

## **Kekik Ekstraktının Köftede Antimikrobiyal, Antioksidan ve Duyusal Etkileri**

Osman Sağdıç<sup>1</sup>, Raziye Telli<sup>2\*</sup>, Levent Akkaya<sup>1</sup>, Hasan Yetim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

<sup>2</sup>AKÜ Afyon Meslek Yüksek Okulu, Afyon

### **Özet**

Gıda güvenliğinin sağlanabilmesinde kullanılan kimyasal katkı maddeleri, özellikle kanserojenik ve teratojenik etkilerinden dolayı son zamanlarda tartışma konusu olmaktadır. Bu nedenle, tüketiciler doğal katkı maddelerine yönelmektedir. Gıda güvenliğini sağlamak amacıyla çeşitli doğal yöntemler ortaya konmakta ve bunların içerisinde aromatik uçucu yağlar, antibakteriyel özellikleriyle ön plana çıkmaktadırlar. Bitki ve baharatlar gıdalarda sadece aroma ve tat vermez aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan etkileriyle oksidasyona karşı gıdaları korurlar ve raf ömrünü artırmaktadırlar. Yapılan bu çalışmada yapılan köfteler farklı oranlarda kekik ekstraktı ilave edilmiş ve antioksidan, antimikrobiyal ve duyusal etkileri analiz edilmiştir. 250, 500 ve 1000 ppm kekik ekstraktı ilave edilen köfteler 0, 1, 3, 7, 15 ve 21. günde analiz edilmiştir. Mikrobiyolojik açıdan önemli ölçüde bir etki görülmezken kekik ekstraktının köftede antioksidan etkide bulunduğu gözlemlenmiş ve 250 ila 500 ppm düzeyinde ilave edilen kekik ekstraktlı köftelerin duyusal açıdan tüketime uygun olduğu belirlenmiştir. Sonuç itibariyle ülkemizde çok fazla tüketimi olan köftede, kekik ekstraktının antioksidan özelliğinden yararlanabileceği söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Köfte, Kekik ekstraktı, Antioksidan

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

## **Kayseri Piyasasında Satılan Bazı Et ve Et Ürünlerinde HPLC Yöntemi ile Aflatoksin Aranması**

Hasan Yetim\*, Soner Çavuş, Kemal Sarıoğlu

Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri  
\* hyetim@erciyes.edu.tr

### **Özet**

Araştırmanın amacı, Kayseri piyasasında satılan bazı et ürünleri ile bu et ürünlerinin üretiminde kullanılan hammaddelerde, aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> varlığının HPLC ile belirlenmesi ve toplam küf varlığı ile bu küflerin türlerinin tayin edilmesidir. Bu amaçla Kayseri ilinde, et ürünleri imalatı yapan entegre et tesislerinden Haziran ayı içinde toplanan toplam 44 adet örnek (22 adet et ürünü ile 22 adet et ürünleri üretiminde kullanılan hammadde) analiz edilmiştir. Numunelerin sadece % 18'in de Aflatoksin B<sub>2</sub>'ye rastlanırken, % 54.55'in de aflatoksin B<sub>1</sub>'in bulunduğu tespit edilmiştir. Ekimi yapılan et ürünleri örneklerinin % 36'sında küf varlığı gözlenirken, örneklerin % 12.5'inde tespit edilen küflerin Kodekste belirtilen limitlerin (5 ppb) üstünde olduğu görülmüştür. Analiz edilen et ürünleri hammaddelerinin ise % 68.18'inde aflatoksin bulunduğu tespit edilmiştir. Kırmızı biber örneklerinin % 25'indeki aflatoksin miktarı, Kodekste belirtilen limitlerin üzerinde çıkmıştır. Sonuç olarak, incelenen et ürünleri numunelerinin tamamının, toplum sağlığı açısından önemli bir risk olarak değerlendirilen aflatoksin ve toplam küf sayısı bakımından standartlara uygun olduğu ve HPLC'nin de bu amaçla rahatlıkla kullanılabilmesi belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoksin, Et Ürünleri, Baharat, HPLC

