayısı ise $3.5 \times 10^7/g.$ olarak saptanmış, ayrıca örneklerin %40'da *E.coli* bulunduğu açıklanmıştır. Pişmiş köftelerde ise toplam aerop bakteri $2.2 \times 10^4/g.$, koliform bakteri $1.2 \times 10^3/g.$, *S.aureus* $3.8 \times 10^3/g.$, sülfid indirgeyen anaeroplara $2.3 \times 10^1/g.$ ve toplam küf-maya sayısı $3.0 \times 10^4/g.$ olarak belirtilmiş, örneklerin %20'sinde *E.coli* bulunduğu açıklanmıştır. Bu çalışma ile köftelerde pişirme işleminin yetersiz ve köftelerin hijyenik kalitesinin düşük olduğu sonucuna varıldığı belirtilmiştir.

Bayhan ve ark. (41) Ankara'da tüketilen ızgara köfteler üzerinde yaptıkları araştırmada; pişmemiş köfte örneklerinde toplam aerop bakteri sayısını ortalama $3.2 \times 10^8/g.$, pişmiş örneklerde ise bu sayının $1.0 \times 10^6/g.$ olduğunu bildirmişlerdir. Koliform bakteri sayısını pişmemiş örneklerde ortalama $8.5 \times 10^5/g.$, pişmişlerde ise $3.2 \times 10^2/g.$ olarak bulmuşlardır. *E.coli* pişmemiş örneklerde ortalama $1.2 \times 10^5/g.$ olarak bulunurken, pişmiş örneklerde $1.6 \times 10^2/g.$ olarak saptanmıştır. Ayrıca araştırmacılar koagülaz pozitif stafillokok ve salmonella'ya hiçbir örnekte rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Bostan ve ark. (13) köftelere uygulanan soğutma, dondurma ve pişirme işleminin *Campylobacter jejuni*'nin canlılığı üzerine etkisini araştırmışlar; köfte örneklerinde, soğutma ve dondurma işlemlerine bağlı olarak etkenin hızla inaktive olduğunu, pişirme esnasında merkezi sıcaklığın $72^{\circ}C$ ve üzerinde en az bir dakika süre uygulanması durumunda, etkenin köfte örneklerinde tamamen tahrip edildiğini bildirmişlerdir.

Dünya sağlık örgütüne göre, aşağıda belirtilen herhangi bir durumda bir gıda maddesi için “insan tüketimine uygun değildir” ifadesi kullanılmaktadır (41).

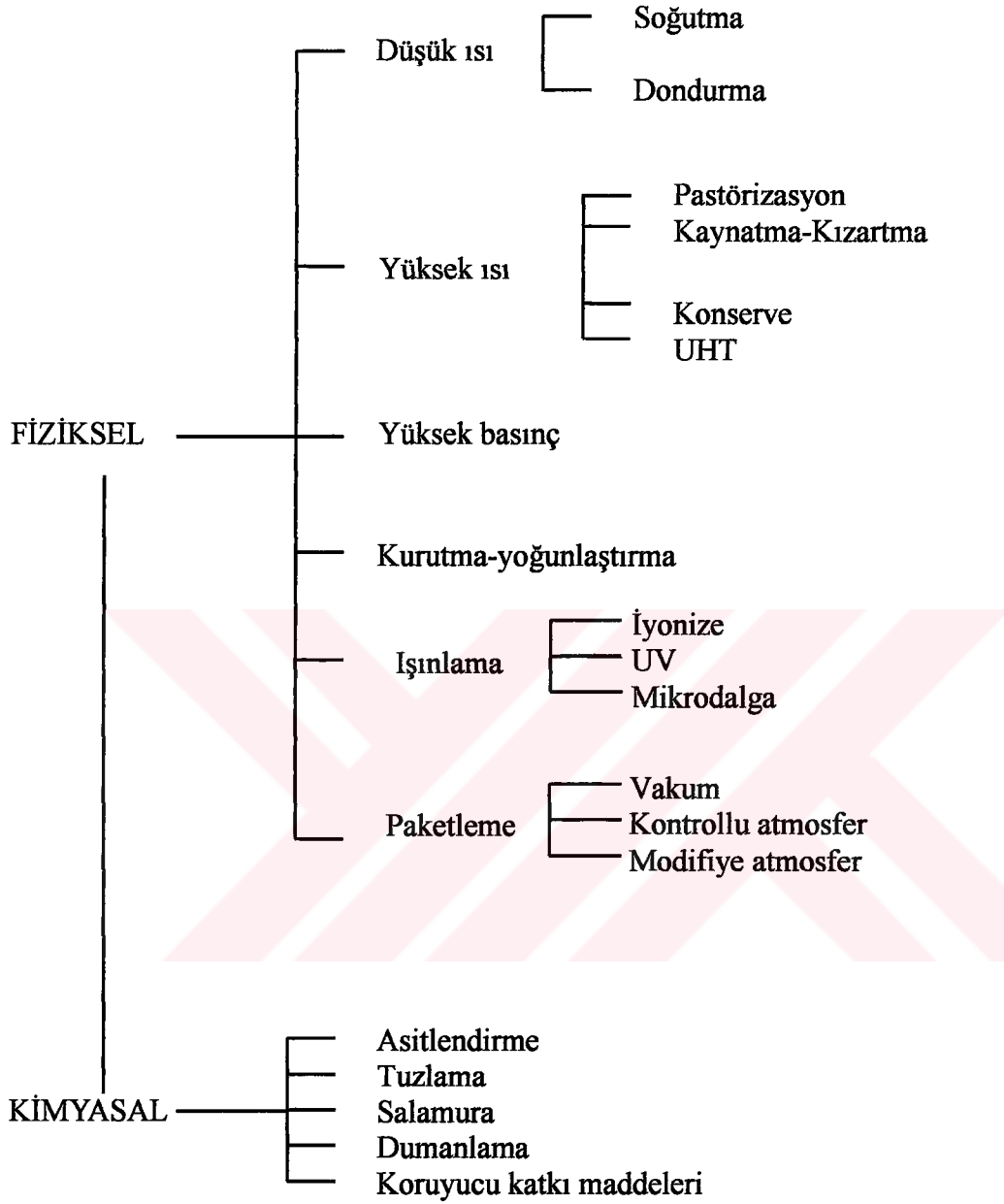
- Patojen bakteri içermesi.
- Yabancı maddeler, antibiyotikler, kemoteropatik ajanlar, prezervatifler veya toksik maddeler bulunması.
- Bir gramda 5×10^6 'dan fazla toplam bakteri içermesi.
- Bir gramda 1×10^3 'den fazla koliform bakteri içermesi.

Türk Standartları Enstitüsü'nün hazırladığı TS 10581 İnegöl Köfte Standardı'na (5) göre; İnegöl köftede toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısının 5×10^6 adet/g., *S.aureus* 5×10^2 adet/g., *E.coli* 5×10^2 adet/g., psikrofil bakteri 10^5 adet/g., *C.perfringens* 10^2 adet/g., küf 10^2 adet/g. olabileceği ve 25 gramında hiç salmonella bulunamayacağı belirtilmektedir.

2.3. Gıdalara Koruyucu Katkı Maddeleri Uygulaması

Gıdalarda bulunabilen patojen ve gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların üreme, çoğalma ve diğer faaliyetlerini engellemek veya durdurmak yada onları tamamen yok etmek amacı ile çeşitli koruma yöntemleri ve işleme tekniklerinden yararlanılmaktadır (47, 78, 81, 91). Günümüzde teknolojinin ilerlemesi değişik ve daha etkin yöntemlerin uygulanmasına imkan sağlamaktadır (78). Yaygın olarak uygulanan yöntemler (81) Şekil 1'de gösterilmiştir.

Bu koruma yöntemlerinde amaç; iç ve dış faktörleri mikrobiyel gelişme ve çoğalma için engel parametreler olarak kabul edip, hedeflenen ürün eldesi için gerekli önlemleri almaktır. Bu parametrelerin tek tek veya kombineli olarak kontrol altında tutulması gıda korunmasında temel prensiptir. Genel olarak gıda korumada yararlanılan engel parametreler; yüksek sıcaklık (F), düşük sıcaklık (t), su aktivitesi (a_w), hidrojen iyon konsantrasyonu (pH), redoks potansiyeli (Eh), koruyucu maddeler (P), rekabetçi flora (KF), iyonize radyasyon (I) olarak ifade edilmektedir (78, 81).



Şekil 1: Gıdaların dayanıklılığını arttırmada uygulanan koruma yöntemleri (81).

Gıdaların kalitesini korumak ve dayanma sürelerini arttırmak amacıyla uygulanan muhafaza yöntemlerinden modifiye atmosferde paketleme (MAP) tekniğinin kırmızı et, kanatlı etleri, pişmiş ve kürlenmiş etler, balık, kabuklu deniz ürünleri hamur işleri, fırın ürünleri, peynir, kurutulmuş gıdalar, hazır gıdalar, sebze ve meyvelere

uygulanabildiği ve özellikle et ve et ürünlerinde bu yöntemin kullanılarak raf ömrünün % 50 – 400 arasında uzatılabildiği belirtilmektedir (39).

Yılmaz (89) farklı ambalajlama yöntemi ve depolama sıcaklığının Tekirdağ köftenin bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkilerini araştırmış; polistiren ile ambalajlanan örneklerde mikrobiyel bozulmanın 8. günde, modifiye atmosfer ve vakum ambalajlı örneklerde 12. günde gerçekleştiğini bildirmiştir. Araştırmacı modifiye atmosfer paketlenme (MAP) yönteminin, Tekirdağ köftede en uygun ambalajlama yöntemi olduğunu belirtmiştir. Hamburger köftelerde de MAP yöntemi ile raf ömrünün uzatıldığı bildirilmektedir (28). Ayrıca tüketime hazır gıdalara talebin, soğutulmuş ve dondurulmuş ürünler ile aseptik ambalajlamanın önemini arttırdığı belirtilmektedir (84).

Gıdaların mikrobiyolojik kalite ve raf ömrünü arttırmada, radurizasyonun soğutma ile kombineli şekilde uygulanmasının, endüstriyel anlamda önem vadeden gıda muhafaza yöntemi olduğu ileri sürülmektedir (51).

Gıdaların korunmasında kimyasal maddelerden yararlanılması ise yüzyılı aşkın bir geçmişe dayanmaktadır (78, 91). Gıda sanayiinde kullanılan kimyasal maddeler “katkı maddeleri” olarak nitelendirilmektedir. Ancak gıdalardaki mikroorganizmaların gelişmelerini durdurucu veya öldürücü etki yapan, başka bir ifade ile antimikrobiyel özellikteki gıda katkılarına prezervatif (koruyucu) madde denilmektedir (78).

Koruyucuların etkisi, mikroorganizmaların ve koruyucuların cinsine, koruyucunun dozuna, uygulama koşullarına, ürün karakteristiklerine, saklama koşulları ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Koruyucu madde kullanımında temel amaç; gıdayı kaliteli ve güvenli hale getirmek, raf ömrünü uzatmaktır (78).

İstenilen raf ömrüne, ancak koruyucu madde uygun dozda kullanılarak ulaşılabilir. Bu amaçla koruyucu maddenin kendisinden kaynaklanan antimikrobiyel etki alanı, antimikrobiyel etkinliği, toksisite durumu, duyuşal özellikleri ve ekonomik olması gibi faktörler ile korunacak gıdanın su aktivitesi, redoks potansiyeli, yağ içeriği,

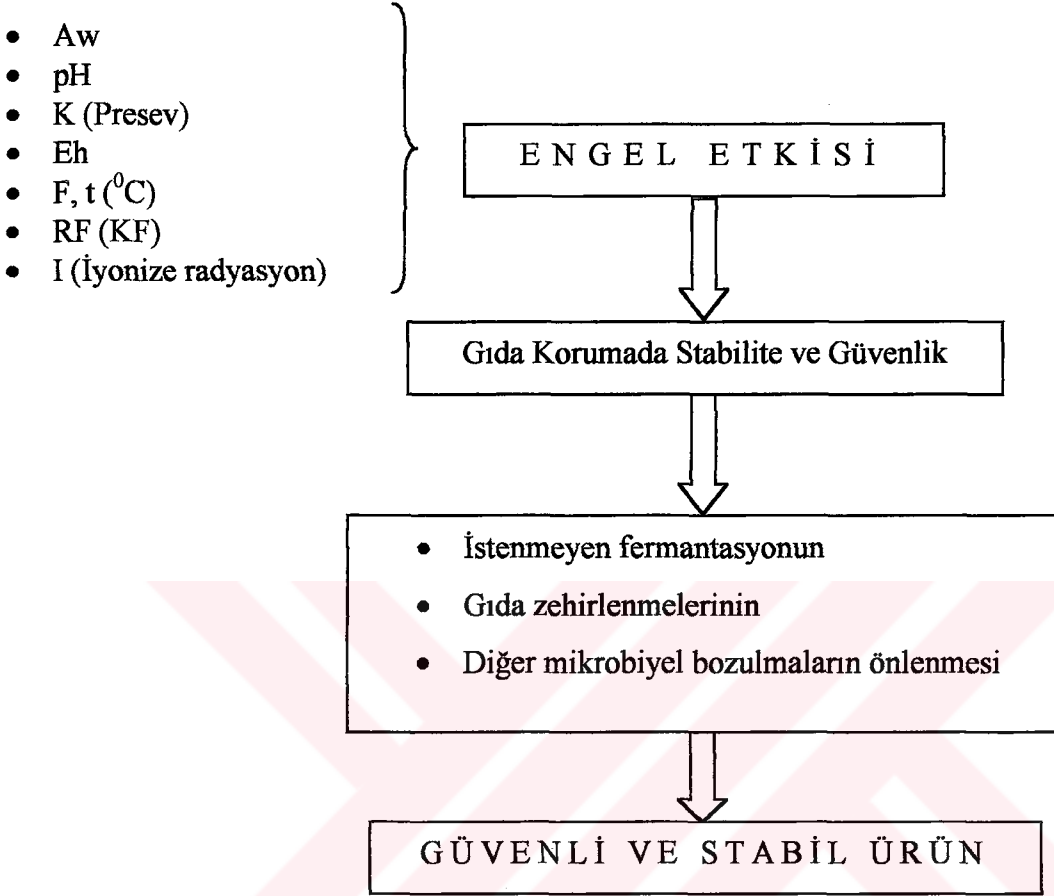
asitlik durumu gibi özgün karakterleri, işleme yöntemi ve depolama koşulları gibi faktörlerin değerlendirilmesi gerekir (37).

Koruyucu maddeler amacı karşılamakla beraber, gıdalarda olumsuzluklara da neden olabilmektedir. Örneğin bazı koruyucular vitaminleri parçalayarak kayıplara neden olurlar. A ve C vitaminleri H_2O_2 'ten, D vitamini de SO_2 'den bu şekilde olumsuz etkilenmektedir (37).

Yıldırım (91) katkı maddesi olarak et ürünlerinde kullanılan nitrat ve nitritin fazla miktarda kullanıldıkları takdirde, gıdaya arzu edilmeyen acımsı bir lezzet verdiklerini belirtmekte, yalnız olarak veya küçük dozlarda kullanıldıklarından insan organizmasına etkileri olmamasına rağmen, gıda maddelerine ilave edildikleri zaman kanserojen bir madde olan N-nitrozo bileşikleri meydana geldiğinden, zararlı olabildiklerini bildirmektedir. Hatta Norveç gibi bazı ülkelerde kullanımlarının bile yasaklandığını belirtmektedir.

Koruyucu maddelerin mikroorganizmalara karşı doğrudan etki göstermeleri esastır. Bu, mikrobiyel hücrenin zarını tahrip ederek, enzim sistemini inhibe ederek yada hücre protoplazmasındaki genetik yapıları bozmak suretiyle olmaktadır. Örneğin organik asitlerin nötr değerdeki pH'yı düşürerek, iyon dengesini antimikrobiyal iyonlar lehine değiştirdikleri bildirilmektedir. Her ne kadar son yıllarda artan üretici hassasiyeti ile, gıda koruyucuları diğer kimyasal maddelerin yarattığı toksik risklerle özdeşleştirilmekte ve kullanımından kaçınılmakta ise de bazı durumlarda ve uygulamalarda koruyucu madde kullanımının kaçınılmaz olduğu ileri sürülmektedir. Doğal koruyucuların kullanılmasıyla bu kuşku ve endişelerin önüne geçilebileceği belirtilmektedir (52, 25).

Gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi yönlendiren veya engelleyen temel iç, dış veya işleme parametreleri birbiriyle ilişkilidir (Şekil 2). Özellikle a_w , pH ve sıcaklıktan ikisi optimal ise, üçüncü faktör sınırdaki bile olsa mikrobiyel gelişme gerçekleşir. Fiziksel, fizikokimyasal, mikrobiyel türevli engeller ve diğerleri olarak gruplanan engel parametrelerinin kombinasyonu, gıda teknolojisinde temel koruma tekniklerinden biridir (78).



Şekil 2: Mikrobiyel gelişmenin önlenmesinde engel parametreler ve etkileşim sonuçları (78).

2.4. Koruyucu Madde Olarak Laktik Asit ve Laktatların Kullanımı

2.4.1 Laktik Asitin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Sıkı hijyen uygulamaları, düşük ısı, vakum veya modifiye atmosfer paketleme gibi uygulamalar, ürünlerde sadece sınırlı bir raf ömrü sağlamaktadır. Günümüzde, gıdaların bozulması ve zehirlenmelere neden olan mikroorganizmaları inhibe etmek için gıda sanayinde çeşitli katkı maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bunlardan

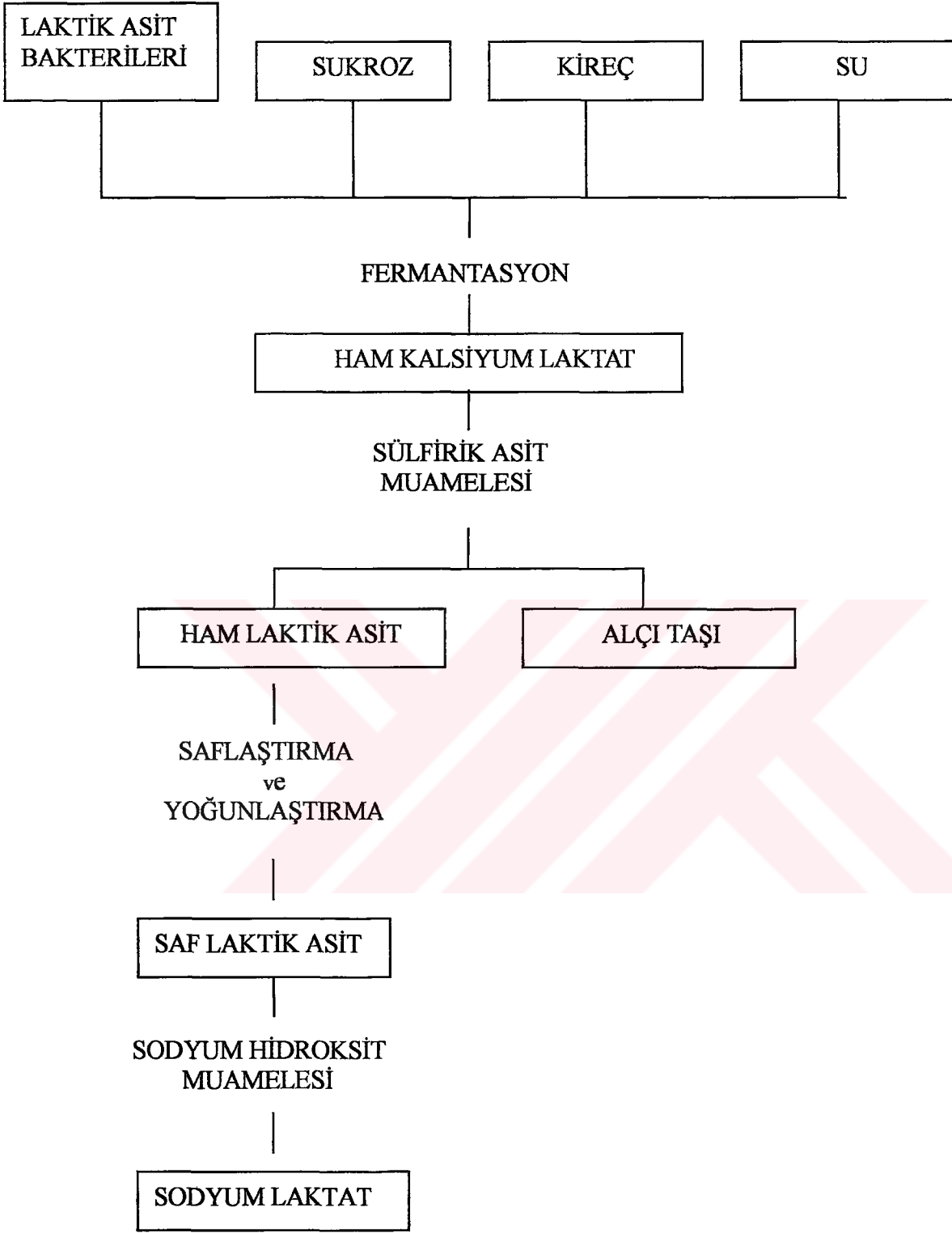
bazılarının gıdaların karakterini değiştirebildiği gibi tüketicilerin sağlığını da tehdit ettiği ileri sürölmektedir (52).