### **Giriş**

Aflatoksinler *Aspergillus* cinsine ait *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen potansiyel toksik, kanserojen sekonder metabolitlerdir. [1,2,3,4]. İnsan beslenmesinde en temel besin maddeleri arasında yer alan et, çoğu zaman hijyenik şartlara yeterince sahip olmayan çiftlik ve kombinalarda üretilmektedir. Hayvanlara verilen yemler uygun olmayan koşullarda depolanabilmekte, bu yemlerde de küflenmeler görülebilmektedir. Küflenmiş yemleri tüketen hayvanların etinde ve sütünde, dolayısıyla et ve süt ürünlerinde de aflatoksin bulunması olasılığı düşünülebilir. Yine hijyenik koşullarda üretilmeyen et ürünlerinin mikotoksijenik küfleri ihtiva etmesi de çok muhtemeldir.

Et ve et ürünlerinde aflatoksin analizine ilişkin bu güne kadar yapılmış çok az çalışma mevcuttur. Örneğin, bu amaçla yapılan bir çalışmada, 40 pastırma örneği TLC yöntemi ile aflatoksin yönünden incelenmiş, örneklerde 2.8 ile 47 ppb

arasında toplam aflatoksin olduğu ve yaz aylarında analiz edilen örneklerdeki toplam aflatoksin miktarının ise, kış aylarındakilere göre çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir [5]. Yine yapılan bir çalışmada, peynir ve et ürünlerinde toplam 7 ayrı mikotoksin üreten küf izole edilmiştir [2]. Bu çalışmada, Kayseri piyasasında satılan bazı et ürünleri ile bu ürünlerin üretiminde kullanılan katkı maddelerinde bulunabilecek aflatoksinlerin belirlenmesinde HPLC yönteminin kullanılabilirliği ve bu ürünlere uygun bir HPLC – Aflatoksin analiz metodunun geliştirilmesi amaçlanmıştır.

### **Materyal ve Metot**

Çalışmada Kayseri piyasasından toplanan sucuk (11), sosis (4) ve pastırma (7) gibi 22 et ürünü ile et (2), baharat karışımı (4), kırmızı biber (5), karabiber (5), kişniş (4) ve çemen unu (4) gibi toplam 22 ayrı hammadde örneği bu araştırmanın deneme materyalini oluşturmuştur. Literatürde et ve et ürünlerinde HPLC ile aflatoksin analizi için kullanılmış herhangi bir metota rastlanmadığı için fındık ve ürünlerinde kullanılan analiz metodu, kısmen modifiye edilerek bu çalışmada et ve ürünlerinin aflatoksin analizinde kullanılmıştır [6]. Analiz edilen örnekler, PDA besiyerine ekilerek küf varlığı ve bu küflerin türleri de tespit edilmiştir [7].

### **Bulgular ve Tartışma**

Bu çalışmada toplam 22 adet et ürünü ile 22 adet et ürünleri üretiminde kullanılan katkı maddesi, aflatoksin varlığı yönünden incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 1’de sunulmuştur. Çizelge 1.’den de görülebileceği gibi analiz edilen et ürünlerinin hiç birinde aflatoksin G<sub>2</sub>’ye rastlanmazken, sadece sucuk örneklerinin bir tanesinde aflatoksin G<sub>1</sub> bulunmuştur. Ayrıca incelenen numunelerin yaklaşık % 18’inde aflatoksin B<sub>2</sub>, % 54.55’inde ise aflatoksin B<sub>1</sub>’in var olduğu tespit edilmiştir. Yine analiz edilen pastırma örneklerinden sadece bir tanesinde aflatoksin B<sub>1</sub>’e rastlanmıştır. Diğer örneklerde ise herhangi bir aflatoksin bulunamamıştır. Analiz edilen et ürünleri numunelerindeki aflatoksin B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub> (n=22) ortalamasının ise 0.273 ppb düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

Beklenebileceği gibi analiz edilen çiğ et örneklerinde herhangi bir aflatoksin varlığına rastlanılmamıştır (Çizelge 1). Buna karşılık baharat karışımı, kırmızı ve karabiber örneklerinin tamamında ise aflatoksin bulunduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen kırmızı biber örneklerinin % 25’indeki aflatoksin varlığı, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limitlerin (5 ppb) çok üzerinde çıkmıştır [8]. Sonuç olarak analiz edilen et ürünleri hammaddelerinin, yaklaşık % 68.18’inde aflatoksin bulunduğu belirlenmiştir. Et ürünleri hammaddeleri örneklerinin (n=22) aflatoksin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) ortalamasının ise 1.808 ppb civarında olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 1.** Et ürünleri ve hammaddelerinde saptanan aflatoksin miktarları

Et Ürünü/ Hammaddeleri	Örnek Sayısı	Pozitif Sonuç		Tespit Edilen Miktar (ppb)
		Sayı	%	
Sucuk	11	9	82	0* - 0.956
Sosis	4	2	50	0* - 0.093
Pastırma	7	1	14	0* - 0.049
Et	2	0	0	0 - 0*
Baharat karışımı	4	4	100	0.104 – 0.929
Kırmızı biber	4	4	100	1.161 – 14.243
Karabiber	4	4	100	0.064 – 0.578
Kişişiş	4	2	50	0* - 0.086
Çemen Unu	4	1	25	0* - 1.065

0\* Tespit edilebilir limitin (Ortalama 0.012) altındaki örnekler

Ayrıca, bu araştırmada küf varlığı açısından incelenen 22 et ürünü ile 22 hammadde örneklerinden *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Paecilomyces* sp. ve *Mucor* sp. olmak üzere 6 farklı küf cinsi ile toplam 55 izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatların; % 29.1'inin *A. flavus*, % 12.7'inin ise *A. niger*, *A. versicolor* ve *P. jensenii* küf suşları olduğu belirlenmiştir. *A. flavus* daha çok baharatlarda bulunmaktadır. Bu nedenle et ürünlerine *A. flavus*'un taşınması üretim esnasındaki baharat ilavesiyle gerçekleşmektedir. Nitekim et ve et ürünleri ile yapılan bir araştırmada, Konya bölgesinde kullanılan baharatlardan özellikle kırmızı biberlerde aflatoksine rastlanması bu durumu doğrulamaktadır [9]. Yapılan bu araştırmada da benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır (Çizelge 1). Aflatoksin açısından kırmızı biber, et ve et ürünlerinde potansiyel bir tehlike olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca bu çalışmada analiz edilen bazı et ürünlerinde çok yoğun oranda küf görülmesine rağmen bunlarda aflatoksin tespit edilememiştir. Yine aynı şekilde, bazı et ürünlerinde de aflatoksin tespit edildiği halde küf varlığı tespit edilmemiştir. Bu sonuç, mikotoksin oluşturan fungusun üründe bulunmasının, mutlaka mikotoksinin de olacağı anlamına gelmediğini göstermektedir [10, 11].

Sonuç olarak bir çok bitkisel ürünün aflatoksin analizlerinde yaygın olarak kullanılan HPLC metodunun, et ve et ürünlerinin aflatoksin analizlerinde de 0.0031 ppb'e kadar duyarlı ve % 93'lük bir geri kazanım oranı ile de bu ürünler için çok rahatlıkla kullanılabilir uygun bir aflatoksin analiz metodu olabileceği görülmüştür.