Gıdaların mikrobiyel güvenilirlik ve raf ömrünü arttırmak için laktik asit ve derivatları doğal bir alternatif olarak görölmektedir. Laktik asit, çok uzun zamanlardan beri gıda endüstrisinde kullanılan sitrik asit, asetik asit gibi bir organik asittir. Fermentasyon yoluyla elde edilen laktik asitin, yüzyıllardan beri yoğurt, peynir, turşu ve benzeri gibi bir çok gıda maddesinde relatif olarak dayanıklılığı ve güvenilirliği sağlamak için kullanıldığı bilinmektedir (31). Yine nötral ve düşük asidik gıdalarda, sodyum ve potasyum laktat gibi laktik asit derivatlarının antimikrobiyel madde olarak kullanımı oldukça yaygındır (31). Laktik asitin L(+) ve D(-) olmak üzere iki aktif optik formu vardır (25, 31, 52).



Doğal olarak her iki tip laktik asit formu mevcut olmakla beraber, L(+) laktik asitin en çok göröldüğü ve bu formun insan vücudunda yapılabildiği bildirilmiştir. Bir insan vücudunun günlük ortalama 120 gram L(+) laktik asit ürettiği ancak D(-) laktik asitin insan vücudunda üretilemediği, alındığı takdirde vücuttan eliminasyonun da zor olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle L(+) laktik asit, “doğal” veya “fizyolojik laktik asit” olarak adlandırılmaktadır (25, 31, 52).

Gıda katkısı olarak kullanılan laktik asitin, rafine sukroz veya diğer karbonhidrat kaynaklarının kontrollü fermentasyonu ile elde edildiği, sentetik olarak elde edildiği zaman ise daima 50/50 L(+) ve D(-) formlarının karışık olarak oluştuğu belirtilmektedir (31, 67). şu anda dünyada yaklaşık yılda 40 bin ton laktik asit üretilmekte, bunun %60’ı fermentasyon yoluyla, %40’ı ise sentetik olarak elde edilmektedir (31). Laktik asit ve sodyum laktat üretimi şekil 3’te gösterilmiştir.



Şekil 3 : Laktik asit ve laktatların elde edilişi (31).

Modern gıda işleme tekniklerinde asitlendiricilerin tat verme, pH ayarlama, yumuşaklık sağlama ve preservasyon gibi bir çok fonksiyonları olduğu bildirilmiştir. Tat verme için asitlendirici kullanıldığı zaman seçimin subjektif ve bir tat panelinin değerlendirme sonuçlarına bağlı olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan tatlardaki farkın, çok az olduğundan ve bazen düşük dozda lezzetlendirici ajanlar da bulunabildiğinden algılanamadığı açıklanmış, lezzetin önemli olmadığı uygulamalarda ise seçim için diğer faktörlerin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (31). Bu faktörler aşağıdaki şekilde sıralanmıştır:

- Teknolojik sebepler; farklı asitlerin prezervasyon ve yumuşaklık sağlama gibi çok farklı etkilerinin olması.
- Uygulayıcıların çeşitleri gıda asitlendiricilerinden haberi olmaması.
- Bazı asitlendiricilerin bazı ülkelerde kullanımının sınırlandırılması yada yasaklanması.
- Çok pahalı olan asitlendiricilerin gelişmekte olan yada gelişmemiş ülkelerde kullanılmaması.

Gıda endüstrisinin bütün alanlarında yaklaşık 25 bin ton katkı maddesi kullanıldığı bildirilmiş ve gıda teknolojisi açısından, laktik asidin çok kullanılması şu nedenlere bağlanmıştır (31):

- Keskin tatta olan diğer bir çok gıda asidinin aksine, yumuşak asit lezzete sahip olması.
- Gıdalarda zayıf aromatik lezzetleri maskeleyememesi veya etkisizleştirmemesi.
- Gıdada prezervatif rol oynayan laktobasiller gibi mikrobiyel flora üzerine ayarlayıcı etkiye sahip olması.
- Bir çok gıda maddesinde doğal olarak oluşması, dolayısıyla gıdada yabancı bir element olmaması.
- Tuzlarının çok kolay erimesi ve bu durumun, tampon sistemlerde asit yerine kullanılma olanağı sağlaması.

Ayrıca laktik asitin toksik olmadığı ve gıda katkısı amacı ile Amerika'da bir GRAS (Generally Recognized as Safe) olarak gıdalarda kullanımına izin verildiği bildirilmektedir (57). Ülkemizde de laktik asit ve tuzları, özellikle bebek ve çocuk

besinlerinde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Sodyum laktat da çok fonksiyonlu gıda katkı maddeleri arasında yer almaktadır (6).

2.4.2 . L(+) Laktik Asit'in Antimikrobiyel Etkisi

Gıda üretiminde laktik asitin başlıca fonksiyonları; lezzet düzenleme, prezervasyon, pH ayarlama, yumşaklık sağlama, hazmedilebilirliği artırma ve rengi muhafazayı kontrol olarak sıralanmıştır. Bunlardan lezzet düzenleme, prezervasyon ve pH ayarlamasının temel fonksiyonlar olduğu belirtilmektedir (25, 31).

Cubina (25) organik asitlerin gıdalardaki antimikrobiyel etkisinin pH, dissosiyeye olmamış asit konsantrasyonu ve sipesifik asit etkisine bağlı olduğunu bildirmiştir.

Gıda endüstrisinde pH'ın önemli bir faktör olduğu ve çoğunlukla pH ayarlama işleminin bir asit ilavesi ile yapıldığı bildirilmiştir. Ayrıca pH ayarlamasının bir çok işlemde önemli rol oynadığı ve enzimatik aktivitelerin kontrolü için gerekli olduğu belirtilmiştir (25).

Genel olarak bir asitin, gıda maddesinin pH'sını düşürerek mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ettiği ve pH ne kadar çok düşürülürse, antimikrobiyel etkinin o kadar fazla olduğu bildirilmektedir (31, 52).

Asitlerin antimikrobiyel etkisini etkileyen ikinci önemli faktör, dissosiyeye olmamış asit konsantrasyonudur. Dissosiyeye olmamış zayıf asitlerin, mikrobiyel gelişmenin inhibisyonu ve mikroorganizmaların öldürülmesinde, dissosiyeye formlardan 10-600 kez daha etkili olduğu açıklanmıştır. Suda çözündürüldüğü zaman, çoğunlukla organik asitlerin dissosiyeye formda oldukları ve bu nedenle hidroklorik asit gibi suda tamamen dissosiyeye formda bulunan inorganik asitlerden daha güçlü antimikrobiyel etkiye sahip oldukları belirtilmektedir (52).

Debevere (29) mikrobiyel gelişmede inhibisyonun, sadece asitlendiricinin pH'ı düşmesiyle değil, aynı zamanda kendi inhibitör etkisi ile gerçekleştiğini tespit etmiştir. Aynı araştırmacı, gelecekte salata ve asidik gıdalarda tamponlanmış asitlerin kullanımı

ile benzoik ve sorbik asit gibi kimyasal prezervatiflerin kullanımının terk edileceğini ileri sürmektedir.

Aynı pH ve asit dissosiasyonunda bile bir çok organik asitin farklı antimikrobiyel etki göstermesi “sepesifik asit etki”si ile açıklanmıştır (52).

De Koos (52) asitleri tamponlamanın, mikrobiyel gelişmeyi geciktirmedeki etkinliklerini arttırdığını, çünkü tamponlanmış bir solüsyonda daha güçlü inhibisyon etkisi veren, daha çok dissosiyeye olmamış moleküller olduğunu bildirmiştir.

Lezzetin, gıdalarda git gide önemli bir faktör haline geldiği ve diğer gıda asitleri gibi laktik asitin de gıdalara özel bir asit lezzet verdiği belirtilmektedir. Ayrıca laktik asitin, sitrik ve tartarik asit gibi asitlerden daha yumuşak ve kalıcı bir asit lezzete sahip olduğu bildirilmektedir (25).

Laktik asitin, et ve tavuk karkaslarında dekonatminant madde olarak çok iyi bilindiği ve etkinliğinin en ayrıntılı detaylarına kadar araştırıldığı belirtilmiştir (25, 72). %1-3'lük laktik asit solüsyonlarıyla püskürtme veya duşlamanın, muhafaza esnasında mikroorganizma sayısında büyük oranda düşüş sağladığı ve *Salmonella*, *Campylobacter*, *Pseudomonas* ve benzeri gibi normalde mevcut olan Gram negatif bakteriler ve sık rastlanan Gram pozitif bakterileri inhibe ederek, bakteriyel flora üzerinde selektive edici etki gösterdiği bildirilmekte, böylece etin bozulmasının önlendiği belirtilmektedir. Ayrıca laktik asitin, kesim işleminden hemen sonra et yüzeyine püskürtülerek kullanılması tavsiye edilmektedir (25, 86).

Cudjoe (26) muhafaza esnasında etin niteliklerini korumada, laktik asit püskürtmenin etkisini araştırmış; derisi yüzülmüş sığır başlarının %1 laktik asitle muamele ile kontrol grubuna göre; 4°C’de muhafaza edilen sığır başlarının 3 gün, 15 ve 20°C’de muhafaza edilenlerin ise birer gün raf ömrünün uzatıldığını bildirmiştir.

Karkaslar oda ısısında muhafaza edildiğinde veya endüstri alanlarında yüksek ısı şartlarına maruz kaldıkları zaman, et yüzeyinin mikroorganizmalarla kontaminasyonu ile çok önemli bir problem olarak karşılaşılmaktadır. Bunu önlemek için klor veya organik asit içeren spreylerle muamele gibi istenmeyen popülasyonları

azaltmak amacıyla ucuz metotların geliştirildiği ve laktik asit uygulamalarının en etkili metot olduğunun kanıtlandığı bildirilmektedir. Buzdolabı ısısında da çiğ etin raf ömrünü uzatmak için organik asit ilavesinin, mikrobiyel popülasyonu azaltmada etkili bir yol olarak görüldüğü belirtilmektedir (38).

Raf ömrünü uzatmada laktik asitin etkinliğinin, kullanılan asit konsantrasyonu ve soğuk muhafaza ısısına bağlı olduğu belirtilmektedir (44). Anderson ve Marshall (3) 1/8 dilue taze hayvan gübresi, *E.coli* ve *S.typhimurium* süspansiyonlarına daldırarak kontamine ettikleri dana *Semitendineus* kası örneklerini; 25, 40, 55 ve 70°C'lerde %0, 1, 2, 3 laktik asit solüsyonları ile 15 saniye muamele etmişlerdir. Muamelelerden sonra en çok aerop floranın etkilendiği belirtilmiştir. Araştırmacılar, laktik asit konsantrasyonunun *E.coli*'ye önemli etkisi olduğu halde, temperaturün etkisi olmadığını ve hem *E.coli*, hem de *S.typhimurium*'un laktik asit tarafından baskılandığını belirtmişlerdir.

Izat. ve ark. (45) broilerin işleme suyunda salmonella insidensi üzerine laktik asitin etkisini araştırmışlar; ön soğutma ve son soğutma işlemlerinden sonra %1 ile %2 laktik asit ile muamelenin salmonella insidensi üzerine etkili olduğunu, ancak bilhassa karkasların çok pigmentli bölgelerinde hafif renk değişikliği görüldüğünü belirtmişlerdir.

Ouattara ve ark. (60) altı yaygın et bozulma bakterilerine (*Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium piscicola*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sage*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Serratia liquefaciens*) optimum şartlarda organik asitlerin (asetik, benzoik, sitrik, laktik, propionik ve sorbik asit) etkilerini karşılaştırmışlardır. Besi yeri ortamlarında düşük çözünürlüklerinden dolayı, benzoik ve sorbik asitin sadece düşük konsantrasyonlarda (< %0.15) kullanılabilirdiğini ve bakteriyel gelişmeyi etkin bir şekilde inhibe edemediklerini bildirmişlerdir. Diğer asitlerin tamamı tarafından, %0.1-%1 konsantrasyonlarda mikrobiyel gelişmenin inhibe edildiğini, asetik asitin en etkili olduğunu, onu propionik, laktik ve sitrik asitin takip ettiğini açıklamışlardır. Ayrıca araştırmacılar laktobasillerin tamamının organik asitlerin etkilerine en dayanıklı bakteriler olduğunu, onları *P.fluorescens* ve *S.liquefaciens*'in takip ettiğini; *B.thermosphacta* ve *C.piscicola*'nın ise en duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Oh ve Marshall (59) gliserolmonolurat (ML)'ın asetik, benzoik, sitrik ve laktik asitle birlikte *L.monocytogenes* üzerine antimikrobiyel etkisini sıvı ortam ve kerevitte araştırmışlar; her bir asit ile eşit miktarda ML birleştirildiği zaman minimum inhibe edici konsantrasyonlarının daha da azaldığını ve laktik asitin kerevitte mikrobiyel aktiviteyi önlediğini, ayrıca ML aktivitesinin, kullanılan organik asitin tipinden etkilendiğini bildirmişlerdir.

Conner ve Kotrola (24) asetik, sitrik, laktik, malik, mandelik ve tartarik asitle pH düşürmenin, *E.coli* 0157:H7'nin yaşama ve gelişmesi üzerine etkisini 25, 10 ve 4°C'de 56 gün boyunca araştırmışlar; etkenin, asidik şartlarda 56 günden fazla yaşama kabiliyetine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Asitlendiricinin tipi ve temperatur tarafından canlı kalabilmenin etkilendiğini bildirmişlerdir.

Jeremiah ve ark. (48) laktik asit püskürtmenin, dana *longissimus* kasının duyuşal ve pişirme özelliklerine etkisini araştırmışlar; lezzet, nem kaybı ve pişirme özellikleri üzerine çok az etki ettiği sonucuna varmışlardır.

Marshall ve Kim (55) asetik ve laktik asitle muamele gören ve buzdolabında saklanan kedi balđı dilimlerini mikrobiyolojik ve duyuşal açıdan incelemişler; %2 asetik asit ve laktik asit konsantrasyonlarında 30 saniyenin üstündeki uygulamaların, kedi balđı dilimlerinin duyuşal özelliğini olumsuz etkilediği için tavsiye edilemeyeceğini bildirmişlerdir.

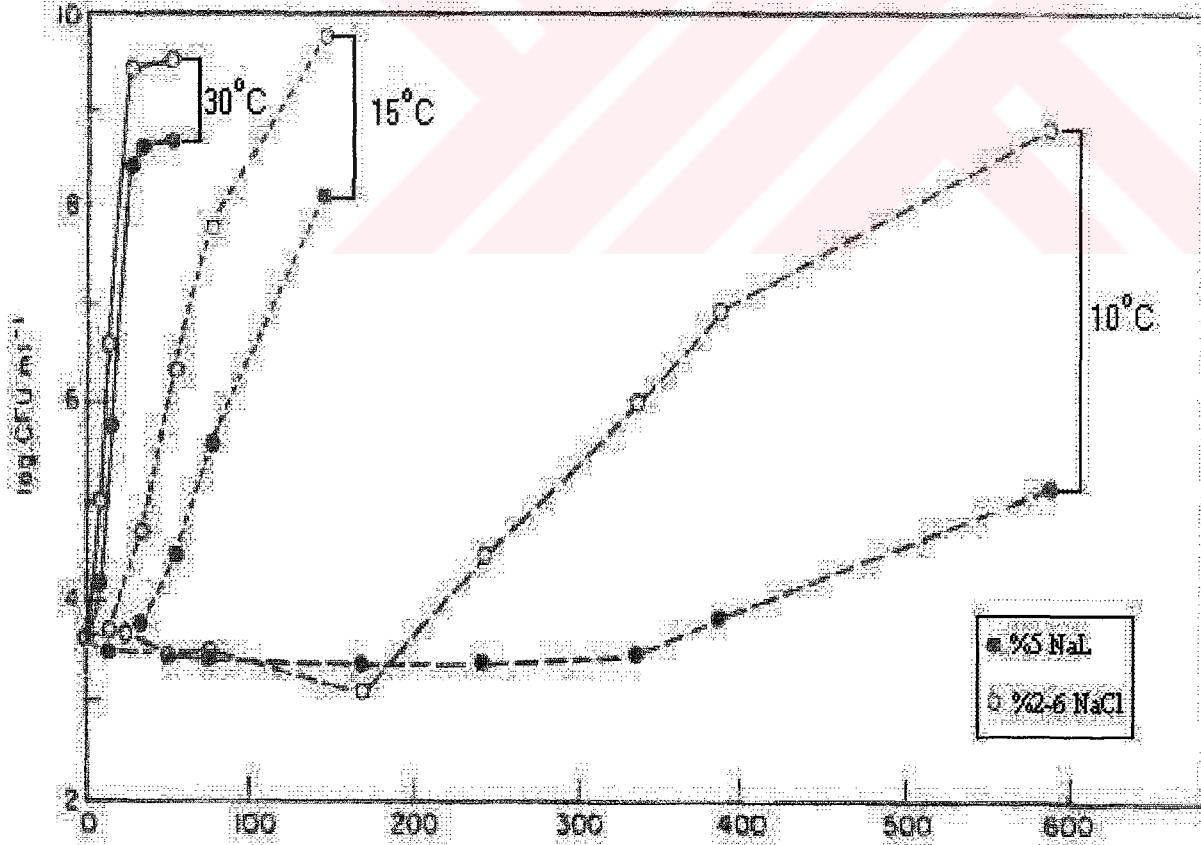
Benner ve ark. (12) karideslerin raf ömrünü arttırmak için laktik asit/melanosis inhibitörlerinin etkisini araştırmışlar; laktik asitin yalnız veya sodyum bisülfitle (inhibitör) birlikte uygulandığında, karideslerin raf ömrü üzerine çok az etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

2.4.3. Sodyum Laktatın Antimikrobiyel Etkisi

L(+) laktik asidin tuzu olan sodyum ve potasyum laktatın, nötr pH'ya sahip olduklarından et ve tavuk ürünleri, balık ürünleri, yemeğe hazır ve taze erişte gibi asitik

olmayan gıdalarda kullanımlarının çok uygun olduğu bildirilmiştir. Sodyum laktat çok hafif tuzlu tada sahip olmasına rağmen, potasyum laktatın hafif bir acılığa sahip olduğu, ancak acılığının potasyum klorür gibi diğer potasyum tuzlarından daha az olduğu belirtilmektedir. (52).

Laktatların prezervatif etkinliğinin iki ana faktörün birleşimi ile gerçekleştiği açıklanmıştır (7, 19, 25, 31, 52, 86). Bunlardan birincisi ; sodyum ve potasyum laktat ilavesi ile ürünün su aktivitesinin (a_w) düşürülmesi ve bu yolla mikroorganizmaların üremesinin engellenmesidir. İkincisi ise; laktat iyonlarının spesifik etkisidir (52, 86). Aynı a_w 'de, mikroorganizmaların sodyum laktat tarafından sodyum klorüre göre daha çok inhibe edildiği (Şekil 4) belirtilmektedir. Bunun, laktat iyonlarının a_w 'ni düşürme yanında kendisinin antimikrobiyel etkiye sahip olduğu anlamına geldiği ve bu etkinin düşük sıcaklıkta arttığı (Şekil 4) belirtilmektedir (19, 25, 52, 86).



Şekil 4: Farklı ısılarında sodyum laktat ve sodyum klorürün *Streptococcus faecalis*'in gelişimi üzerine etkisi (86).