**Kaynaklar**

1. Tayfur M. 2006. Mikotoksinler ve Karsinojenik Etkileri. 2006, <http://www.un.org.tr/who/nutrition/mikotoksinler.htm>, (15.05.2006)
2. Iqbal AS, Khalil AI, Shah H. 2006. Aflatoxin Contents of Stored and Artificially Inoculated Cereals and Nuts, Food Chemistry, 98, 699 – 703.
3. Gürbay A, Aydın S, Girgin G, Engin AB, Şahin G. 2006. Assessment of Aflatoxin M<sub>1</sub> Levels in Milk in Ankara, Food Control, 17, 1 – 4.
4. Aydın A, Erkan ME, Başkaya R, Çiftçiöğlü G. 2007. Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub> Levels in Powdered Red Pepper, Food Control, 18, 1015 – 1018.
5. Refai MK, Niazi ZM, Aziz NH, Khafaga NEM. 2003. Incidence of Aflatoxin B<sub>1</sub> in The Egyptian Cured Meat Basterma and Control by  $\gamma$ -irradiation, Nahrung, 47, 373 – 382.
6. Horwitz W, In: Cunniff, P. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17<sup>th</sup> Edition. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
7. Hasenekoğlu İ. 1988. Erzurum ve Çevresinde Üretilen Küflü Peynirlerin Mikrofungus Florası Üzerine Bir Araştırma, Kükem Dergisi, 11 (1) 35 – 42.
8. Taydaş E. 2006. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. 2006, <http://www.ordutarim.gov.tr/subeler/kontrol/aflatoksin/insan%20sag%20etkisi.htm> (15.01.2006).
9. Gürbüz Ü, Nizamlıoğlu M, Nizamlıoğlu F, Dinç İ, Doğruer Y. 1999. Bazı Et, Süt Ürünleri ile Baharatlarda Aflatoksin B<sub>1</sub> ve M<sub>1</sub> Aranması, Veterinarium, 10, 1.
10. Bullerman LB. 1984. Formation and Control of Mycotoxins in Food, Journal Food Protection, 47: 637 – 646.
11. Makaracı A. 2006. Farklı Kurutma Yöntemlerinin Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi, Trakya Üniv. Fen Bilimleri Enst. YL Tezi, Trakya Üniv., Edirne.

## **Et Ürünlerinde Kullanılan Farklı Tür Hayvan Etlerinin Tespitinde Real-Time PCR Tekniği**

Zülal Kesmen\*, Ayten Güllüce, Hasan Yetim

Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 38039, Kayseri

<sup>1</sup>zkesmen@erciyes.edu.tr

### **Özet**

Et endüstrisinde bazı üreticilerin düşük kaliteli veya eti yenilmeyen hayvanlara ait etleri doğrudan ya da çeşitli ürünlere işleyerek tüketime sunması, tüketicilerin sağlık, ekonomik ve kültürel değerler açısından bir takım problemlerle karşılaşmalarına neden olabilmektedir. Et ve et ürünlerinin elde edildiği hayvan türlerini belirlemek ve bu yolla yapılabilecek hileleri önlemek amacıyla son yıllarda DNA'ya dayalı teknikler oldukça önem kazanmış ve PCR tekniği, alternatif bir metot olarak öne çıkmıştır. Özellikle yalnızca kalitatif analizlerinin yapılabildiği geleneksel PCR'a kıyasla, hassasiyeti ve spesifitesi daha yüksek, dinamik aralığı daha geniş, kontaminasyon riski çok daha düşük ve kantitatif sonuç da verebilen real-time PCR tekniği, tür tayini amacıyla yapılan çalışmalarda, yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikte hedef genin amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyal ölçülerek PCR sonrasında ilave bir işleme gerek duyulmaksızın sonuç alınabilmektedir. Floresans ışımaya yapan PCR ürünlerinin tespitinde kullanılan prensibe bağlı olarak farklı real-time PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden her birinin et ve et ürünlerinde tür tespiti amacıyla kullanılabilirliği bir çok araştırmacı tarafından test edilmiş ve çok umut verici sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada da, et ve et ürünlerinin orijinini tespit etmek amacıyla kullanılan farklı real-time PCR yöntemleri ile bu tekniğin et bilimi ve teknolojisi alanındaki geleceği değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Real-time PCR, Et ürünleri, Tür tayini