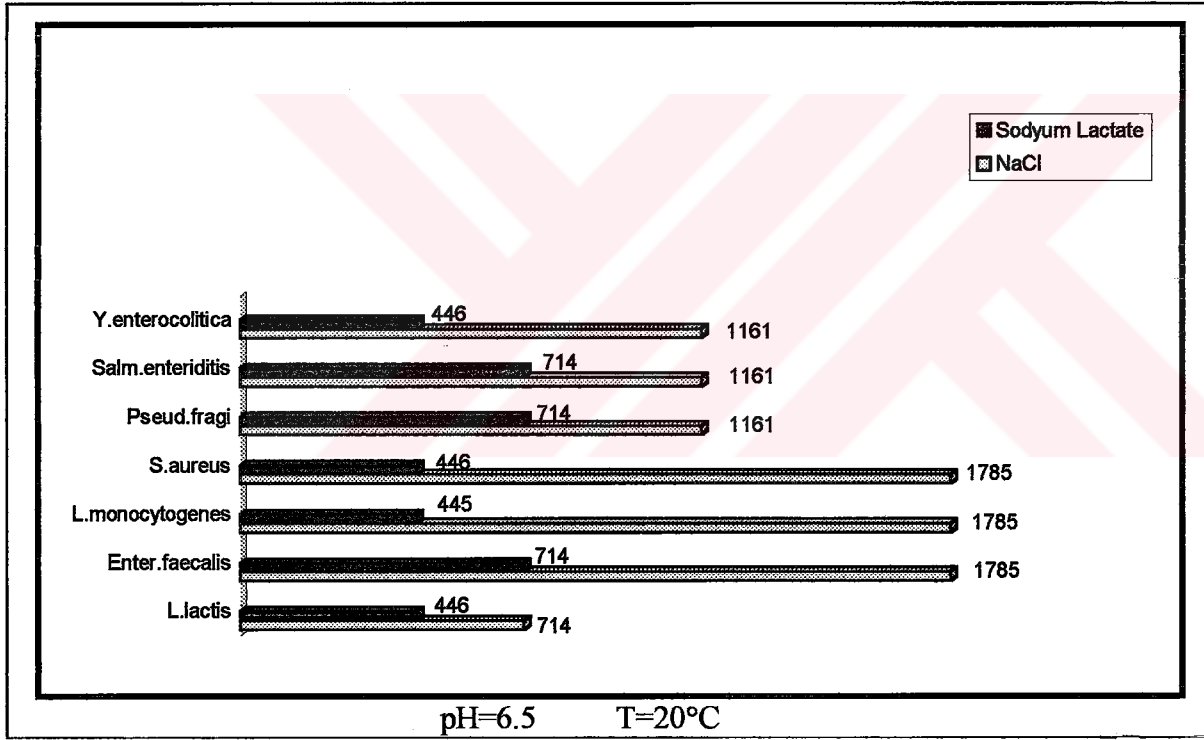
Gıda maddesinde mikroorganizmaların yararlanabildiği formdaki su, o gıdanın su aktivitesi değeridir. A_w değeri bir gıdanın içerdiği suyun buhar basıncının (p), aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına (p_0) oranı olup denge ortamında havanın bağıl neminin (ERH) 100'e oranına eşittir. Yani $a_w = p/p_0 = ERH/100$. Su aktivitesi 0.0 ile 1.0 arasında değişen rakamlar olarak ifade edilmekte ve Higrometre adı verilen alet ile ölçümü yapılmaktadır (91).

Sodyum ve potasyum laktat, suyu bağlama özelliği olan tuzlardır. Bundan dolayı et ve tavuk ürünlerine ilave edildikleri zaman serbest suyu bağlama kabiliyetleri vardır. Laktatlarla ilgili ilk çalışmalar; antimikrobiyel etkinlikleri, suyu bağlama özellikleri ve çoğunlukla su aktivitesini düşürücü etkileri ile ilgilidir. Su aktivitesi, işlenmiş et ve tavuk ürünlerinde çok önemlidir. Laktatlar, et endüstrisinde sadece teknolojik özelliklerden değil, aynı zamanda su aktivitesini düşürücü etkisinden dolayı geleneksel olarak kullanıla gelen, WHO'nün çok tercih ettiği tuzu etkilemeksizin, su aktivitesini düşüren gıda katkı maddesidirler (25).

Chen ve Shelef (23,52) su aktivitesi, laktat ve *L.monocytogenes*'in gelişimi arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada; pişmiş biftekte sodyum laktat ve sodyum klorürün su aktivitesi üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. Eşit molaritede sodyum laktat ve sodyum klorürün su aktivitesini düşürme etkisinin aynı olduğunu, bununla beraber sodyum laktat için minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC), Hostma ve ark. (43)'nün araştırmalarında bildirdiği gibi sodyum klorürün MIC değerinden oldukça düşük olduğunu, etkinin Gram pozitifler üzerine, Gram negatiflerden daha fazla ve özellikle düşük su aktivitesine dayanıklı bakterilere (*L.monocytogenes*, *Eneterecoccus fecalis*, *S.aureus*, *B.thermosphacta*) etkinin dikkat çekici olduğunu açıklamışlardır.

Laktatların antimikrobiyel etkisini sadece su aktivitesi üzerine etkisi ile açıklamak yeterli değildir. Bunun ötesinde sodyum, potasyum ve kalsiyum laktatın örneğin *L.monocytogenes*'in inhibisyonunda eşit etkinliklerinin gözlenmesi (85), laktat iyonlarının etkisinin en makul şekilde izahına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, genellikle nötral pH'lı et ürünlerinde sodyum ve potasyum laktatın etkinliği, iyon etkisi hipotezini

kuvvetlendirmektedir. Pişmiş et ürünlerine ilave edilen sodyum laktat daima tamamiyle dissosiyedir. Bu pH seviyelerinde, antilisterial etki farklı muhafaza sıcaklıklarında (5-20°C) rapor edilmiştir (69). Yeni bir çok çalışma laktat anyon mekanizmasını izah etmek için yapılmıştır. Hostma ve ark. (43) optimum gelişme şartlarında (pH 6.5, 20°C) patojen ve bozulma yapıcı mikroorganizmaların gelişimi üzerine laktatların spesifik inhibitör etkisini gözlemeyi baz alan araştırmalarının, nötral veya nötrale yakın pH seviyelerinde laktat anyon etkisini teyit ettiğini gözlemlemişlerdir (Şekil 5). Den Uijl ve Buric (31) sodyum laktat konsantrasyonu atırıldığı zaman, sodyum laktat iyonlarının spesifik inhibitör etkisinin bariz bir şekilde arttığını bildirmişlerdir (Tablo 2).



Şekil 5: Sodyum laktat ile sodyum klorürün minimum inhibe edici konsantrasyonlarının karşılaştırılması (m/M) (43).

Weaver ve Shelef (85) domuz ciğer sosiste sodyum, potasyum ve kalsiyum laktatın antilisterial aktivitesi üzerine çalışmışlar ve tuzların etkinliklerini, hem buzdolabı, hem de oda sıcaklığında kalsiyum > potasyum > sodyum olarak

bildirmişlerdir Sosislere laktat ilavesi su aktivitesini düşürmesine rağmen bunun, tuzların antilisteriyal aktivitelerini izah etmek için yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Örneğin kalsiyum laktatın %3 ilavesinin, 6.0 olan pH'yı 5.5'e düşürmesi, bu tuzun neden daha fazla antilisteriyal etkiye sahip olduğunu açıklayabildiğini savunmaktadırlar. Sodyum laktatın tuzlu tadı giderdiği ve sodyum klorür ile birlikte kullanıldığı zaman, su aktivitesi üzerine daha çok etki ettiği ve ürünlerin raf ömrünü daha fazla arttırdığı ileri sürülmektedir (7).

Tablo 2: Laktat iyonlarının spesifik inhibitör etkisi (31).

MİKROORGANİZMALAR	1000 adet/ ml SAYIYA ULAŞMA SÜRESİ (h)			
	%0 NaL	%1 NaL	%2.5 NaL	%4.8 NaL
<i>Escherichia coli</i>	30	49	31	93
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	103	142	140	149
<i>Micrococcus spp.</i>	26	25	53	>68
<i>Lactobacillus spp.</i> (heteroferm.)	39	44	50	115
<i>Lactobacillus spp.</i> (homoferm.)	37	45	45	>96
<i>Leuconostoc spp.</i>	24	26	34	27
<i>Bacillus cereus</i>	27	53	65	>116
<i>Proteus morganii</i>	48	34	36	55
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25	28	51	69
<i>Saccharomyces uverium</i>	130	165	125	151
<i>Staphylococcus aureus</i>	31	32	49	55
<i>Streptococcus faecalis</i>	13	15	18	18
<i>Salmonella typhimurium</i>	17	21	22	32
Su aktivitesi (A _w) : 0.97 pH : 7.0				

2.4.4. Et Ürünlerinde Sodyum ve Potasyum Laktat Kullanımı

Taze ve pişirilmiş et ve tavuk ürünlerinde laktat kullanılarak, raf ömrünün %30-150 daha fazla uzatılabileceği bildirilmektedir. Raf ömrünü uzatabilmenin, ürünün tipine (çiğ, pişmiş et, kürlenmiş yada kürlenmemiş, tütsülenmiş yada tütsülenmemiş) ve daha çok proses ve uygun floraya bağlı olduğu ileri sürülmektedir (43). Laktatların et-tavuk ve ürünleri gibi %5'i su fazından oluşan gıdalarda, bakteriyel flora üzerine daha fazla etkinlik alanına sahip oldukları için, mikrobiyel kalitenin gelişmesine yardımcı oldukları ve böylece genel kaliteyi geliştirdikleri bildirilmiştir (25). Ayrıca ısı işlemi görmüş et ürünlerinin, sıklıkla ısı işleminden sonra dilimleme yada paketlenme işlemi sırasında elle temasının söz konusu olduğu, bundan dolayı nitrit, tuz ve soğuk muhafaza uygulamalarına rağmen, kontrolü güç olan bir rekontaminasyon riski taşıdıkları belirtilmektedir (52).

Bunun yanında sosis yada hamburger gibi prezervatif içermeyen ve ısıtılmamış et ürünlerinin de sınırlı raf ömrüne sahip olmakla beraber, patojen mikroorganizmaları içerme riski taşıdıkları bildirilmiştir (25).

Sodyum laktat ilavesi, ne ürünü ne de uygulanan işlemi değiştirmeksizin onların mikrobiyel kalite ve güvenliğini artırır (25). Koos (19, 52) laktat iyonlarının inhibisyon etkisini, pişmiş janbonlarda yaptığı endüstriyel bir çalışmada araştırmış; daha fazla sodyum klorür kullanmak suretiyle su aktivitesi düşürülerek raf ömrünün uzatılabileceğini, fakat fazla tuz yerine %1 sodyum laktat kullanılarak, raf ömrünün daha fazla uzatıldığını ve aynı su aktivitesi değerinde etkinin iki kat arttığını saptamıştır (Tablo 3).

Tablo 3: Pişirilmiş jambon'da sodyum laktat ile sodyum klorürün raf ömrüne etkilerinin karşılaştırılması (52).

<u>NaL (%)</u>	<u>NaCl (%)</u>	<u>a_w</u>	<u>Raf Ömrü(gün)</u>
2.2	—	0.970	30
2.7	—	0.965	45
2.2	1.0	0.965	60

Sodyum laktatın öncelikle jambon, sosis, ezme ve hindi budu gibi et ürünlerinde, soğuk muhafazayı uzatmak için uygulandığı bildirilmektedir. Bu ürünlerde bozulma yapan floranın, dominant olarak psikrofil laktik asit bakterilerinden oluştuğu ve gerçekten sodyum laktat kullanılarak, bu ürünlerde raf ömrünün 1-2 hafta uzatıldığı belirtilmektedir (52, 86). Debevere (30) ciğer ezmesinde farklı seviyelerde uygulanan sodyum laktatın, bakteriyel gelişme üzerine etkisini araştırmış; %1 ve %2 sodyum laktat ilavesi ile raf ömründe bariz bir şekilde artış kaydedildiğini bildirmiştir.

Et ve tavuk ürünlerinde, raf ömrünü uzatmaktan ziyade daha önemli olan problem, patojenlik gelişme ve toksin oluşturmaktır. Sodyum ve potasyum laktatın, mikrobiyel gelişmeyi inhibe ederek ve toksin üretimini önleyerek, patojenik bakterilere karşı etkinliklerini yeterince ispat ettikleri belirtilmektedir. Laktatların et ve balık ürünlerinde özellikle *Enterobacteriaceae* (*Salmonella* spp.gibi), *L.monocytogenes*, *C.botulinum* gibi patojen mikroorganizmalara, inhibisyon etkisine sahip olduğunun giderek belirginleştiği bildirilmektedir (25, 52).

Houtsma ark. (43) et ürünlerinde görülen patojen ve bozulma bakterileri için sodyum laktatın minimum inhibe edici konsantrasyonunu (MIC) araştırmışlar, genelde Gram pozitif bakterilerin laktatlara karşı Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle 0.95 ve altındaki su aktivitelerinde gelişebilen *S.aureus*, *L.monocytogenes*, *B.termosphacta* gibi bakteri türlerinin sodyum laktatla inhibe edilebildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar mayaların, yüksek sodyum laktat seviyelerine dayanıklı olduğunu, bununla birlikte sodyum klorürle karşılaştırıldığında, sodyum laktatın bu organizmaların gelişimi üzerine spesifik inhibitör etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, ulaştıkları sonuçların gıda maddelerine laktat ilavesinin, nötral bir pH ile beraber, raf ömrü uzatılması için iyi umutlar vadettiği görüşünde birleşmişlerdir.

Breuer ve ark. (16) aerob paketlenmiş domuz eti ezmesinde, sodyum laktat/sodyum klorürün aerob mezofil mikroorganizmalar ve renk üzerine etkilerini araştırmışlar; aerob mezofil mikroorganizmaların, %3 sodyum laktat ilave edilen ve sodyum klorür içermeyen örneklerde en iyi kontrol edildiğini, fakat %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde maksimum baskılama için % 1.5 –2 sodyum klorür ilavesine

ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir. Sodyum laktat ilave edilmediği takdirde, maksimum aerob mezofil mikroorganizma redüksiyonu için %3 sodyum klorüre ihtiyaç duyulduğunu, yüksek mikrobiyel yüke sahip olan domuz etlerinde aerob mezofil mikroorganizmaları baskılamak için maksimum seviyede sodyum laktat ve sodyum klorür gerektiğini, bunun da renkte istenmeyen etkilere neden olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, ürünlerin raf ömrü süresince niteliklerini sürdürürebilmeleri için et işleme esnasında da yüksek sanitasyon standartlarına uymanın önemine işaret etmişlerdir.

Vaamonde ve ark. (83) sodyum laktat, sodyum asetat ve erythritol veya xylitol kullanmak suretiyle su aktivitesinin düşürülerek *S.aureus* C-243'ün aerobik gelişimi için, gelişme kabiliyeti ve su aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemişler; su aktivitesini düşürmek için sodyum laktat kullanıldığı zaman, 30°C'de 10 günlük inkübasyondan sonra, a_w 0.90'da gelişme gözlemleyemediklerini bildirmişlerdir.

Laktik asitin tuzlarından, damak tadına olumsuz bir şekilde etki etmeksizin, et ürünlerinin bir çoğunda bakteriyostatik ajan olarak faydanılabileceği ve sodyum (15, 53) ile potasyum (14, 33) laktatın raf ömrünü uzatmak için bu amaçla kullanıldığı belirtilmiştir.

Egbert ve ark. (33) az yağlı, karides parçalarına %2 veya %3 potasyum laktat ilavesi ile, duyuşal özelliklerde istenmeyen etkiler oluşturmaksızın, bakteriyel gelişmenin engellendiğini açıklamışlardır.

Soğuk muhafaza koşullarında sodyum laktat, bariz bir şekilde bakterilerin gelişimini inhibe etmesine rağmen, çok hızlı üreyen bakterilerden biri olan *E. coli*'nin, sodyum laktattan çok az etkilendiğini belirtilmektedir (86). Planken ve ark. (65) Amerikan fletö'da *E.coli* 0.157:0.7'nin hayatta kalması üzerine laktat, asetat ve laktoperoksidaz'ın etkisini araştırmışlar; %1 ve %2'lik sodyum laktat konsantrasyonlarının ilk 5 gün içinde *E.coli* 0.157:0.7'nin seviyesi üzerinde kayda değer bir redüksiyon sağlamadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, asetat ve laktoperoksidaz ilavesinin de başarısızlıkla sonuçlandığını açıklamışlardır.

Ancak son zamanlarda, endüstriyel anlamda sodyum laktatın *E.coli*'yi inhibisyonunda olumlu sonuçlar elde edildiği belirtilmektedir. Günümüzde, endüstriyel

tecrübeler neticesinde bir çok taze üründe ve pişirildikten sonra işlem görmüş et ve tavuk ürünlerinde, sodyum laktatın *E.coli*'ye karşı oldukça etkili olduğu ileri sürülmektedir (25).

Grau (37) dana etinde bazı fermentatif Gram negatif bakterilerin gelişmesinin kontrolünde pH, laktat ve anaerobiosis'in rolünü araştırmış; etin laktat içeriği ve pH'sının, *B.thermosphacta* gibi fermantatif Gram negatif bakterilerin gelişmesini kontrol etmede önemli faktör olduklarını bildirmiştir.

Laktatlar, özellikle korkulan iki önemli patojen; *L.monocytogenes* ve *C.botulinum*'un ihbibisyonunda etkinlikleriyle en iyi antimikrobiyel madde olma özelliğine sahiptir (25).

L. monocytogenes'in son zamanlarda et ürünlerinde artan öneminin; onun aynı anda ette ve et işleme zincirinin her evresinde bulunuşundan ve düşük su aktivitesi gibi antimikrobiyel engellere karşı şaşırtıcı direncinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Buzdolabı sıcaklığında gelişme kabiliyetlerinin listeriyaları, özellikle et ve et ürünlerinde tehlikeli kıldığı, *L.monocytogenes*'in kürlenmiş ve kürlenmemiş ürünlerle beraber, taze et, pişirilmiş et ve tavuk ürünlerinde bulunduğu belirtilmiştir. İhmal edilebilir çok düşük seviyelerde bile son üründe bulunduğu zaman, özellikle laktik asit bakterilerini inhibe edip, laktik asit üretimini durdurmak suretiyle kendi gelişimi için optimum ortam oluşturduğu bildirilmektedir. Laktik asitin antilisterial etkisinin çok iyi bilindiği ve son zamanlarda laktatların etkinliğini inceleyen bir çok çalışma yapıldığı belirtilmektedir (23, 43, 85). Sodyum klorürün yüksek dozlarının, su aktivitesini düşürerek listeriyaları inhibe etmek için yeterli olduğu, fakat son ürünün kalitesini çok olumsuz etkidiği ileri sürülmektedir. Sodyum klorür ile sodyum veya potasyum laktat kombinasyonunun, listeriaları inhibe etmek için çok etkin bir yol olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yüksek dozda sodyum laktatın, listeriaları öldürücü bir etki gösterdiği açıklanmıştır. Piştikten sonra elle muamele gören et ve özellikle tavuk ürünlerinin listeriya kontaminasyonuna çok duyarlı olduğu ve laktatların son ürünün güvenilirliğine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (25).

Miller ve Acuff (57) sodyum laktatın patojen bakterilere etkisini %1-2-3 ve 4 sodyum laktat içeren pişmiş dana eti örneklerinde *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *S.typhimurium*, *C.perfringens* ve *E.coli* gibi patojenler üzerinde araştırmışlar; kontrol grubu ve %2'lik sodyum laktat içeren rostalarla karşılaştırıldığında, %3 ve %4 sodyum laktat içeren örneklerde genellikle *S.typhimurium*, *L.monocytogenes* ve *E.coli*'nin proliferasyonunun düşük olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmacılar, 10°C'de vakum paketlenmeye tabi tutulan kontrol ve %2 sodyum laktat içeren rostalarla karşılaştırıldığı zaman, bu üç mikroorganizma üzerine sodyum laktatın %3 ve %4'lük konsantrasyonlarda oldukça prezervatif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Papadopoulos ve ark. (62, 63) %3'lük sodyum laktatın pişmiş ve kürlenmiş rostalarda bakteriyostatik ajan ve lezzet düzeltici olarak kullanmak için optimum seviye olduğunu bildirmişlerdir. Çünkü lezzet palanistleri tarafından örnekler değerlendirildiğinde, sodyum laktat oranını %4'e çıkarmanın hafif boğaz yanmasına sebep olduğu veya ağızda sodyum laktat tadı olduğu bildirilmiştir. Bundan dolayı, gıda güvenliği ve duyuşal özelliklerin etkilenmemesi için %3 sodyum laktat, pişmiş ve kürlenmemiş dana eti ürünlerinde, izin verilebilen en yüksek seviye olarak tavsiye edilmiştir.