### **Giriş**

Et ürünlerinde kullanılan etin geldiği hayvan türünü belirlemek ve bu yolla yapılabilecek hileleri önlemek amacıyla protein ve DNA gibi türe spesifik komponentlerin analizine dayanan pek çok yöntem geliştirilmiştir. Ancak bazı et ürünlerinin üretiminde uygulanan ısı işlem ve benzeri teknolojik uygulamaların proteinlerin denatürasyonuna sebep olması ve protein kompozisyonunun tür içinde bile farklılık gösterebilmesi bu metotların başarısını azaltmaktadır. Ayrıca bu metotlar, yakın ilişkili türlerin birbirinden ayrılmasında yetersiz kalmakta ve türe spesifik proteinlerin izolasyonunun zor ve zaman alıcı olması nedeniyle de rutin kullanımlara uygun bulunmamaktadır (1,2,3). Et türlerinin tayininde karşılaşılan

tüm bu problemler, spesifik DNA dizileri amplifikasyonunu sağlayan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniğinin kullanımı ile önemli ölçüde çözümlenmiştir. PCR uygulamaları ile bir materyaldeki özgül bir gen ya da gen bölgesi çoğaltıldıktan sonra elde edilen ampliconlar kullanılarak daha ileri derecede tür tayinleri yapılabilmektedir (4). Bugün PCR tekniği, çok çeşitli uygulama alanları olan, üzerinde fazlaca araştırmaların yapıldığı ve oldukça hızlı gelişen bir tekniktir. Son yıllarda, PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri için kullanılan cihazlar (thermocyclers), hassas ölçüm aletleri ile birleştirilerek "real-time PCR" adı verilen yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

### **Real-time PCR Tekniği**

Klasik PCR'dan farklı olarak real-time PCR tekniğinde, nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artan floresans sinyalin seviyesi, enstrümantal olarak belirlenebilmektedir. Bu teknikte, ürün analizi reaksiyon sırasında yapıldığı için, amplifikasyon sonrasında uygulanan agaroz jel elektroforez işlemine de gerek kalmamaktadır. Böylece sonuçlar reaksiyon anında alınabilmekte ve çok sayıda örnek, son derece az bir kontaminasyon riskiyle güvenli bir şekilde analiz edilebilmektedir. Araştırmacılar real-time PCR tekniğinin geniş bir dinamik aralığa sahip olmasının yanında, daha spesifik bir deteksiyona ve kantitasyona imkan sağlaması nedeniyle klasik PCR'a kıyasla oldukça avantajlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (5,6).

### **Et Ürünlerinde Real-time PCR Tekniği ile Tür Tayini**

Amplifikasyon ürünlerinin tespitinde kullanılan floresans molekülün özelliğine bağlı olarak farklı real time PCR tipleri geliştirilmiştir. Aşağıda et ve et ürünlerinde tür tayini amacıyla kullanılan real-time PCR tipleri kısaca özetlenmiştir.

a. Çift Zincirli DNA'ya Bağlanan Nükleik Asit Boyaları: Nükleik asitlere bağlanan bir floresans boyanın oluşturduğu sinyalin termocycle üzerindeki optik okuyucu ile tespit edildiği bir real-time PCR tipidir. Bu teknikte en çok kullanılan boyalardan biri SYBR Green I'dir. Bu boya tüm çift zincirli DNA moleküllerine bağlandığı için amplifiye edilmek istenen ürünler ile nonspesifik ampliconlar birbirinden, hedef DNA'nın uzunluğu ve G-C oranı ile yükselen erime noktasının (T<sub>m</sub>) belirlendiği melting kurve analizi yapılarak ayrılabilir (6). SYBR Green I boyası kullanarak gerçekleştirilen bir araştırmada deteksiyon limiti domuz ve kanguru (wallaroo) için 0.04 pg DNA, at ve sığır türleri için ise 0.4 pg DNA olarak belirlenmiştir (7).

b. Hedef DNA Dizisine Spesifik Problar; Oligonükleotid problemlerin kullanıldığı pek çok real-time PCR tekniği mevcut olmakla birlikte TaqMan probe yöntemi, tür tayini çalışmalarında daha fazla tercih edilmektedir. TaqMan sisteminde hedef DNA dizisine spesifik olarak bağlanabilen bir problemin (3. bir oligonükleotid) 5' ucunda bulunan floresans boyanın sinyal oluşturması, 3' ucundaki baskılayıcı