Shelef ve Potluri (71) pişmiş domuz çığır sosis üzerinde yaptıkları bir araştırmada; laktatların antimikrobiyel aktivitesinin, bu patojen diğer Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olmakla beraber, *L.monocytogenes* ile sınırlı olmadığını bildirmişlerdir. Diğer özelliklerine ek olarak laktatların, et ürünlerinin raf ömrü ve güvenliğine katkıda bulunduğunu açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar kalsiyum laktatın, sodyum laktattan daha çok inhibitör etkiye sahip olduğunu bildirmişler ve kalsiyum iyonundan ziyade laktat iyonlarının temel antimikrobiyel faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Qvist ve ark. (61) ise sosislerde *L.monocytogenes*'in gelişimini engellemek için kontrol, %2 sodyum laktat, %2 sodyum laktat ve %0.25 glukano-delta-lakton (GDL) ile %2 sodyum laktat ve %0.50 GDL içeren sosis örnekleri hazırlayarak, 5 ve 10°C'de 35 gün süreyle muhafaza etmişlerdir. Beş °C'de muhafaza edilen kontrol ve sadece laktat içeren 10°C'de muhafaza edilen sosis örneklerinde, *L.monocytogenes*'in hızlı gelişme gösterdiğini gözlemlemişlerdir. 5 ve 10°C'de muhafaza edilen ve GDL içeren sosislerde 35 gün içinde gelişme gözlemlenmediğini, böylece ürün pH'sının 6.3 gibi yüksek bir

değer olmasına rağmen *L.monocytogenes*'in gelişmesini önlemek için GDL'nin düşük seviyelerde varlığının bile yeterli olduğunu görmüşlerdir. %2 sodyum laktat içerip GDL içermeyen örneklerde, 5°C'de gelişmenin 28 gün baskılanabildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar, pH düşürme işlemi ile birlikte, sodyum laktatın uygun miktarlarının kullanılmasıyla, pişirilmiş ve soğutulmuş et ürünlerinde *L.monocytogenes*'in gelişiminin baskılanabildiğini belirtmişlerdir.

Houstma ve ark. (41) bologna tip sosislerde *L.innocua*'nın gelişme oranı üzerine sodyum laktat, pH ve temperaturün kombine etkisini araştırmışlar ve gelişme oranı üzerine sadece tuz konsantrasyonunun değil, aynı zamanda pH ve temperatur gibi değişkenlerin de etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarının, sodyum laktatın antimikrobiyel aktivitesi üzerine odaklandığını bildirmektedirler.

Yine laktatlar şöhretlerini antiklostridial etkilerine borçludurlar. Vakum paketlenme gibi anaerobik ortamlar, *C.botulinum* ve dolayısıyla botulinik toksin için çok duyarlıdır. Nitritlerin antiklostridik etkileri olduğu çok iyi bilinmekle beraber, beyaz et ürünlerinde istenmeyen kürlenme etkilerinden dolayı sağlık ile ilgili endişeler, alternatif veya sinerjistik ajanlara talebi doğurmuştur. Sodyum laktatın antiklostridik etkisi detaylı olarak araştırılmıştır (25).

Maas ve ark. (54) laktat ve sodyum iyonlarının, botulinik toksin üretimine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar sodyum laktatın botulinik toksin üretimini önlediğini bildirmişler; sodyum konsantrasyonundan ziyade, laktat konsantrasyonunun temel antibotulinik faktör olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak sodyum laktatın *B.cereus* popülasyonu ve spor germinasyonunu etkilemediği belirtilmektedir (79).

Houstma ve ark. (42) proteolitik *C.botulinum*'un toksin oluşturma, spor germinasyonu ve ısıya dayanıklılığı üzerine sodyum laktatın etkisini araştırmışlar; sodyum laktatın inhibitör etkisinin uygulanan inkübasyon sıcaklığına bağlı olduğunu ve en iyi inhibisyonun düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğini açıklamışlardır. Toksin üretiminin 15 ve 20°C'de sırasıyla %2 ve %2.5 sodyum laktat konsantrasyonlarıyla önlendiğini, toksin üretiminin tamamen inhibisyonunun 15-20 ve 30°C'lerde sırasıyla %3, %4 ve >%4 sodyum laktat konsantrasyonlarında olduğunu, ayrıca sodyum

laktatın *C.botulinum* sporlarının germinasyonunu inhibe ettiğini ve bunun da üreme ve sporlaştırma üzerine sodyum laktatın spesifik inhibitör etkisiyle açıklanabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan araştırmalar neticesinde, özellikle buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi gereken ürünlerde, sodyum laktatın *C.botulinum* inhibisyonunda umut verici bir madde olduğu sonucuna varmışlardır.

Laktatlar renk ve tekstürde de pozitif etkiye sahiptirler. Renk üzerine etkinin, pH stabilitesi ve miyogloblin denetürasyonuna hipotetik koruma etkisi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Çiğ et ürünlerinde renk kararması, yüksek pH değerine bağlıdır. Ayrıca sodyum laktatın, laktik asit bakterileri inhibitör ajanı gibi etki ederek, renk stabilitesini önemli derecede elverişli ettiği ve muhafaza şartlarında pH düşmesini önlediği belirtilmektedir. Pişirilmiş ürünlerde, renk gelişme mekanizması daha komplikedir. Genelde laktatların, antioksidan sinerjistleri gibi etki ettiği (pişmiş jambon gibi kürlenmiş et ürünlerinde), böylece üründe daha iyi renk stabilitesi sonucuna ulaşıldığı savunulmaktadır (25).

Laktatların tekstür üzerine etkisi yeni yeni tartışılmaya başlanmıştır. Papadopoulos ve ark. (52) sodyum laktatın pişirilmiş etlerin duyu özellikleri üzerine etkisini, onun tekstür üzerine etkisini de dikkate alarak değerlendirmiş ve istenmeyen etkilerin sodyum laktat tarafından engellendiğini bildirmişlerdir. Tamamen anlaşılacakla birlikte yumuşaklıktaki artışın, sodyum laktat ilavesi ile sistemin iyonik gücünün artması ile bağlantılı olduğu ileri sürülmektedir.

Cubina (25) sodyum laktat ilave edildiği zaman, bir çok et ürününün yumuşaklığında bir artış meydana geldiğini bildirmiştir.

Papadopoulos ve ark. (62) muhafaza esnasında pişirilmiş dana etinin mikrobiyal ve kimyasal kompozisyonuna sodyum laktatın etkisini araştırmışlar; pişmiş, soğuk muhafazaya alınmış, vakum paketlenmiş ve orijinal ağırlığının %3 ve %4'ü sodyum laktat ilave edilen örneklerin, 84 günden fazla raf ömrüne sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sodyum laktat seviyesindeki artış, rostalarda daha az aerob mezofil mikroorganizma sayısı ve daha yüksek laktik asit konsantrasyonu ile sonuçlandığını, laktik asit ölçümlerinin sonuçlarından, çiğ ette adsorbe edilebilen sodyum laktat seviyesinin maksimum %3 olduğunu bildirmişlerdir.

laktik asit ölçümlerinin sonuçlarından, çiğ ette absorbe edilebilen sodyum laktat seviyesinin maksimum %3 olduğunu bildirmişlerdir.

Yine Papadopoulos ve ark. (63) sodyum laktatın duyuşal karakterler, pişmiş etin renk ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Damak tadı nitelikleri, %1 sodyum laktat ilavesi ile gelişmiş, fakat seviyedeki artış duyuşal özelliklere daha fazla etki etmediğı görülmüştür. Rostoların kızarıklığı subjektif olarak ölçülmüş, %2 sodyum laktat seviyesinde maksimum olmuştur. Sodyum laktat seviyesindeki artışla, açık renklilik ve sarılık azalmıştır. Muamele gören örnekler görmeyenlerden daha kırmızı fakat %1 sodyum laktat ilavesi üzerindeki artışların, kırmızılıkta daha fazla artış sağlamadığını gözlemişlerdir. Araştırmacıların oluşturduğu panalistler, %4 sodyum laktatla muamele edilen rostolarda muhafazanın 56. gününden önce hafif bir boğaz yanması belirlemişlerdir. Bu iritasyon, daha düşük sodyum laktat seviyelerinde muhafazanın sonuna kadar belirtilmemiştir. Pişmiş rostolarda kullanılan sodyum laktat seviyesinin oranını belirlemek için müşteri çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Kullanılan sodyum laktat seviyeleri ve işleme prosesleri ile sodyum laktatın 0°C'de 84 gün boyunca pişmiş rostoların kimyasal pozisyonu, renk ve diğer karakterleri üzerine olumsuz etkisi görülmeyişini bildirmişlerdir. Bilakis, WHO tarafından belirtilen lezzetlilik testleri ile yapılan değerlendirme ile lezzetin, tazelikte birleştiğı daha iyi ürün elde edildiğini belirtmektedirler.

Breuer ve ark. (16) aerop paketlenmiş domuz eti ezmesinde, sodyum laktat/sodyum klorürün aerob mezofil mikroorganizma ve renk üzerine etkilerini araştırmışlar; kırmızı rengin düşük mikrop yüküne sahip olan %3 sodyum laktat ve %0.5 ile %2 sodyum klorür ilave edilen domuz etinde en iyi olduğunu; yüksek mikrobiyel yüke sahip olan domuz etlerinde aerob mezofil mikroorganizma sayısını baskılamak için maksimum seviyede sodyum laktat ve tuz gerektiğini, bunun da renkte istenmeyen etkilere neden olduğunu belirtmişlerdir.

Lamkey ve ark. (53) taze domuz sosiste sodyum laktat kullanımını araştırmış; yüzeysel renk değışiminin ve arzu edilmeyen gelişmelerin azaltıldığını, mikrobiyel gelişmenin lak fazının sodyum laktatla 10 günden 20 güne uzatıldığını belirtmişlerdir.

Brewer ve ark. (15) %2 veya %3 sodyum laktat ilavesinin, taze domuz sosisin mikrobiyel bozulma, pH düşüşü ve 4°C'de 7 ila 10 gün ekşi ve kötü tat oluşumunu önlediğini, %1 oranında ilave ile bile kırmızı renk oluşumunun sağlandığını ve domuz lezzeti ve tuzlu lezzeti düzelttiğini bildirmişlerdir.

Amerika'da FDA, GRAS olarak sodyum ve potasyum laktata izin vermiştir. Nnana ve ark. (58) sodyum laktatın bir çok et ve tavuk ürününün duyuusal özelliklerini düzelttiğini ileri sürmektedirler. Laktatların lezzet düzenleme karakterleri iki ana faktöre dayandırılmaktadır (25);

- Et, balık ve tavuk ürünlerinin doğal bileşenleri olmaları.
- Antioksidan özellikleri.

Sodyum laktatın yararlı antioksidan etkisi çiğ dana ve domuz etlerinde de bildirilmiştir (25). Sodyum laktatın potansiyel inhibisyon etkisi Nnana ve ark. (58) tarafından domuz etinde çalışılmış; antioksidan aktivitesini oksijeni baskılayarak gerçekleştirdiği kanıtlanmıştır.

Pratik koşullardan elde edilen bilgilere göre; laktatların antioksidan özelliklerini, onların pişmiş ürünlerde istenmeyen kötü lezzetleri maskeleyerek, maskeleyici ajanlar gibi etki etmelerinden ve böylece oksidasyonu kontrol etmek suretiyle, taze et ürünlerinin tazeliğini sürdürmesini sağlayarak gerçekleştirdikleri bildirilmektedir. Son zamanlarda sodyum ve potasyum laktatın antioksidan etkisini araştırmak için bir çok endüstriyel denemelerin yapıldığı kaydedilmektedir (62).

Sodyum laktatın et ürünlerinde su tutma kapasitesini de arttırdığı ve pişirilmiş ürünlerde sızma ile olan kayıpları en aza indirdiği bildirilmektedir. Bu işlevini;

- ⇒ Miyofibrillar proteinlerin çözünürlüğünde artış sağlamak suretiyle sistemin iyonik dayanıklılığını arttırarak,
- ⇒ özellikle taze et ürünlerinde tamponlama kapasitesini arttırarak,
- ⇒ yumuşaklık sağlayıcı özellikleri arttırarak gerçekleştirdiği belirtilmektedir.

Bu üç faktörün birleşmesi sonucunda, fosfat ilave edilmese bile, örneğin taze et ve tavuk ürünlerinde sızmayı azaltmak suretiyle pişirilmiş tuzlu ürünlerin pişirilmeye karakterlerini arttırması, sodyum laktatın etkisini açıklamaya yardımcı olmaktadır (25).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Köfte Örnekleri

Araştırmada kullanılan İnegöl köfte örnekleri, özel bir köfte imalathanesinde ve İ.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Et İşleme Ünitesi'nde deneysel olarak hazırlanmıştır. İnegöl köfte yapımında yaklaşık olarak toplam 20 kg. dana ve 5 kg kuzu eti ile 5 kg. iç yağı kullanılmıştır. Kullanılan baharatlar, soya proteini, kazeinat ve askorbik asit gibi maddeler de bu özel imalathane tarafından sağlanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasal Maddeler

- Plate Count Agar (Merck, 1.05463)
- Pseudomonas Agar Base (Oxoid, CM 559)
- C-F-C Selective Supplement (Oxoid, SR 103)
- V.R.B (Violet Red Bile) Agar (Merck, 1.01406)
- Baird-Parker Agar (Merck, 1.05406)
- Perfringens (TSC ve SFP) Agar Base (Oxoid, CM587)
- Perfringens (TSC) Selective Supplement (Oxoid, SR 88)
- Bacto YM Agar Difco (Difco, 0712-17)
- Tamponlanmış Peptonlu Su
- %60'lık Sodyum laktat (Food Additive E 325)
- Egg Yolk - Tellurite Emulsion (Oxoid, SR 054)
- Egg Yolk Emulsion (Oxoid, SR 47)
- Gas Generating Kit (Oxoid BR 038)
- Tartarik asit
- Fosfotungstik asit
- Sodyum sülfat
- Sodyum hidroksit
- N-butanol

- Brom
- Timol
- Baryum klorür

3.1.3. Alet ve Gereçler

İnegöl köfte yapımı için; 3 numaralı aynası olan kıyma makinesi, köfte hamurunu karıştırma makinesi , köfteye şekil vermede kullanılan alet, plastik kap ve diğer malzemeler kullanıldı.

Köftelerin mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri için, İstanbul Büyükşehir Belediyesi Sağlık Daire Başkanlığı Bakteriyoloji ve Kimya Laboratuvarı'nda bulunan Anaerobik Jar (Merck), Stomacher (İUL), Su Aktivitesi Ölçüm Aleti, Hassas Terazî (Ohaus), Etüv (Elektro-Mag), Otoklav, Spectrophotometer (Shimadzu), cam ve diğer laboratuvar malzemelerinden yararlanıldı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1 . Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Hazırlanması

İnegöl köftenin hazırlanmasında, % 71 dana ve % 12 kuzu eti, daha yumuşak ürün elde edebilmek için % 18 iç yağı ile karıştırılarak, 3 numaralı ayna takılı olan kıyma makinesinde çekildi. Hazırlanan kıymaya ilk aşamada tuz, galeta unu, askorbik asit, kazein, ve sarımsak sırasıyla %1.5, %10, %0.05, %1, %0.15 oranında, baharatlardan kimyon, karabiber, kırmızı biber ve yenibahar ise sırasıyla, %0.6, %0.25, %0.15, %0.2 oranlarında ilave edilerek 10-15 dakika karıştırma makinesinde iyice karıştırıldı. Karışım ikinci kez tekrar kıyma makinesinde çekildi.

İkinci aşamada 7/9 oranında sulandırılan soya proteini ve %5 soğan karışımı ilave edilerek bir kez daha kıyma makinesinden geçirildikten sonra homojen bir hal alıncaya kadar yoğruldu. Karıştırma işlemi kolaylaştırmak için % 0.7 su ilave edildi. Böylece köfte hamuru hazırlanmış oldu.

Hazırlanan köfte hamuru 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu, diğer gruplar ise sırasıyla %0.5, %1 ve %2 oranlarında sodyum laktat içerecek şekilde %60'lık food grade sodyum laktat solüsyonundan ilave edilerek iyice karıştırıldı. Hazırlanan örneklere, İnegöl köfte kalıplarında şekil verilerek (1.5x1.5x10cm), 4'erli gruplar halinde plastik kaplara yerleştirildi ve streç folyo ile kaplanarak ambalajlandı.

Her gruptan birer örnek, organoleptik, mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri yapılmak üzere ayrıldı. Diğer köfte örneklerinin yarısı, muhafazanın 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde analiz edilmek üzere +4°C'de soğuk muhafazaya alındı. Diğer yarısı ise dondurularak, muhafazanın 15., 30., 45., 60. ve 90. günlerinde analiz edilmek üzere -18°C'de derin dondurucuya yerleştirildi.

Deneyisel köfte üretim denemesi farklı tarihlerde 3 defa tekrarlandı.

3.2.2. İnegöl Köfte Örneklerinin Laboratuvar Analizleri

3.2.2.1. Mikrobiyolojik Analizler

Köfte örneklerinden steril şartlarda 10'ar gram steril poşetlere alındı. Daha sonra 90 ml steril peptonlu su ilave edilerek stomacherde homojenize edildi. Elde edilen ana dilusyondan 10⁻⁹ basamağına kadar seri dilusyonlar hazırlandı.

Bakteri kolonilerinin sayımları, yüzey veya dökme plak yöntemleri ile çift paralelli çalışılarak, uygun inkubasyon sıcaklığı ve süresi sonunda 30-300 koloni içeren plakların değerlendirilmesi ile yapıldı (42).

3.2.2.1.1. Toplam Aerop Mezofil Mikroorganizma Sayımı

Toplam aerop mezofil mikroorganizma sayısının belirlenmesinde, genel amaçlı ve standart analizlerde en yaygın kullanım alanı bulan, Plate Count Agar (PCA) kullanıldı. Dilusyonu hazırlanan numunelerin, uygun dilusyonlarından dökme plak yöntemi ile paralelli olarak ekimleri yapıldı. 30°C'de 48 saat inkube edilerek, 30 ile 300 arası koloni içeren plaklar değerlendirildi (1, 40).

3.2.2.1.2. Psikrofil Bakteri Sayımı

Toplam psikrofil bakteri sayımı için de genel besi yeri olan PCA kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 4°C'de (buzdolabı şartlarında) 7 gün inkubasyona tabi tutularak değerlendirildi (1).

3.2.2.1.3. *Pseudomonas* spp. Sayımı

Bu amaçla selektif bir besi yeri olan *Pseudomonas* CFC Agar kullanıldı. Yayma yöntemi ile uygun dilusyonlardan ekimi yapılan plaklar, 25°C' de 24 saat inkube edilerek değerlendirildi (17).

3.2.2.1.4. Koliform Bakteri Sayımı

Koliform grubu bakterilerin izolasyonu amacı ile besi yeri ortamı olarak, Violet Red Bile (VRB) agar kullanıldı. Dökme yöntemi ile ekimi yapılan besi yeri plakları, 37°C' de 24 saat inubasyondan sonra değerlendirildi (1, 9).

3.2.2.1.5. *Staphylococcus aureus* Sayımı

S.aureus'un sayımında besiyeri olarak Baird-Parker Agar (BPA) kullanıldı. Bu besi yeri, yumurta sarısı emulsiyonu ve potasyum tellurit içeren selektif bir besiyeridir. Yayma yöntemi ile ekimi yapılan besi yeri plakları, 37°C'de 48 saat inkube edildi. İnkubasyonun 30. ve 48. saatlerinde değerlendirme yapıldı (10, 82).

3.2.2.1.6. *Clostridium perfringens* Sayımı

Bu amaçla oldukça selektif bir besi yeri olan Trypton Sulphite Cycloserine (TSC) Agar kullanıldı. İçinde 10-15ml besi yeri bulunan petri kabına, 0.1ml uygun dilusyondan dökülerek drigalski spatülü ile yayıldı. Yayılan sıvı iyice absorbe olduktan sonra, üzerine tekrar 10 ml TSC agar döküldü. Kuruduktan sonra petriler anaerobik jar'a yerleştirilip, Gas Generating Kit kullanılarak anaerobik şartlar oluşturuldu ve 37°C' de 24 saat inkube edildikten sonra değerlendirildi (1, 17, 88).

3.2.2.1.7. Küf - Maya Sayımı

Küf - maya sayımında, %10'luk tartarik asit çözeltisi ile pH'sı 3.5'e ayarlanan Yeast and Mould Agar (YMA) kullanıldı. Plak yayma yöntemi ile ekim yapılarak, 25°C'de 5 gün inkubasyona tabi tutuldu. Inkubasyon sonunda değerlendirmeler yapıldı (1, 8).

3.2.2.2. Su Aktivitesi Tayini

Su aktivitesi ölçüm aletiyle yapıldı (91). lm yapılmadan önce, aletin 20°C'de ölçüm yapacak şekilde ayarı yapıldı. Bunun için:

4 adet filtre kağıdı örnek kaplarına yerleştirildi.



Filtreler doyuncaya kadar kaplara BaCl₂ eriği döküldü.



Elektrot kaba sokuldu ve döndürerek kapatıldı.



3 saat sonra elektrot, su aktivitesi yönünde 0.90'a ayarlandı.



Ayarlama işleminden sonra kap iyice yıkandı ve conta tekrar yerleştirilerek alet ölçüme hazır hale getirildi.



Su aktivitesinin 15-25°C arasında ölçümü için contanın alt kısmına kadar örnek kaba yerleştirildi .



Ayarlanan elektrot üzerine sıkıca kapatıldı.



3 saat sonra su aktivitesi okundu.



Kap iyice temizlendikten sonra conta tekrar yerleştirildi.



20°C'deki değerler aynen alınıp, 20°C'nin civarındaki (15-25°C) değerlerde, her °C için 0.002 ekleme yapılarak yada çıkarılarak ayarlama yapıldı.

3.2.2.3 Amonyak Tayini

Köfte örneklerinde kokuşmanın tespiti için, spektrofotometrik olarak kantitatif amonyak tayini yapıldı (88).

Bunun için, gerekli reaktifler hazırlandıktan sonra 5'er gram örnek, cam kapaklı erlenlere kondu ve üzerine %2.5'luk fosfotungstik asit çözeltisinden 45'er ml ilave edildi.



2 dakika kuvvetlice çalkalandıktan sonra Whatman No:1 süzgeç kağıdından yine cam kapaklı erlenlere süzüldü.



2'şer ml filtrat (0.2 g örneğe eşdeğer) 125ml'lik ayırma hunilerine konuldu. Kör olarak bir ayırma hunisine de 2 ml %2.5 fosfotungstik asit çözeltisi konuldu.



Her bir ayırma hunisine 8 ml distile su ilave edildi. Daha sonra birbiri ardına sırasıyla ve hızlı bir şekilde;



Birer ml dilue NaOH ilave edildi, çevirerek çalkalandı.



2'şer ml Timol çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı.



5'er ml Brom çözeltisi, yaklaşık 30 küçük ilavede katılarak ve her ilaveden sonra çevirerek çalkalandı.



1 dakika kuvvetlice çalkandıktan sonra en az 20 dakika beklenildi.



Her bir ayırma hunisine 20 ml n-butanol ilave edilerek, 1 dakika çalkalandı ve en az 20 dakika beklendi.



Sulu kısım akıtıldıktan sonra n-butanol, sodyum sülfat konulan cam yünü tıpalı hunilerden geçirildi.



Spektrofotometre'de 680 nm'de köre karşı okundu ve hazırlanan standart kurvede değerlendirilerek hesaplamalar yapıldı (88).

3.2.2.4.Duyusal Muayeneler

Köfte örnekleri renk, koku, görünüm ve kıvam bakımından subjektif olarak değerlendirildi. Muhafaza öncesi ve muhafaza süresince gözlenen değişiklikler kaydedildi. Kötü koku, renkte kararırma, köfte yüzeyinin yapışkan bir hal alması bozulma başlangıcı olarak değerlendirildi.



4. BULGULAR

Deneysel olarak %0.5, 1 ve 2 sodyum laktat ilave edilerek hazırlanan İnegöl köfte örnekleri muhafaza periyodu boyunca mikrobiyolojik olarak; toplam aerob mezofil mikroorganizma, psikrofil bakteri, *Pseudomonas* spp., koliform bakteri, *S.aureus*, *C.perfringens* ve küf-maya sayısı yönünden incelendi. Örneklerde ayrıca fiziko-kimyasal olarak su aktivitesi analizleri, kimyasal olarak amonyak tayinleri ve bozulmanın belirlenmesi için duyu analizler yapıldı.

Araştırma 3 defa tekrarlandı ve ortalama değerleri alınarak, bulunan değerler tablo ve grafiklerle gösterildi.

4.1. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinde Muhafazası Sırasındaki Duyusal Değişimler

Köfte örneklerinin duyu analizinde makroskobik olarak görünüm, renk ve koku değerlendirilmiştir. Köfte örneklerinin hazırlanmasından sonra yapılan incelemelerde, kullanılan konsantrasyonlarda sodyum laktatın hissedilebilir renk, koku ve tat değişimine sebep olmadığı görülmüştür. İlk olarak soğuk muhafazanın 4. gününde kontrol grubuna ait köfte örneklerinde hafif koku değişikliği hissedilmiş, diğer örneklerde anormal değişimlere rastlanmamıştır.

Altıncı günde; kontrol grubu örnekleri normal özelliğini kaybetmiş, renkte koyulaşma ve ekşimsi, kesif koku tespit edilmiştir. %0.5 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise rengin tipik özelliğini kaybetmeye başladığı görülmüş ve hafif kokuşma belirtileri kaydedilmiştir.

Sekizinci günde; kontrol grubu örneklerinde gri-yeşil renk değişimi ve ileri derece kokuşma gözlemlenmiştir. %0.5 sodyum laktat ilave edilen örneklerde de kokuşma ve renk değişimi tespit edilmiş, %1 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise renk ve kokuda hafif değişiklikler başlamıştır.

Onuncu günde; kontrol grubunda gri-yeşil renk ve ağır nahoş koku, %0.5 sodyum laktat ilave edilen örneklerde renkte değişiklik ve ağır koku ve %1 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise hafif renk ve koku değişikliği görülmüştür. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerin, muhafazanın 10. gününde kendine has görünüm, renk ve kokuyu muhafaza ettiği tespit edilmiştir.

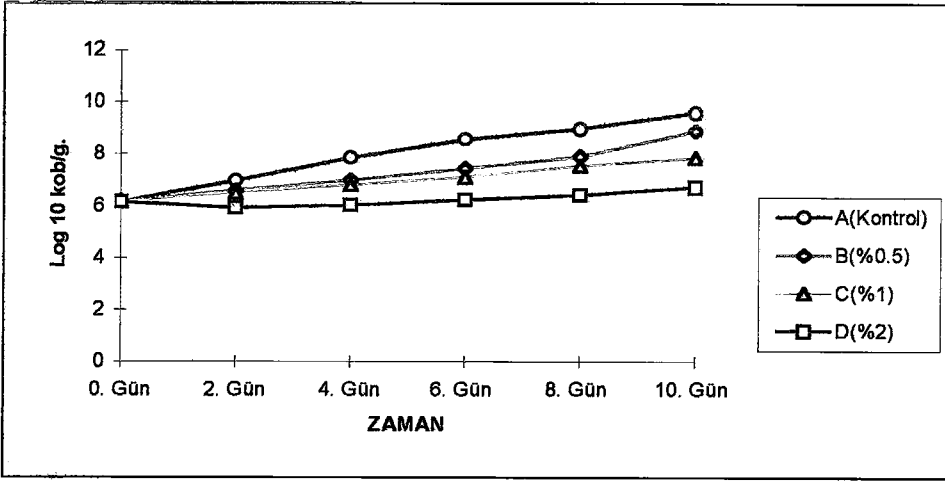
Dondurulmuş muhafazaya tabi tutulan İnegöl köfte örneklerinde, 90 günlük muhafaza süresi boyunca duyuşal olarak olumsuz değişiklikler gözlenmemiştir. Köftelerde yapılan amonyak tayinleri de bunu doğrular niteliktedir.

4.2. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Aerop Mezofil Mikroorganizma Sayısındaki Değişimler

Yapılan mikrobiyolojik analizlerde; soğuk muhafazadaki köfte örneklerinin ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısı kontrol grubunda, örnekler hazırlandığı gün yapılan analizde 1.4×10^6 kob/g. iken, soğuk muhafazanın 10. gününde 3.9×10^9 kob/g. olarak tespit edilmiştir. Sodyum laktat seviyesi arttırıldıkça, mikrobiyal florada azalma gözlemlenmiş ve %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde, hazırlama günü 1.4×10^6 kob/g. olan ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısı, 10. günde 5.2×10^6 kob/g. olarak belirlenmiştir (Tablo 4, Şekil 6).

Tablo 4: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	1.4×10^6	9.5×10^6	7.2×10^7	3.6×10^8	9.2×10^8	3.9×10^9
B(%0.5NaL)	1.6×10^6	3.9×10^6	1.0×10^7	2.9×10^7	8.5×10^7	8.2×10^8
C(%1 NaL)	1.5×10^6	3.3×10^6	6.6×10^6	1.3×10^7	3.7×10^7	7.2×10^7
D(%2 NaL)	1.4×10^6	8.4×10^5	1.1×10^6	1.7×10^6	2.7×10^6	5.2×10^6

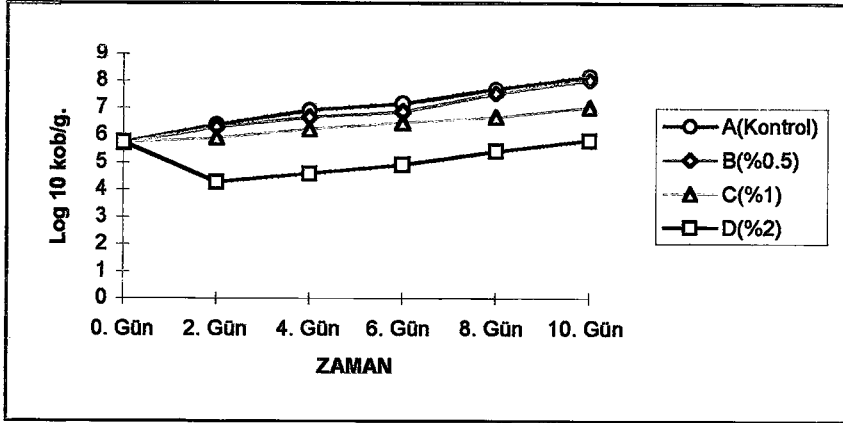


Şekil 6: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayıları (kob/g.).

Genel olarak mikrobiyolojik kriterlerde, sodyum laktat seviyesindeki artış ve dondurma işlemi ile az da olsa düşüş gözlemlenmiştir. Ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısı başlangıçta 1.4×10^6 kob/g. iken, kontrol grubunda 90. gün 1.8×10^6 kob/g., %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde 9.0×10^5 kob/g. olarak tespit edilmiştir (Tablo 5, Şekil 7).

Tablo 5: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama toplam aerob mezofil mikroorganizma sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	90. Gün
A(Kontrol)	1.4×10^6	1.6×10^6	2.2×10^6	2.3×10^6	2.2×10^6	1.8×10^6
B(%0.5NaL)	1.6×10^6	1.4×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	1.6×10^6
C(%1 NaL)	1.5×10^6	1.4×10^6	1.8×10^6	1.6×10^6	1.4×10^6	1.0×10^6
D(%2 NaL)	1.4×10^6	1.3×10^6	1.3×10^6	1.4×10^6	1.1×10^6	9.0×10^5

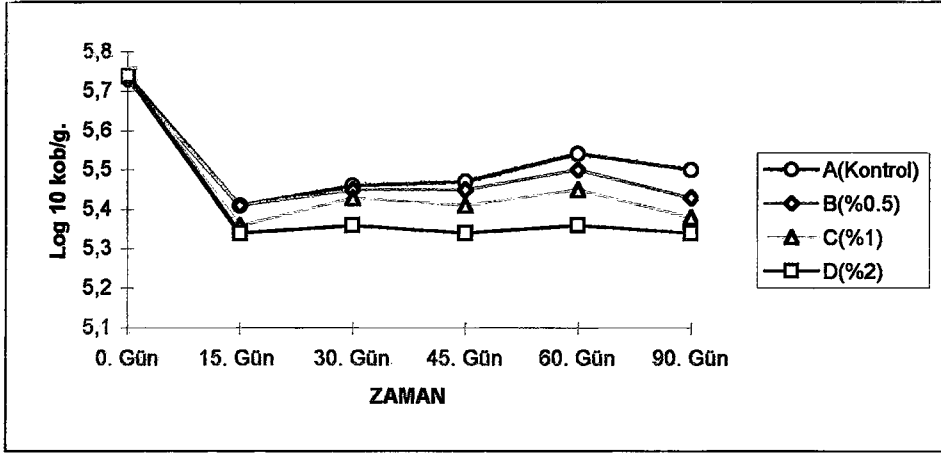


Şekil 8: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama psikrofil bakteri sayıları (kob/g.).

Dondurularak muhafaza edilen köfte örneklerinde psikrofil bakteri sayıları Tablo 7'de verilmiş ve Şekil 9'da gösterilmiştir. Dondurma işleminin psikrofil bakteri sayısında düşüş sağladığı görülmüştür. Kontrol grubunda 5.1×10^5 kob/g. olan psikrofil bakteri sayısı 90. günde 3.2×10^5 kob/g. olarak tespit edilmiştir. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde bu değer 2.2×10^5 kob/g. olarak bulunmuş olup, psikrofil bakteri sayısındaki düşüşün önemsiz düzeyde olduğu görülmüştür.

Tablo 7: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama psikrofil bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	90. Gün
A(Kontrol)	5.1×10^5	2.6×10^5	2.9×10^5	3.0×10^5	3.5×10^5	3.2×10^5
B(%0.5 NaL)	5.4×10^5	2.6×10^5	2.8×10^5	2.8×10^5	3.2×10^5	2.7×10^5
C(%1 NaL)	5.5×10^5	2.3×10^5	2.7×10^5	2.6×10^5	2.8×10^5	2.4×10^5
D(%2 NaL)	5.5×10^5	2.2×10^5	2.3×10^5	2.2×10^5	2.3×10^5	2.2×10^5



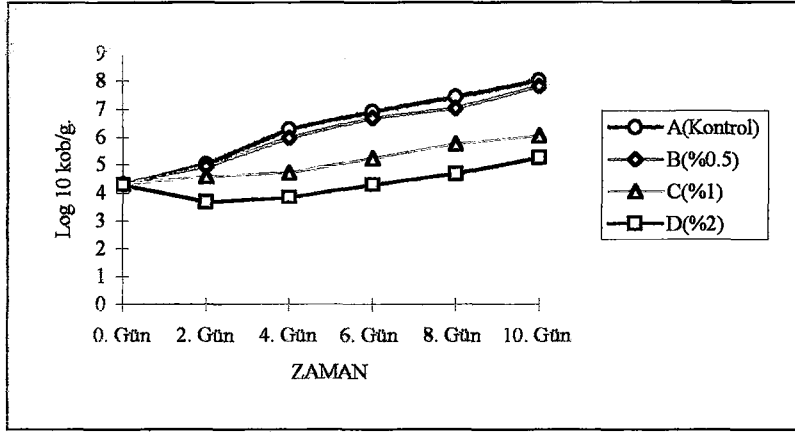
Şekil 9: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama psikrofil bakteri sayıları (kob/g.).

4.4. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında *Pseudomonas* Cinsi Bakteri Sayısındaki Değişimler

Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde *Pseudomonas* cinsi mikroorganizma sayılarındaki değişimler, psikrofil mikroorganizma sayısındaki değişimlerle benzerlik göstermektedir. Kontrol grubunda başlangıçta 2.0×10^4 kob/g. olan *Pseudomonas* spp. bakteri sayısı, muhafazanın onuncu gününde 1.1×10^8 kob/g. tespit edilmiştir. *Pseudomonas* cinsi bakterilere en önemli etkiyi %2 sodyum laktat ilavesi sağlamış ve bu grup köftelerde pseudomonas sayısında kısmi bir artış gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 10).

Tablo 8: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *Pseudomonas* spp. bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	2.0×10^4	1.1×10^5	1.9×10^6	8.6×10^6	2.7×10^7	1.1×10^8
B(%0.5 NaL)	2.2×10^4	9.0×10^4	9.6×10^5	5.0×10^6	1.1×10^7	6.7×10^7
C(%1 NaL)	2.1×10^4	3.9×10^4	5.5×10^4	1.8×10^5	6.0×10^5	1.1×10^6
D(%2 NaL)	2.0×10^4	4.7×10^3	6.8×10^3	2.0×10^4	4.0×10^4	1.8×10^5

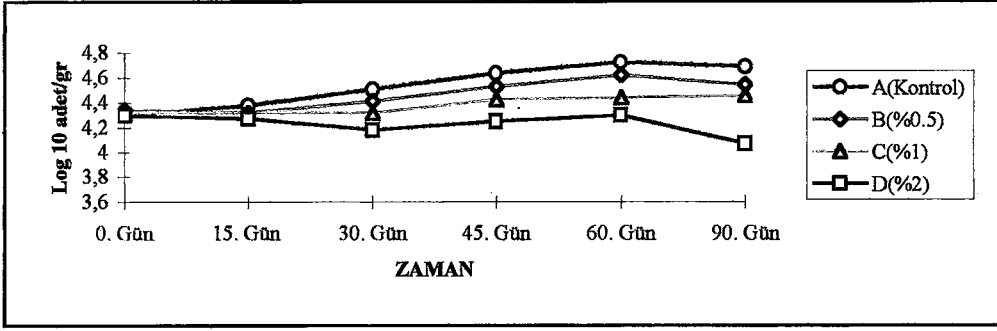


Şekil 10: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *Pseudomonas* spp. bakteri sayıları (kob/g).

Dondurularak muhafaza edilen köfte örneklerinde *Pseudomonas* spp. bakteri sayılarına ait değişimler, Tablo 9’da belirtilmiş ve Şekil 11’de gösterilmiştir. En düşük pseudomonas sayıları %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde tespit edilmiştir. Başlangıçta 2.0×10^4 kob/g. olan bakteri sayısının, 90. gün yapılan analizlerde 1.2×10^4 kob/g.’a kadar düştüğü görülmüştür.

Tablo 9: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *Pseudomonas* spp. bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	2.0×10^4	2.4×10^4	3.3×10^4	4.4×10^4	5.3×10^4	4.9×10^4
B(%0.5 NaL)	2.2×10^4	2.1×10^4	2.6×10^4	3.4×10^4	4.2×10^4	3.5×10^4
C(%1 NaL)	2.1×10^4	2.1×10^4	2.1×10^4	2.7×10^4	2.8×10^4	2.9×10^4
D(%2 NaL)	2.0×10^4	1.9×10^4	1.5×10^4	1.8×10^4	2.0×10^4	1.2×10^4



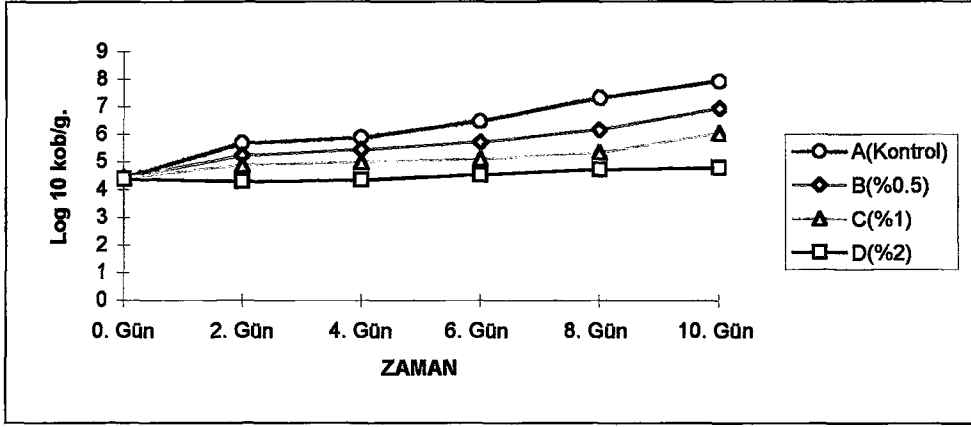
Şekil 11: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *Pseudomonas* spp. bakteri sayıları (kob/g.).

4.5. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Koliform Bakteri Sayısındaki Değişimler

Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerine ait koliform bakteri sayıları Tablo 10 ve Şekil 12’de verilmiştir. Kontrol grubunda başlangıçta 2.7×10^4 kob/g. olarak belirlenen koliform bakteri sayısı, soğuk muhafazanın 10. günü 8.2×10^7 kob/g’a kadar yükselmiştir. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde; başlangıçta 2.5×10^4 kob/g. olan koliform bakteri sayısı, 10 günlük soğuk muhafaza sonunda 6.1×10^4 kob/g. olarak tespit edilmiştir.

Tablo 10 : Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama koliform bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	2.7×10^4	4.9×10^5	7.9×10^5	3.0×10^6	2.1×10^7	8.2×10^7
B(%0.5 NaL)	2.7×10^4	1.8×10^5	2.9×10^5	5.4×10^5	1.5×10^6	8.6×10^6
C(%1 NaL)	2.8×10^4	7.9×10^4	1.0×10^5	1.3×10^5	2.2×10^5	1.1×10^6
D(%2 NaL)	2.5×10^4	2.0×10^4	2.3×10^4	3.5×10^4	5.4×10^4	6.1×10^4

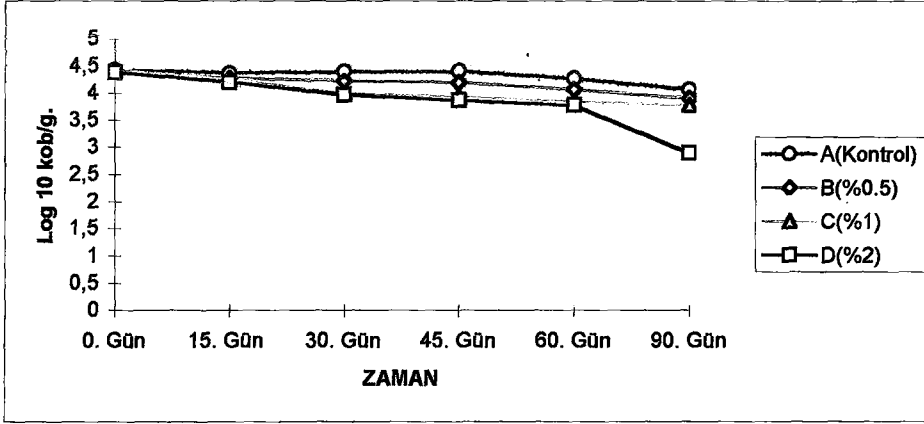


Şekil 12: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama koliform bakteri sayıları (kob/g.).