boya tarafından engellenmektedir. Prob, Taq DNA polimeraz enziminin 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi ile 5' ucundan yıkılınca floresans boya serbest hale geçer ve sinyal oluşturur (6). Oldukça hassas bir yöntem olan TaqMan probe tekniği ile eşek DNA'sı 1pg, at DNA'sı ise 5 pg seviyesinde tespit edilebilmiştir (8). Dooley et al. (2004), sığır, koyun, domuz, tavuk ve hindi türlerinden oluşan çiğ et karışımlarında her bir türün, Rodriguez et al. (2005) ise sığır-domuz eti karışımlarında domuz etinin, %0.5 seviyesinde belirlenebileceğini bildirmişlerdir. DNA'nın ileri derecede degrade olduğu sterilizasyon işlemi uygulanmış (konserve) ürünlerde, TaqMan prob yöntemi ile tür tespiti yapabilmek için, oldukça kısa fragmentler (66 -76 bç) amplifiye edilmiş ve konserve ürünlerde, çiğ ürünlere kıyasla (%0.01 seviyesinde) deteksiyon limiti 10 kat daha düşük bulunmuştur (11).

Hird et al., (12) yaban ördeği ve Moskova ördeğinin, mitokondrial sitokrom b geni üzerinde her iki tür için spesifik primerler ile ortak bir TaqMan MGB prob kullanılarak belirlenebileceğini bildirmişlerdir. Tek zincirli hedef DNA ile son derece stabil bir dubleks oluşturan MGB proplar hibridazyona dayalı tekniklerde daha kısa problemlerin (13-18 nükleotid) kullanımına imkan sağlar. Böylece bir taraftan spesifiteyi artırırken, diğer taraftan reporter boya ile baskılayıcı boyayı birbirine yaklaştırarak daha etkin bir baskılama dolayısıyla daha bir yüksek duyarlılık sağlar (6). Sığır, domuz, koyun, tavuk, hindi ve deve kuşu türlerinin kantitatif olarak belirlenmesi için TaqMan MGB problemlerin kullanıldığı başka bir araştırmada ise, geliştirilen yöntemin 2 veya 4 farklı türden oluşan deneysel karışımlarda başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (13).

Farklı bir real-time PCR tipi olan scorpion probe tekniğinde ise uçları birbirine yapışık saç tokası şeklinde işaretli bir probe, primer ile birleştirilmiştir. PCR işlemi sırasında primer amplikonların replikasyonunu gerçekleştirir, probe ise açılarak bu yeni sentezlenen amplikona hibridize olur ve bu sırada floresans marker baskılayıcı boyadan ayrılır ve sinyal üretir. Bu yöntemle Sawyer et al. (14) tarafından koyun/sığır eti karışımlarında %0.1 seviyesindeki sığır eti kantitatif olarak tespit edilebilmiştir.

### **Sonuç**

Son yıllarda başta Avrupa Birliği ülkeleri olmak üzere pek çok ülkede gıda etiketleme ile ilgili yapılan yasal düzenlemeler, et türlerinin tayininde kantitatif metotlara duyulan ihtiyacı artmıştır. Et türlerinin tayinlerinde kantitatif sonuçlar bir taraftan etiket bilgilerine uygunluk kontrollerinin etkin bir şekilde yapılmasını sağlarken, diğer taraftan teknik olarak kaçınılmaz olan bulaşmalar ile kasıtlı ve hile amacıyla yapılan katkılamaları birbirinden ayırmak açısından önemlidir. İşte real-time PCR tekniği, tür tayini ile ilgili bu tür ihtiyaçları karşılayabilen oldukça güçlü bir teknik olarak öne çıkmaktadır. Real-time PCR, pahalı bir sistem olması

nedeniyle kalite kontrol laboratuvarlarında henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. Ancak giderek yeni kullanım alanları bulunan çok amaçlı bir teknik olması nedeniyle hızla yaygınlaşacağı düşünülmektedir.