Dondurularak muhafaza edilen köfte örneklerinde koliform bakteri sayıları, Tablo 11 ve Şekil 13'te verilmiştir. Koliform bakteri sayısında önemsiz düzeyde düşüş olduğu görülmektedir. Kontrol grubunda muhafazanın 90. günü yapılan analizlerde koliform bakteri sayısı, 1.0×10^4 kob/g., %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise 7.9×10^2 kob/g. olarak tesbit edilmiştir.

Tablo 11: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama koliform bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	90. Gün
A(Kontrol)	2.7×10^4	2.4×10^4	2.5×10^4	2.3×10^4	1.96×10^4	1.0×10^4
B(%0.5 NaL)	2.7×10^4	1.9×10^4	1.7×10^4	1.6×10^4	1.2×10^4	8.4×10^3
C(%1 NaL)	2.8×10^4	1.8×10^4	1.0×10^4	8.7×10^3	7.1×10^3	6.1×10^3
D(%2 NaL)	2.5×10^4	1.6×10^4	9.3×10^3	7.4×10^3	6.0×10^3	7.9×10^2



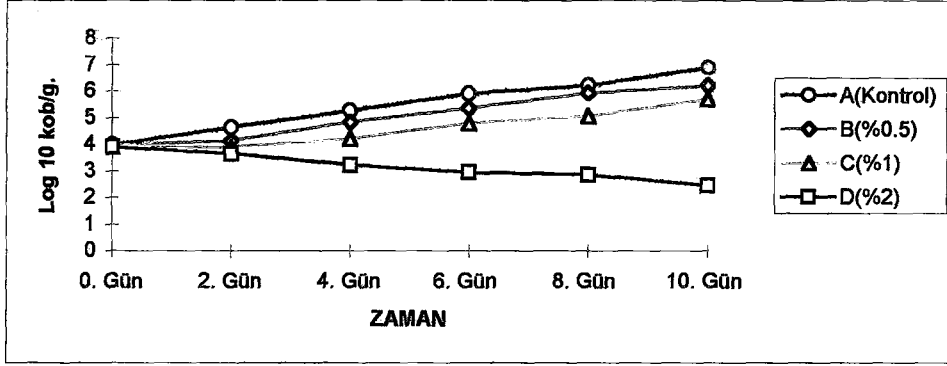
Şekil 13: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama koliform bakteri sayıları (kob/g.).

4.6. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında *S.aureus* Sayısındaki Değişimler

S.aureus türü mikroorganizma sayılarındaki değişimler Tablo 12 ve Şekil 14'de gösterilmiştir. Bu bakterilerin sodyum laktat'a oldukça duyarlı oldukları tespit edilmiş olup, on günlük soğuk muhafaza sonunda kontrol grubunda bu bakteri sayısı 8.1×10^6 kob/g.'a ulaşırken, %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde sadece 2.9×10^2 kob/g. olarak tespit edilmiştir.

Tablo 12 : Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *S.aureus* türü bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	9.7×10^3	4.5×10^3	12.9×10^5	8.3×10^5	1.7×10^6	8.1×10^6
B(%0.5 NaL)	9.7×10^3	1.4×10^4	6.9×10^4	2.3×10^5	9.0×10^5	1.7×10^6
C(%1 NaL)	9.8×10^3	8.3×10^3	1.7×10^4	6.5×10^4	1.2×10^5	5.2×10^5
D(%2 NaL)	9.8×10^3	4.6×10^3	1.7×10^3	9.3×10^2	7.5×10^2	2.9×10^2

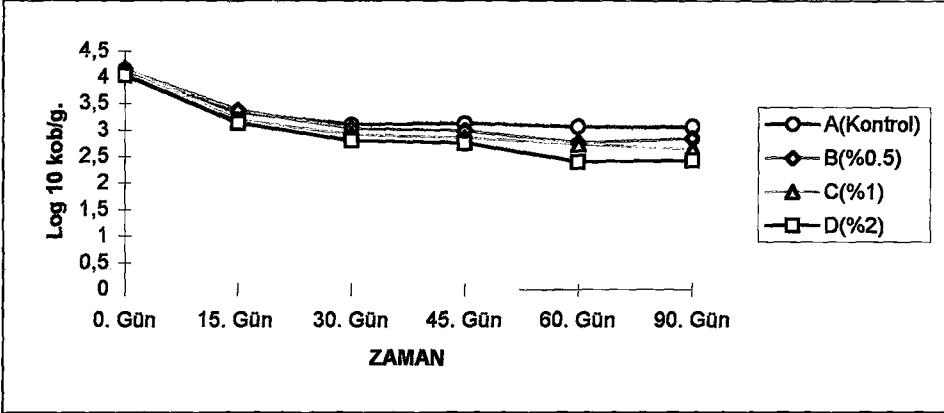


Şekil 14: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *S.aureus* türü bakteri sayıları (kob/g.).

Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde sodyum laktat seviyesi arttırıldıkça *S.aureus* sayısındaki düşüşte artış görülmüş, en fazla düşüş %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde gerçekleşmiştir. Dondurma işleminin bu tür bakterilerde de etkili olduğu görülmektedir (Tablo 13, Şekil 15).

Tablo 13: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *S.aureus* türü bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15.Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	90. Gün
A(Kontrol)	9.7x10 ³	2.2x10 ³	1.3x10 ³	1.4x10 ³	1.2x10 ³	1.2x10 ³
B(%0.5 NaL)	9.7x10 ³	2.4x10 ³	1.1x10 ³	1.0x10 ³	5.9x10 ²	7.1x10 ²
C(%1 NaL)	9.8x10 ³	1.6x10 ³	8.6x10 ²	7.5x10 ²	5.6x10 ²	4.5x10 ²
D(%2 NaL)	9.8x10 ³	1.4x10 ³	6.5x10 ²	5.8x10 ²	2.6x10 ²	2.8x10 ²



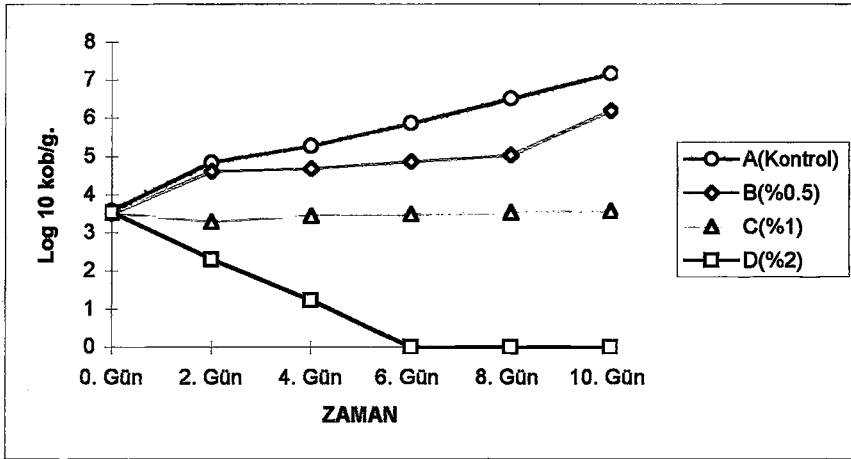
Şekil 15. Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *S.aureus* türü bakteri sayıları

4.7. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında *C.perfringens* Sayısındaki Değişimler

Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örnekleri kontrol grubunda 3.8×10^3 kob/g. olan *C.perfringens* türü mikroorganizma sayısı, soğuk muhafazanın 10. gününde 1.5×10^7 kob/g. bulunmuştur. %1 sodyum laktat ilave edilen örneklerde, başlangıçta 3.3×10^3 kob/g. iken, 10. günde 3.7×10^3 kob/g. olduğu görülmüştür. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise hızlı düşüş gözlenmiş ve 6. günden itibaren bu mikroorganizma yapının dilüsyon ekimlerinde tespit edilememiştir (Tablo 14, Şekil 16).

Tablo 14: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *C.perfringens* türü bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	3.8×10^3	7.1×10^4	1.9×10^5	7.4×10^5	3.3×10^6	1.5×10^7
B(%0.5NaL)	3.3×10^3	4.2×10^4	4.9×10^4	7.1×10^4	1.1×10^5	1.6×10^6
C(%1 NaL)	3.4×10^3	2.0×10^3	2.9×10^3	3.1×10^3	3.4×10^3	3.7×10^3
D(%2 NaL)	3.5×10^3	2.0×10^2	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$

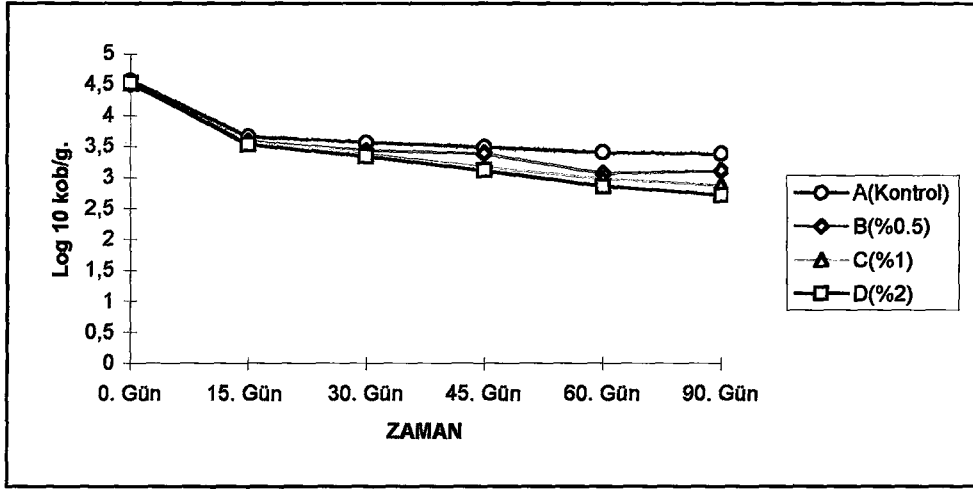


Şekil 16: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *C.perfringens* türü bakteri sayıları (kob/g.).

Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde *C.perfringens* türü bakteri sayısı kontrol grubunda başlangıçta 3.8×10^3 iken, dondurulmuş muhafazanın 90. gününde 2.4×10^3 olarak bulunmuştur. %2 sodyum laktat ilave edilen köfte örneklerinde ise bu değerlerin sırasıyla 3.5×10^3 ve 5.3×10^2 olduğu görülmektedir (Tablo 15, Şekil 17)

Tablo 15: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *C.perfringens* türü bakteri sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15.Gün	30.Gün	45.Gün	60.Gün	90.Gün
A(Kontrol)	3.8×10^3	4.6×10^3	3.8×10^3	3.1×10^3	2.6×10^3	2.4×10^3
B(%0.5 NaL)	3.3×10^3	3.9×10^3	2.8×10^3	2.5×10^3	1.2×10^3	1.3×10^3
C(%1 NaL)	3.4×10^3	3.7×10^3	2.4×10^3	1.5×10^3	9.6×10^2	7.6×10^2
D(%2 NaL)	3.5×10^3	3.4×10^3	2.2×10^3	1.3×10^3	7.3×10^2	5.3×10^2



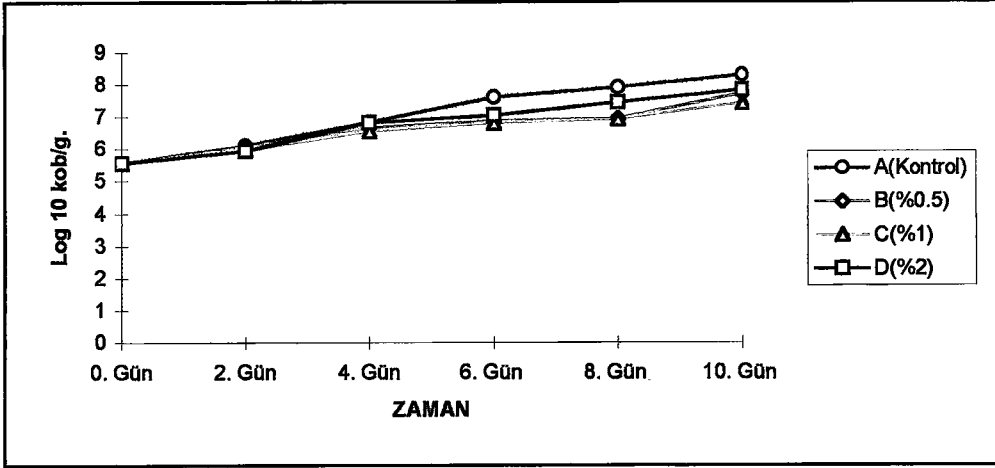
Şekil 17: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama *C.perfringens* türü bakteri sayıları (kob/g.).

4.8. Deneysel İnegöl Köfte Örneklerinin Muhafazası Sırasında Küf-Maya Sayısındaki Değişimler

Soğuk muhafazaya tabii tutulan örneklere ait küf-maya sayıları Tablo 16 ve Şekil 18 'de gösterilmiştir. Özellikle mayalar üzerine sodyum laktatın etkisinin oldukça önemsiz olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda başlangıçta 3.7×10^5 kob/g. olan küf-maya sayısı, onuncu gün 1.9×10^8 kob/g.'a yükselmiştir. On günlük soğuk muhafaza sonunda %0.5 ve %1 sodyum laktat ilave edilen köfte örneklerinde küf-maya sayısı, %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerden daha az kaydedilmiş olup sırasıyla 5.4×10^7 kob/g., 2.7×10^7 kob/g. ve 6.8×10^7 kob/gr olarak tespit edilmiştir.

Tablo 16: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama küf - maya sayıları (kob/g.).

GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (4 °C)				
		2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	3.7×10^5	1.3×10^6	6.9×10^6	4.1×10^7	8.2×10^7	1.9×10^8
B(%0.5 NaL)	3.6×10^5	1.2×10^6	4.9×10^6	7.8×10^6	9.01×10^6	5.4×10^7
C(%1 NaL)	3.7×10^5	9.8×10^5	3.6×10^6	6.3×10^6	8.3×10^6	2.7×10^7
D(%2 NaL)	3.6×10^5	8.7×10^5	6.7×10^6	1.1×10^7	2.8×10^7	6.8×10^7

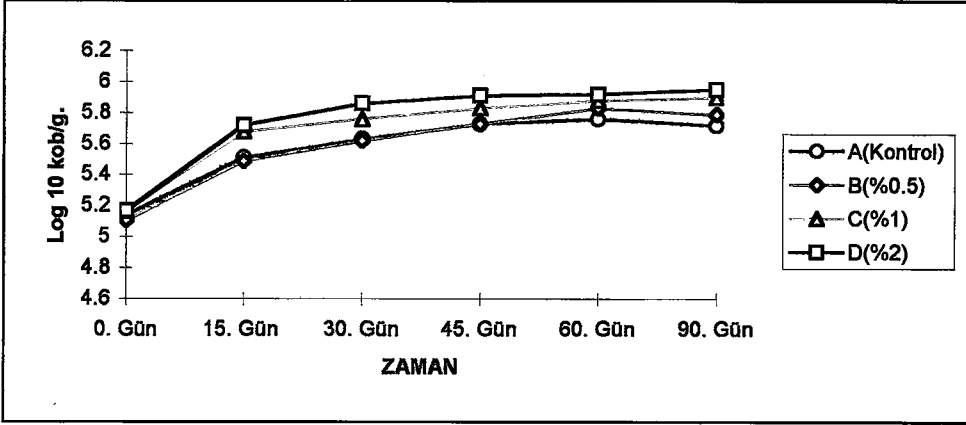


Şekil 18: Soğukta muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama küf - maya sayıları (kob/g.).

Dondurularak muhafaza edilen örneklerde de sodyum laktat ilavesi küf – maya sayılarına etkili olmadığı görülmüştür. 90 gün muhafaza süresince kontrol grubuna göre, sodyum laktat ilave edilen örneklerde küf – maya sayısının daha yüksek olduğu ve en yüksek % 2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde tespit edildiği görülmektedir (Tablo 17, Şekil 19).

Tablo 17: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama küf- maya sayıları (kob/g.).

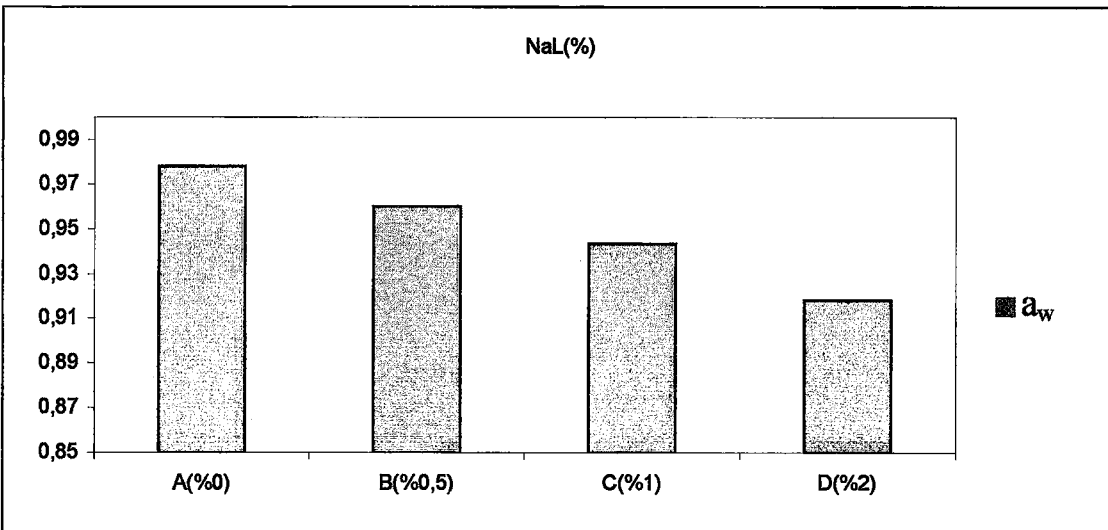
GRUP	Köfte Hamuru	Muhafaza Periyodu (-18 °C)				
		15.Gün	30.Gün	45.Gün	60.Gün	90.Gün
A(Kontrol)	3.7×10^5	3.3×10^5	4.3×10^5	5.4×10^5	5.8×10^5	5.3×10^5
B(%0.5 NaL)	3.6×10^5	3.1×10^5	4.2×10^5	5.4×10^5	6.9×10^5	6.2×10^5
C(%1 NaL)	3.7×10^5	4.8×10^5	5.8×10^5	6.8×10^5	7.7×10^5	8.1×10^5
D(%2 NaL)	3.6×10^5	5.3×10^5	7.3×10^5	8.2×10^5	8.5×10^5	9.0×10^5



Şekil 19: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde ortalama küf- maya sayıları (kob/g.).

4.9. Su Aktivitesi Değerleri

Fizyolojik olarak İnegöl köfte örneklerinde su aktivitesi tayini yapılarak, ilave edilen sodyum laktat seviyelerinin su aktivitesine etkisi araştırılmıştır. Yapılan analizlerde kontrol grubu örneklerinde ortalama su aktivitesi 0.978, %0.5 sodyum laktat ilave edilen örneklerde 0.960, %1 sodyum laktat ilave edilen örneklerde 0.943 ve %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde 0.903 olarak tespit edilmiştir. Sodyum laktatın köfte örneklerinin su aktivitesine etkisi Şekil 20’de görülmektedir.



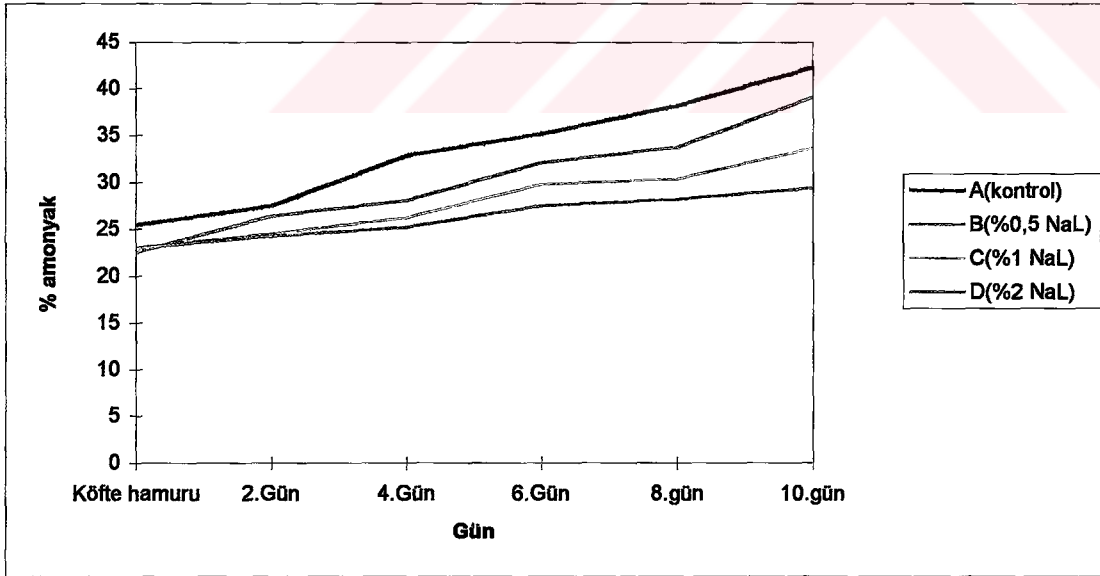
Şekil 20: Köfte örneklerinde sodyum laktat seviyesindeki artışın su aktivitesine etkisi.

4.10. Amonyak Miktarı

Köfte örneklerinin kimyasal analizinde, spektrofotometrik olarak kantitatif amonyak tayini yapılmıştır. Soğuk muhafazaya tabi tutulan köfte örneklerinde yapılan amonyak tayini ile elde edilen değerler tablo 18'de verilmiş ve şekil 21'de gösterilmiştir.

Tablo 18: Soğukta muhafaza edilen inegöl köfte örneklerinde amonyak miktarı (mg/100g).

Sodyum Laktat	Köfte Hamuru	2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün
A(Kontrol)	25.50	27.53	32.83	35.20	38.20	42.30
B(%0.5)	22.56	26.43	28.10	32.10	33.76	39.10
C(%1)	23.03	24.53	26.26	29.83	30.40	33.66
D(%2)	23.03	24.30	25.23	27.56	28.20	29.43

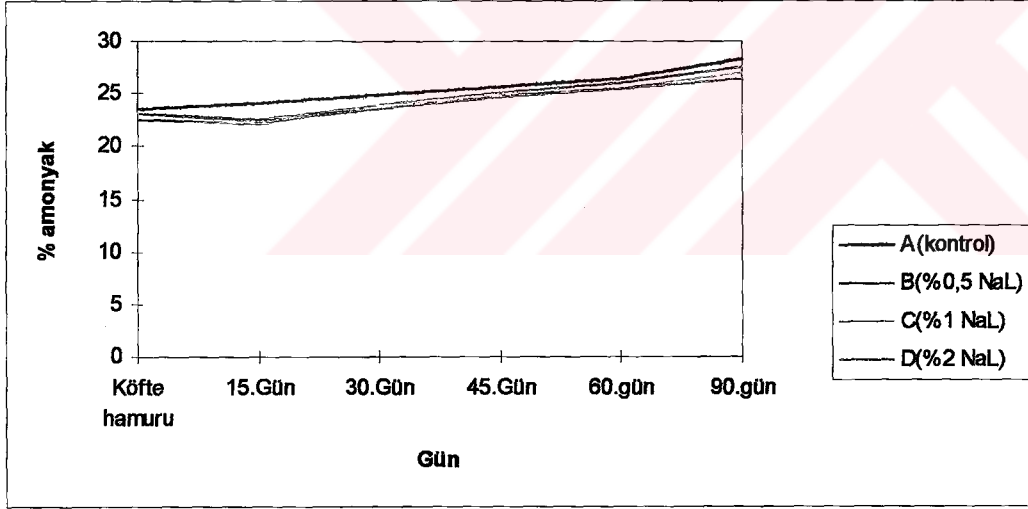


Şekil 21: Soğukta muhafaza edilen inegöl köfte örneklerinde amonyak miktarı (mg/100g).

Donmuş muhafazaya tabi tutulan İnegöl köfte örneklerinin 90 günlük muhafaza süresince bozulmadığı gözlenmiş, elde edilen sonuçlar Tablo 19’da açıklanmış ve şekil 22’de gösterilmiştir.

Tablo 19: Dondurularak muhafaza edilen inegöl köfte örneklerinde amonyak miktarı (mg/100g).

Sodyum Laktat	Köfte Hamuru	15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	90. Gün
A(Kontrol)	23.50	24.10	24.86	25.56	26.36	28.26
B(%0.5)	22.56	22.23	23.96	25.10	26.06	27.50
C(%1)	23.03	22.60	23.83	24.76	25.50	27.00
D(%2)	23.03	22.30	23.50	24.60	25.40	26.43



Şekil 22: Dondurularak muhafaza edilen İnegöl köfte örneklerinde amonyak miktarı (mg/100g).

5. TARTIŞMA

Kesim sonrası, özellikle kırmızı et ve tavuk karkaslarında, mikrobiyel florayı azaltmak için gerek daldırma (3,44,45,55), gerekse püskürtme (26, 38,60) yöntemleri ile koruyucu madde olarak, organik asitlerin kullanımı oldukça yaygındır. Ayrıca farklı kimyasal maddelerle beraber kullanıldıkları zaman, organik asitlerin etkinliklerinin daha da arttığı ileri sürülmektedir. Örneğin Oh ve Marshall (59) laktik, benzoik ve asetik asit gibi organik asitlerin Glycerol Monolurat ile beraber kullanıldıkları zaman *L.monocytogenes* inhibisyonunun arttığını bildirmişlerdir. Yine yakın gelecekte salata ve asetik gıdalarda tamponlanmış asit kullanımı ile, benzoik ve sorbik asit gibi kimyasal koruyucuların kullanımının terk edileceği ileri sürülmektedir (29).

L(+) laktik asitin tuzu olan laktatların, et ve balıkta doğal olarak bulunmaları, patojen mikroorganizmalara karşı inhibe edici etki göstermeleri, lezzeti iyileştirmeleri, raf ömrünü arttırmaları, ürünlerde renk ve tesktüre pozitif etki göstermeleri nedeniyle et, tavuk ve balık işleme endüstrisinde prezervatif katkı maddesi olarak kullanımı giderek artmaktadır (25,52, 66).

Özellikle et ürünlerinde, sodyum laktatın tuzlu tadı giderdiği ve raf ömrünü uzattığı bildirilmektedir (7,52). Yine laktik asitin bir tuzu olan potasyum laktatın da aynı amaç için kullanılmakla beraber hafif acı lezzete sahip olduğu belirtilmektedir (52).

Bizim araştırmamızda deneysel olarak hazırlanan İnegöl köfte örnekleri %0.5, %1 ve %2 oranlarında sodyum laktat içermektedir. Araştırmada kullanılan örneklere aynı zamanda %1,5 oranında sodyum klorür ilave edilmiştir. Böylece yüksek oranda sodyum laktat kullanımı önlenmiş ve maksimum düzeyde etki sağlanmıştır. Yapılan araştırmalarda, sodyum laktatın en yüksek %5 oranında kullanıldığı görülmüştür (86).

Papadopoulos ve ark. (62) pişirilmiş rostalarda sodyum laktat seviyesindeki artışın, daha az toplam aerob mikroorganizma sayısı ve daha yüksek laktik asit konsantrasyonu sağlayacağını açıklamakla beraber, sodyum laktatın maksimum %3 oranında kullanıldığı zaman en iyi absorbe edildiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, sodyum laktatın duyuusal özellikleri ve pişirilmiş etin renk ve kimyasal

bileşimi üzerine yaptıkları diğer bir araştırmada; %3 seviyesinden itibaren kullanılan sodyum laktatın boğazda hafif irritasyona sebep olduğunu, daha düşük seviyelerde ise böyle bir problemin söz konusu olmadığını açıklamışlardır (63).

Bizim çalışmamızda köfte hamuruna maksimum %2 sodyum laktat ilavesi, hissedilebilir olumsuz bir duyuşal değişime neden olmamıştır. Bununla birlikte konsantrasyona bağlı olarak soğutulmuş İnegöl köfte örneklerinin raf ömründe önemli bir artış sağlamıştır. Kontrol grubu örnekleri 4. günde, %0.5 sodyum laktat ilave edilen örnekler 6. günde ve %1 sodyum laktat ilave edilen örnekler ise 8. günde bozulma belirtileri göstermiştir. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise soğukta muhafazanın 10. gününde bile bozulma belirtileri görölmemiştir. Üç ay süreyle dondurulmuş muhafazaya tabi tutulan gerek kontrol, gerekse laktat ilave edilen İnegöl köfte örneklerinde ise bozulma görölmemiştir. Soğutulmuş köftelerde laktat ilavesi ile raf ömründe görölen artış, bozulma yapıcı mikroorganizmaların inhibisyonu ile ilgilidir. Nitekim, laktat ilave edilen örneklerdeki toplam mikroorganizma, psikrofil bakteri ve *Pseudomonas* spp. sayıları kontrol grubuna göre daha az artış göstermiştir (Şekil 6, 8, 10).

Buric ve Koos (7,19) sodyum laktat ve sodyum klorürün birlikte kullanıldığı zaman raf ömründe daha fazla artış sağladığını bildirmekte, ayrıca sodyum laktatın, keskin tuz tadını giderdiğini belirtmektedirler.

Brewer ve ark. (16) domuz eti ezmesinde yaptıkları bir araştırmada; %2 sodyum klorür ve %1.5-2 sodyum laktat kullanıldığı zaman, toplam bakteri sayısının maksimum seviyede baskılandığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar daha yüksek sodyum laktat seviyesinin, kırmızı renk üzerinde olumsuz etkiye sebep olduğunu açıklamışlardır. Araştırmacılar, et işleme sırasında duyuşal özelliklerin devamı ve raf ömrünü uzatmak için, yüksek sanitasyon standartlarının önemine dikkat çekmişlerdir. Lamkey ve ark. (53) da %3 sodyum laktat kullanarak taze domuz sosiste, mikrobiyel azalma neticesinde kontrol grubuna göre raf ömrünün iki hafta daha fazla uzatıldığını açıklamışlardır.

Bizim araştırmamızda da toplam bakteri sayısı üzerine sodyum laktatın depolama periyodu boyunca etkili olduğu görölmüştür. Sodyum laktat seviyesi arttırıldıkça toplam bakteri sayısında azalma gözlenmiştir. %0.5 sodyum laktat ilavesi

önemsiz sayılacak kadar düşüş sağlarken, %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde toplam bakteri sayısında oldukça önemli azalma gözlenmiştir (Tablo 4, Şekil 6). Laktatlar tarafından mikroorganizmaların inhibisyonu, bulunduğu gıdanın su aktivitesini düşürmelerine ve spesifik iyon etkilerine bağlanmakta ve bu etkinin düşük sıcaklık uygulaması ile arttırılabileceği bildirilmektedir (25, 53, 57, 71, 86).

Soğukta muhafaza edilen et ve et ürünlerinde üremelerini sürdürdükleri için, psikrofil mikroorganizmalar önemli bir sorun olarak görülmektedirler. Gıda zehirlenmesine yol açabilen, psikrofil özelliğe sahip *L.monocytogenes* ve *Y.enterocolytica* gibi patojen mikroorganizmaların yanında, özellikle gıdalarda bozulmaya sebep olarak ekonomik kayıplara yol açabilen, başta *Pseudomonas* cinsi mikroorganizmaların da sodyum laktattan etkilendiği belirtilmektedir (37,41,57,59).

Weaver ve Shelef (85) domuz ciğer sosiste sodyum, potasyum ve kalsiyum laktatın antilisterial aktivitesini araştırmışlar; ciğer sosisin pH'sının, %3 sodyum veya potasyum laktat ilavesi ile etkilenmediğini ancak %3 kalsiyum laktatın 6.0'dan 5.5'e düşürdüğünü, bunun da diğer laktat tuzlarına göre kalsiyum laktatın niçin daha fazla antilisterial etkiye sahip olduğunu açıkladığını bildirmişlerdir. Shelef ve Potluri (71) de %3 sodyum laktatın pişirilmiş domuz sosiste *L.monocytogenes*'in gelişmesini inhibe ettiğini, ancak sodyum laktatın pH üzerine etkisinin ihmal edilebileceğini bildirmişlerdir.

Yapılan araştırmalar temperatur, pH ve ortamın oksijen konsantrasyonu gibi faktörlerin, özellikle et ürünlerinde patojen veya bozulma bakterilerinin gelişmesi üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (37, 41, 59). pH'ı düşürme işlemiyle beraber, sodyum laktatın uygun miktarlarda kullanılması ile pişirilmiş et ürünlerinde *L.monocytogenes*'in gelişmesini baskılamak mümkündür (61).

Bizim araştırmamızda da hazırlanan örnekler, buzdolabı ve derin dondurucuda muhafaza edildiğinden psikrofil mikroorganizmaların, üreme imkanı bulup mikrobiyel floraya hakim olabileceği düşünülerek, sodyum laktatın bu mikroorganizmalar üzerine etkisi araştırılmıştır. Özellikle %2 sodyum laktat ilavesinin psikrofil bakteri sayısında önemli redüksiyon sağladığı görülmüştür (Şekil 8).

Koliform grubu mikroorganizmaların en önemli üyesi olan *E.coli*'nin üremesi üzerine sodyum laktatın etkisinin az olduğu, sıcaklığın düşürülmesi gibi işlemlerle bunun arttırılabileceği belirtilmektedir (86). *E.coli*, asitik şartlarda hayatta kalma kabiliyetine sahiptir. Ancak asitlendiricinin çeşidi ve temperatur tarafından bu kabiliyet etkilenmektedir (24).

Planken ve ark.(65) hazır kıyma ve Amerikan flato'da laktat, asetik asit ve laktoperoksidazın *E.coli* 0157:H7'nin canlı kalması üzerine yaptıkları araştırmada; %1 ve %2 sodyum laktat konsantrasyonunun, *E.coli* seviyesini önemli miktarda düşüremediğini bildirmişlerdir.

Ancak son zamanlarda, endüstriyel anlamda sodyum laktatın *E.coli*'yi inhibisyonunda olumlu sonuçlar elde edildiği belirtilmektedir. Günümüzde, endüstriyel tecrübeler neticesinde bir çok taze üründe ve pişirildikten sonra kontaminasyon riski olan et ve tavuk ürünlerinde, sodyum laktatın *E.coli*'ye karşı oldukça etkili olduğu ileri sürülmektedir (25).

Bizim araştırmamızda, gerek soğuk muhafazaya tabi tutulanlar, gerekse derin dondurucuda muhafaza edilen örneklerde olsun, sodyum laktat seviyesi arttıkça koliform bakteri sayısında azalma gözlemlenmiş olmakla beraber, soğuk muhafazadaki sadece %2'lik sodyum laktat ilave edilen örneklerde, 10 gün süresince başlangıç değerine yakın sonuçlar kaydedilmiştir. Yani %2 sodyum laktat ilave edilerek, buzdolabı şartlarında muhafaza edilen örneklerde 10 gün boyunca koliform bakteri sayısında önemli bir artış gözlenmemiştir (Tablo:10-11, Şekil :12-13).

Miller ve Acuf (57) pişmiş biftekte sodyum laktatın patojenler (*L.monocytogenes*, *S.aureus*, *S typhimurium*, *C.perfringens* ve *E.coli*) üzerine 10°C'de etkisini, 28 gün süreyle araştırmışlar ve %3 ile %4 seviyelerinde etkinin oldukça yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte %2'lik ve %3'lük seviyeler arasında çok az bir farkın olduğunu bildirmişlerdir. Bizim bulduğumuz sonuçlar daha çok Miller ve Acuf (57)'un bildirdiği sonuçlarla örtüşmektedir.

Gıda zehirlenmesi yapan bakterilerden biri olan *S.aureus*'un düşük su aktivitesine dirençli olduğu bilinmektedir. Sodyum laktat yüksek seviyelerde kullanıldığı zaman (%3-%4) *S.aureus*'un gelişmesi üzerine de etkili olmaktadır (83). Sodyum laktatla beraber, a_w üzerine daha etkili olan sodyum klorür kullanılarak (7, 19), su aktivitesinde daha fazla düşüş sağlanabilmekte ve muhafaza sıcaklığı düştükçe sodyum laktatın spesifik iyon etkisinde artış görülmektedir (86). Bizim araştırmamız sonucunda %2 sodyum laktat kullanılarak 10 gün boyunca *S.aureus* sayısında devamlı düşüş sağlandığı görülmüştür (Şekil 14). *S.aureus* sayısındaki bu azalmanın, sodyum laktatın su aktivitesini düşürme etkisi (Şekil 20)'nden çok, spesifik inhibitör etkisinden ileri geldiği düşünülmektedir.

Laktatların *C.perfringens* üzerine de çok etkili olduğu bildirilmektedir. Miller ve Acuf (57) pişmiş biftekte sodyum laktatın patojen mikroorganizmalar üzerine etkisini araştırmışlar; sodyum laktatın yanısıra düşük ısılarda muhafaza ile bile *C.perfringens*'in gelişmesinin engellenebileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda %1 sodyum laktatın, soğuk muhafazaya tabi tutulan köfte örneklerinde 10 gün boyunca *C.perfringens* gelişimini durdurduğu, %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde ise ikinci günde yapılan analizlerde hızlı düşüş sağladığı gözlenmiştir. Altıncı günden sonra %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde *C.perfringens* türü mikroorganizma tespit edilememiştir (Şekil 16).

Sıcaklık düştükçe sodyum laktatın antimikrobiyel aktivitesinde artış olduğu ve sıcaklığın bu etkisinin, et ürünlerinde sodyum laktat kullanımının tercih edilmesini sağladığı belirtilmektedir. Ayrıca sodyum laktatın *C.botulinum*'un toksin oluşturma ve doğal gelişmesi üzerine inhibisyon etkisinin, onun özellikle *C.botulinum*'un hem gelişme hem de toksin oluşturma üzerine spesifik inhibitör etkisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (42). Maas ve ark. (54) da %2-3.5 sodyum laktat ilave edilerek vakum paketlenmiş hindi göğsü örneklerinde, *C.botulinum* tarafından toksin oluşturulmasının engellendiğini belirtmişlerdir. Buna karşın Turner ve ark. (79) spor forma dönüşebilen *B.cereus*'un hem germinatif, hem de spor formu üzerine sodyum laktatın etkili olmadığını bildirmişlerdir.

Bizim, deneysel olarak değişik oranlarda sodyum laktat ilave ederek hazırladığımız İnegöl köfte örneklerinde, sodyum laktat seviyesi arttıkça, kontrol grubuna göre su aktivitesinde bir düşüş olduğunu görülmüştür (Şekil 20). Kontrol grubunda 0.978 olarak bulunan su aktivitesi, %2 sodyum laktat ilave edilen köfte örneklerinde 0.903 olarak tespit edilmiştir. Bu su aktivitesi değerinde, birçok patojen ve bozulma bakterilerinin gelişimini sürdürmediği bilinmektedir (78, 81).

Gıdalarda kokuşmayı tespit etmek için kantitatif olarak amonyak tayini yapılmaktadır (47). Et ürünlerinde en fazla 33 mg/100 g amonyağa izin verilmiş olup daha fazla değerlere sahip olan numuneler kokmuş sayılmaktadır (73, 88).

Bizim soğuk muhafazaya tabi tuttuğumuz örneklerde yapılan analiz sonucunda, muhafazanın 6. gününde kontrol grubunun bozulduğu görülmüştür. %0.5 sodyum laktat ilave edilen örneklerin 8. günde ve %1 sodyum laktat ilave edilen örneklerin de 10. günde bozulduğunu belirlenmiştir. %2 sodyum laktat ilave edilen örneklerde, soğuk muhafazanın 10. gününde bile kokuşma olmadığını tespit edilmiştir (Tablo 18, Şekil 21). Dondurularak muhafaza edilen köfte örneklerinin 90 günlük muhafaza süresince bozulmadığı görülmüştür (Tablo 19, Şekil 22). Bu değerler duyusal muayene bulguları ile de örtüşmektedir.

Elde edilen bulgulara göre sodyum laktatın; toplam aerop mezofil mikroorganizma, psikrofil bakteri, *Pseudomonas* spp., *S.aureus* ve *C.perfringens* sayısında önemli redüksiyon sağladığı görülmüştür. Koliform bakteri sayısında ise önemli düzeyde inhibisyon sağlayamadığı, ancak %2 sodyum laktat ilavesinin bu bakterilerin sayısında artışı önlediği tespit edilmiştir. Özellikle mayalar üzerine sodyum laktatın etkisinin çok az olduğu görülmüştür. Sodyum laktatın hazır köftelerde su aktivitesini düşürdüğü ve bu düşüşün sodyum laktat seviyesi ile doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Duyusal analiz bulguları ve amonyak miktarı sonuçlarına göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldıkları zaman sodyum laktatın; %0.5 ilave edilen örneklerde 2 gün, %1 ilave edilenlerde 4 gün ve %2 ilave edilen örneklerde ise 6 günden daha fazla raf ömründe artış sağladığı sonucuna varılmıştır.

6. ÖZET

Günümüzde tüketicilerin yaşam tarzının değişmesi taze ve kolay tüketilir gıdalara talebi arttırmaktadır. Hazır köfteler de en çok rağbet edilen gıda maddeleri arasında yer almaktadır. Gıdalarda mikrobiyel güvenilirliği sağlamak ve raf ömrünü arttırmak açısından laktik asit ve derivatları doğal bir alternatif olarak görülmektedir. Bu araştırma pişirilmeye hazır, soğutulmuş veya dondurularak satışa sunulan hazır köftelerin mikrobiyolojik kalite ve raf ömrüne sodyum laktatın etkisini araştırmak amacı ile yapılmıştır.

Araştırmada usulüne uygun hazırlanan İnegöl köfte hamuruna; %0.5 , %1 ve %2 sodyum laktat ilave edildi. Şekil verildikten sonra ambalajlanan köfte örnekleri soğutulmuş ve dondurularak muhafaza edildi. İnegöl köfte örnekleri 4 °C'de 10 gün ve -18 °C'de 3 ay muhafaza edildi. Muhafaza süresi boyunca periyodik şekilde köfte örnekleri; toplam aerob mezofil mikroorganizma, psikrofil bakteri, *Pseudomonas* spp., koliform bakteri, *S.aureus*, *C.Perfringens* ve küf-maya yönünden analiz edildi. Ayrıca örneklerin su aktivitesi ve amonyak tayini yapıldı.

Duyusal analiz bulguları ve amonyak miktarı sonuçlarına göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldıkları zaman sodyum laktatın; %0.5 ilave edilen örneklerde 2 gün, %1 ilave edilenlerde 4 gün ve %2 ilave edilen örneklerde ise 6 günden daha fazla raf ömründe artış sağladığı görüldü. Sodyum laktatın; toplam aerob mezofil mikroorganizma, psikrofil bakteri *Pseudomonas* spp., *S.aureus* ve *C.Perfringens* sayısında önemli redüksiyon sağladığı görüldü. Koliform bakteri sayısında önemli düzeyde inhibisyon sağlayamadığı ancak %2 sodyum laktat ilavesinin bu bakterilerin sayısında artışı önlediği tespit edildi. Özellikle mayalar üzerine sodyum laktatın etkisinin çok az olduğu görüldü. Sodyum laktatın hazır köftelerde su aktivitesini düşürdüğü tespit edildi.

Bu araştırma ile pişirilmeye hazır İnegöl köfte örneklerine, doğal bir katkı maddesi olan sodyum laktat ilavesi ile birçok patojen ve bozulma bakterisinin inhibe edilerek mikrobiyolojik kalite ve raf ömründe artış sağladığı sonucuna varıldı.

7. SUMMARY

THE EFFECT OF SODIUM LACTATE ON MICROBIOLOGICAL QUALITY AND SHELF-LIFE OF READY TO COOK MEATBALLS

Nowadays, changing life style of consumer got increase the demanding of fresh and easily consumable products. Ready to cook meatball is one of the most demanded food. Natural alternatives to increase the shelf-life and microbial safety of food products are lactic acid and its derivatives. The purpose of this research is to search the effect of sodium lactate on microbiological quality and shelf-life of raw meatballs marketed by cooling and freezing.

In this research, 0.5%, 1% and 2% sodium lactate were added to batter of İnegöl meatball that made in accordance with its method. The samples of meatballs were packed after shaped, are stored by cooling and freezing. At the process of keeping time, the sample of meatball, were periodically analysed for colony count of aerob mesofil microorganisms, psicrofil bacteriae, *Pseudomonas* spp., coliform bacteriae, *S.aureus*, *C.perfringens* and mould-yeast. It was also determined water activity and ammonia amount of the same samples.

According to the results of sensorial analyse and amount of ammonia, when sodium lactate is compared with control group, the shelf-life of meatballs were increased two days at the samples in which 0,5% sodium lactate added, four days at the samples in which 1% sodium lactate added, more than six days at the samples in which 2% sodium lactate added.

It was seen that sodium lactate provided at significant reduction for the count of total aerob mesofil microorganisms, psicrofil bacteriae, *Pseudomonas* spp., *S.aureus* and *C.perfringens*. Sodium lactate couldn't provide remarkable inhibitions on coliforms, but it was realised that by adding of %2 sodium lactate prevented the increasing at the count of this bacteriae. Especially, the effect of sodium lactate was seen a little on yeasts' growth. It was determined that, sodium lactate decreased water activities at ready to cook meatballs.

It was concluded that the addition of sodium lactate into meatballs improved the microbiological quality and shelf-life by inhibition of pathogen and spoiling microflora.

8. KAYNAKLAR

- 1- Akçelik M, Aydar L, Ayhan K, Çakır İ, Doğan HB, Gürgün V, Halkman K, Kaleli D, Kuleaşan H, Özkaya DF, Tunail N, Tükel Ç. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 1. Baskı, Armoni Matbaacılık, Ankara, 1999.
- 2- Akıllı A. Ankara'da süpermarketlerde satılan hazır kıymaların mikrobiyolojik ve kimyasal kaliteleri ile tek tırnaklı hayvan etleri yönünden incelenmesi üzerine araştırmalar. Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg. 1982-83; 5: 4-5.
- 3- Anderson ME, Marshall RT. Reducing microbial population on beef tissues; concentration and temperature of lactic acid. J. Food Safety 1990; 10: 181-190.
- 4- Anon. TS 11566. Kırmızı Etler - Hazır Kıyma. TSE, Ankara, 1995.
- 5- Anon. TS 10581. Köfte-İnegöl Köfte-Pişmemiş. TSE, Ankara, 1992.
- 6- Anon. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. Resmi Gazete Sayı: 23172, 16 Kasım 1997
- 7- Anonymus. A meaty problem solved. Food Reports. 57(12): 9, 1988.
- 8- Anonymus. Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology. Difco Manual. Tenth Edition. 1984.
- 9- Anonymus. Microbiology Manuel Culture Media. Merck Manual. Darmstadt, Deutschland, 1996.
- 10- Aran N. Gıdalarda *Staphylococcus aureus*'un izolasyonu .Laboratuar Uygulama Kılavuzu; s: 34-39, Gebze, 1990.
- 11- Aytaç Ö, Şahin E. Optimum besin süresini tamamlamış olan değişik yaşlardaki Doğu Anadolu Kırmızısı sığırların et kalitesi üzerine araştırmalar. Doğa Bilim Derg. 1981; 5(1): 48-51.
- 12- Benner RA, Miget R, Finne G, Acuf G. Lactic acid / melanosis inhibitours to improve shelf life of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). J. Food Sci. 1994; 59/2: 242-245.
- 13- Bostan K, Aksu H. Özgen Ö, Çolak H. Köfte ve fermente sucuklarda *Camphlobacter jejuni*'nin davranışı. Et ve Ürünleri Sempozyumu'96 Bildiri Kitabı; s: 97-107, İstanbul, 1996.
- 14- Bradford DD, Huffman DL, Egbert WR, Jones WR. Low-fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. J. Food Sci. 1993; 58(3): 488-491.

- 15-Brewer MS, McKeith F, Martin SE, Dallmier AW, Meyer J. Sodium lactate effects on shelf-life, sensory and physical characteristics of fresh pork sausage. J. Food Sci. 1991; 56(5): 1176-1178.
- 16-Brewer MS, Rostogi BK, Argoudelis L, Sprouls GK. Sodium lactate / Sodium chloride effects on aerobik plate counts and color of aerobically packaged ground pork. J. Food Sci. 1995; 60(1): 58-62.
- 17-Bridson EY (ed). The Oxoid Manual Cultur Media. 6.ed. Unipath Ltd, Hampshire, England, 1990.
- 18-Buchanan RL. Processed meats as a microbial environment. Food Technol. 1986; 4: 134-138.
- 19-Buric MC, Koos JT. Natrium lactate in fleischprodukten. Fleischwirt. 1990; 70(11): 1266-1268.
- 20-Burzynska H, Bachrys F, Borowiak M. Sanitory evaluation of semi-manufactured minced meat products. Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny 1971; 22(3): 321-332.
- 21-Cebiroğlu H. Dondurulmuş hamburger köfte ve diğer köfte çeşitlerinde enterohemorajik *Escherichia coli* 0157: H7 suşunun varlığı üzerine araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 1998.
- 22-Chambers JV, Brechbiil DO, Hill DA. A microbiological survey of ground beef in Ohio. J. Milk - Food Technol. 1976; 39: 530-535.
- 23-Chen N, Shelef LA. Relationship between water activity, lactate and growth of *L.monocytogenes* in a meat model system. J. Food Prot. 1994; 55: 574-578.
- 24-Conner DE, Controla JS. Growth and survival of *Escherichia coli* 0157; H7 under acidik conditions. Appl. Environ. Microbiol. 1995; 382-385.
- 25-Cubina İ. Natural lactic acid L(+) and lactates in the food endstry. 5th International Congress on Food Industry "New Aspects on Food Processing". Kuşadası, Turkey, 23-28 April 1995.
- 26-Cudjoe KS. The effect of lactic acid sprays on the kipping qualities of meat during storage. International J. Food Microbiol. 1998; 7: 1-7.
- 27-Çetin K, Yücel A. Bursa'da kasap dükkanlarında üretilen kasap köftesinin üretimi, milrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine araştırma. Gıda Derg. 1992; 17(4): 247-253.

- 28- Çiftçioğlu G, Gün H, Kurt E. Vakum ve modifiye atmosfer paketleme (MAP) sistemi ile paketlenmiş hamburger köfte örneklerinin soğuk muhafaza koşulları altında raf ömrünün belirlenmesi. İ. Ü. Vet. Fak. Derg. 1994; 20(2-3): 91-101.
- 29- Debevere JM. The use of buffered acidulant systems to improve the microbiological stability of acid foods. Food Microbiol. 1987; 4: 105-114.
- 30- Debevere JM. The effect of sodium lactate on the shelf -life of vacuum packaged course liver pate. Fleischwirt. 1989; 69: 223-224.
- 31- Den Uijl CH, Van Burik AMC. The preserving and lactates. Int. Food Ing. Add. 1990; 2: 34-38.
- 32- Duitschaever CL, Bullock DH, Arnott DR. Bacteriological evaluation of retail ground beef, frozen beef patties and cooked hamburger. J. Food Prot. 1977; 40(6): 378-381.
- 33- Egbert WR, Huffman DL, Bradford DD, Jones WR. Properties of low-fat ground beef containing potassium lactate during aerobic refrigerated storage. J. Food Sci. 1992; 57(5): 1033-1037.
- 34- Ertaş AH, Kolsarıcı N, Soyer A. Hamburgerlerin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine donmuş depolama sıcaklığı ve depolama süresinin etkisi üzerine araştırma. Gıda Derg. 1991; 16(3): 217-223.
- 35- Geobfert JM. The aerobic plate count, coliform and *Escherichia coli* content of raw ground beef at the retail level. J. Milk - Food Technol. 1976; 39: 175-178.
- 36- Gökçe R, Civan E. Besin Hijyeni Uygulama Kılavuzu. İstanbul, 1994.
- 37- Guerrero I, Taylor AJ. Meat surface decontamination using lactic acid from chemical and microbial sources. Lebensm. – Wissench. Technol. 1994; 27: 201-209.
- 38- Gün H, Aksu H, Bostan K. Et ürünlerinin modifiye atmosferde paketlenmesi. Et ve Ürünleri Sempozyumu'96 Bildiri Kitabı; s: 185-190, İstanbul, 1996.
- 39- Grau FH. Role of PH, lactate and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram negative bacteria on beef. App. Environ. Microbiol. 1981; 42(6): 1043-1050.
- 40- Harrigon WF, Mc Cance ME, Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Whitstoble, Kent, 1976.
- 41- Houtsma PC, Kant-muermans ML, Rombouts F.M., Zwietering MH. Model for the combined effects of temperature, pH and sodium lactate on growth rates of

- Listeria innocua* in broth and bologna-type sausages. *App. Environ. Microbiol.* 1996; 62(5): 1616-1622.
- 42- Houtsma PC, Heuvelink A, Dufrenne J, Notermans S. Effect of sodium lactate on toxin production, spore germination and heat resistance of proteolytic *Clostridium botulinum* strains. *J. Food Prot.* 1994; 57(4): 327-330.
- 43- Houtsma PC, de-Wit JC, Ronbouts FM. Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate for pathogens and spoilage organisms occurring in meat product. *International J. Food Microbiol.* 1993; 20: 247-257.
- 44- Ingham SC. Lactic acid dipping for inhibiting microbial spoilage of refrigerated catfish fillet pieces. *J. Food Qual.* 1989; 12: 433-443.
- 45- Izat AL, Colberg M, Thomas RA, Adams MH, Driggers CD. Effects of lactic acid in processing waters on the incidence of *Salmonella* on broilers. *J. Food Qual.* 1990; 13: 295-306.
- 46- İçgöz BB, Yıldızhan B, Özmumcu B. Bursa piyasasında tüketime sunulan çiğ hamburger köftelerin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri. *Et ve Ürünleri Sempozyumu'96 Bildiri Kitabı*; s: 176-184, İstanbul, 1996.
- 47- İnal T. *Besin Hijyeni (hayvansal gıdaların sağlık kontrolü)*. 2.ed., Final Ofset, İstanbul, 1992.
- 48- Jeremiah LE, Geer GG, Gibson LL. Effects of lactic acid and postmortem aging on sensory and cooking properties of bovines *longissimus* muscle. *J. Muscle Foods* 1991; 2: 119-131.
- 49- Karım G. Bacteriological quality of raw and cooked hamburger at the retail level in Tehran. *J. Food Prot.* 1977; 40(8): 560-561.
- 50- Kaymaz Ş. Ankara'da tüketime sunulan hamburgerlerde halk sağlığı yönünden önemli bazı bakterilerin saptanması. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1987; 34(3): 377-393.
- 51- Kolsarıcı N, Kırımca G. Radurizasyonun tavuk etlerinin duyu, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi. *Gıda Derg.* 1995; 20(2): 67-73.
- 52- Koos JT. Preservation of food products with natural ingredients. *Food Marketing & Technology* 1992; 3: 5-11.
- 53- Lamkey JW, Leak FW, Tuley WB, Johnson DD, West RL. Assessment of sodium lactate addition to fresh pork sausage. *J. Food Sci.* 1991; 56(1): 220-223.

- 54- Maas MR, Glass KA, Doyle MP. Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook in-bag Turkey products. *App. Environ. Microbiol.* 1989; 55(9): 2226-2229.
- 55- Marshall DL, Kim CR. Microbiological and sensory analyses of refrigerated catfish fillets treated with acetic and lactic acids. *J. Food Qual.* 1996; 19: 317-329.
- 56- Miller AJ, Call JE, Whiting RL. Comparison of organic acid salts for *Clostridium botulinum* control in an uncured turkey product. *J. Food Prot.* 1993; 56(11): 958-962.
- 57- Miller RK, Acuff G. Sodium lactate affects pathogens in cooked beef. *J. Food Sci.* 1994; 59(1): 15-19.
- 58- Nnanna IA, Ukuku DO, Mc.Vann KB, Shelef LA. Antioxidant activity of sodium lactate in meat and a model system. *Lebensm. – Wissensch. Technol.* 1994; 27: 78-85.
- 59- Oh D, Marshall DL. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *J. Food Sci.* 1994; 59(6): 1258-1261
- 60- Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette GJ-P, Begin A. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. *J. Food Prot.* 1997; 60(3): 246-253.
- 61- Owist S, Sehested K, Zeuthen P. Growth suppression of *Listeria monocytogenes* in meat product. *Int. J. Food Microbiol.* 1994; 24: 283-293.
- 62- Papadopoulos LS, Miller RK, Acuff G, Vanderzant C, Cross HR. Effect of sodium lactate on microbial and chemical composition of cooked beef during storage. *J. Food Sci.* 1991; 56(2): 341-347.
- 63- Papadopoulos LS, Miller RK, Ringer LJ, Cross HR. Sodium lactate effect on sensory characteristics, cooked meat color and chemical composition. *J. Food Sci.* 1991; 56(3): 621-635.
- 64- Pivnick H, Erdman IE, Collins-Tamson D, Rbers G, Johnston MA, Conley DR, Lachapfle G, Puruis UT, Faster R, Milling M. Proposed microbiological standards for ground beef on a Canadian survey. *J. Milk - Food Technol.* 1976; 38: 408-412.
- 65- Planken M, Beumer R, Giffel M, Boer E. Influence of lactate, acetic acid and the lactoperoxidase system on survival of *Escherichia coli* 0157: H7 in file

- Americain. World Congress on Food Hygiene. The Hague, The Netherlands, August 24-29, 1997.
- 66-Rao DN, Ramesh BS. Microbial profiles of minced meat. *Meat Sci.* 1988; 23(4): 279-291.
- 67-Roller S, Barny-Smith F, Swinton S. Natural food ingredients from biotechnology. *Food Technol.* 1991; 175-179.
- 68-Rondini G, Maifreni M, Marino M. Application of sodium lactate to preservation of cooked ham. *Ingegneria Alimentare le Conserve Animali* 1996; 12(2): 9-15.
- 69-Rossi junior OD, Schocken Hurrino RP, Vader Filho A. Bacteriological evaluation of industrially and manually prepared hamburger meat on sale in Joboti Cabal. *Arquivo Brasilerio de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 1985; 37(3): 265-279.
- 70-Shapton DA, Gould GW. *Isolation Methods for Microbiologists*. The Society for Applied Bacteriology Technical Series No:3. Academic Press, London - New York, 1969.
- 71-Shelef LA, Potluri V. Behavior of food born pathogens in cooked liver sausage containing lactates. *Food Microbiol.* 1995; 12: 221-227.
- 72-Smulders FJM. Rewiew: Lactic acid; considerations in favor of is acceptance as a meat decontaminant. *J. Food Technol.* 1986; 21: 419-436.
- 73-Soyutemiz GE. İnegöl köfte hazırlanışı, yapım tekniği ve bileşiminin saptanması üzerine araştırmalar. U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Bursa, 1990.
- 74-Soyutemiz GE. Bursa'da tüketilen pişmiş ve ızgara köftelerin mikrobiyolojik kalitesi ve bileşimi üzerine araştırmalar. U.Ü. Vet. Fak. Derg. 1993; 1-12.
- 75-Soyutemiz GE. İnegöl köftenin hazırlanışı ve 7 gün süreyle 14°C saklanması sırasındaki pH değişikleri. U.Ü. Vet. Fak. Derg. 1993; 12(3); 1-5.
- 76-Speck ML. *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association. 1984.
- 77-Tekinşen OC, Yurtyeri A, Mutluer B. Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 1980; 27(1-2): 45-63.
- 78-Topal Ş. *Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri*. Tubitak M.A.M., Gebze, 1996.

- 79- Turner BE, Foegeding PM, Larick DK, Murphy AH. Control of *Bacillus cereus* spores and spoilage microflora in sous vide chicken breast. Journal of Food Science 1996; 61(1): 217-219.
- 80- Uğur M, Nazlı B, Bostan K. Özel Besin Hijyeni Ders Notları. İ.Ü. Veteriner Fakültesi. Yay. No:57, İstanbul, 1995.
- 81- Uğur M, Nazlı B, Bostan K. Gıda Hijyeni. Teknik Yayınları, İstanbul, 1999.
- 82- Ünlütürk A, Turantaş F. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ege Üniv. Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları. Yay. No:19, Bornova, İzmir, Eylül 1994.
- 83- Vaamonde G, Scarmato G, Chirife J, Paroda JL. Inhibition of *Staphylococcus aureus* C-243 growth in laboratory media with water activity adjusted using less usual solutes. Lebensm. - Wissersch. Technol. 1986; 19: 403-404.
- 84- Veliöglu S. Gıda teknolojisinde öncelikler ve araştırma gereksinimleri . Gıda Derg. 1993; 18(4): 237-242.
- 85- Weaver RA, Shelef LA. Antilisterial activity of sodium potassium or calcium lactate in pork liver sausage. J. Food Safety 1993; 13: 133-146.
- 86- de-Wit JC, Rombouts FM. Antimicrobial activity of sodium lactat. Food Microbiol. 1990; 7: 113-120.
- 87- Westhaff D, Feldstein F. Bacteriological analyses of ground beef. J. Milk - Food Technol. 1976; 39 : 401-404.
- 88- Williams S. Food and drug administration. Bacteriological Analytical Manuel. 6th ed., AOAC, Arlington, 1984.
- 89- Yılmaz İ. Farklı ambalajlama yöntemi ve depolama sıcaklığın Tekirdağ köftesinin bazı mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Tekirdağ, 1998.
- 90- Yılmaz İ. Tekirdağ köftesinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 1994.
- 91- Yıldırım Y. Et Endüstrisi. 4.Baskı, Kozan Ofset, Ankara, 1996.