### **Kaynaklar**

1. Hofmann K. 1987. Fundamental problems in identifying the animal species of muscle meat using electrophoretic methods. In *Fleishwirts*, 67, 820-826.
2. Koh MC, Lim CH, Chua SB, Chew ST, Phang STW. 1998. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints for identification of red meat animal species. *Meat Sci.*, 48, (3/4), 275-285.
3. Meyer R, Candrian U. and Lüthy J. 1994. Detection of pork in heated meat products by Polymerase Chain Reaction (PCR). *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 77, 617-622.
4. Lockley AK, Bardsley RG. 2000. DNA based methods for food authentication. *Trends in Food Sci. Technol.* 11, 67-77.
5. Mackay IM, Arden KE. 2002. Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucl Acids Res.*, 30,1292.
6. Dorak MT. 2006. Real-time PCR. M. Tefvik Dorak (Ed.). Taylor & Francis Group.
7. López-Andreo M, Garrido-Pertierra A, Puyet A. 2006. Evaluation of Post-Polymerase Chain Reaction Melting Temperature Analysis for Meat Species Identification in Mixed DNA Samples. *Agric. Food Chem.*, 54, 7973 -7978.
8. Chisholm J, Conyers C, Booth C, Lawley W, Hird H. 2005. The detection of horse and donkey using real-time PCR. *Meat Sci.*, 70, 727-732.
9. Dooley JJ, Paine KE, Garrett SD, Brown HM. 2004. Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat Sci.*, 68, 431-438.
10. Rodriguez MA, García T, González I, Hernández PE, Martín R. 2005, TaqMan real-time PCR for detection and quantitaion of pork in meat mixtures. *Meat Sci.*, 70,113-120.
11. Brodmann PD, Moor D. 2003. Sensitive and semi-quantitative TaqMan™ real-time polymerase chain reaction systems for the detection of beef (*Bos taurus*) and the detection of the family Mammalia in food and feed. *Meat Sci.*, 65, 599-607
12. Hird H, Chisholm J, Brown J. 2005. The detection of commercial duck species in food using a single probe-multiple species-specific primer real-time PCR assay: The detection of commercial duck species in food using real-time PCR assay. *Eur. Food Res. Technol.* 221,559-563
13. López-Andreo M, Lugo L, Garrido-Pertierra A, Prieto M I, Puyet A. 2005. Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by RT-PCR. *Analytical Biochemistry*, 339,73-82
14. Sawyer J, Wood C, Shanahan D, Gout S, McDowell D. 2003. Real-time PCR for quantitative meat species testing. *Food Control* 14,579-583.

## **Kekik Uçucu Yağı İlavesinin Kuşbaşı Etler ve Bonfilenin Bazı Özelliklerine Etkisi\***

Lütfiye Ekici, İsmet Öztürk, Osman Sağdıç \*\*, Hasan Yetim

Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

\*Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi'nce (FBA-06-10) desteklenmiştir.

\*\*osagdic@erciyes.edu.tr

### **Özet**

Günümüzde doğal yollarla gıdaları koruma çalışmaları gittikçe yaygınlaşmaktadır. Kırmızı etin bileşiminden dolayı kolayca bozulabilme özelliği araştırmacıları, tüketilebilirliğini bozmadan raf ömrünü artırmada yeni çözümler üretmeye yönlendirmektedir. Bu çalışmada kekik (*Origanum onites*) bitkisinin uçucu yağı çıkarılarak, sızdırmaz poşetlerdeki kuşbaşı ve parça etlerin her birine, 0, 250, 500 ve 1000 ppm düzeyinde ilave edilerek ağızları sıkıca kapatılmıştır. Örnekler 4°C'lik depoda 0, 3, 7, 10 gün, -18 °C'de ise 60 ve 120 gün süreyle depolanarak çeşitli fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. TBA değerleri, kuşbaşı ve bonfilede depolama sonrasında kontrol örneklerinin TBA değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Etlerde kontrol ve 250 ppm'lik uçucu yağ uygulamalarına göre 500 ve 1000 ppm'lik uçucu yağ uygulamaları, mikrobiyolojik özelliklerde yaklaşık olarak 1-2 kob/g logaritmik bir azaltma sağlamıştır. Sonuç olarak belirli oranlarda kekik uçucu yağı ilavesinin kuşbaşı ve bonfilenin taze olarak muhafazasında olumlu etkilerinin olabileceği ve konuyla ilgili araştırmalara devam edilmesi gerektiği anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bonfile, Kuşbaşı et, Uçucu yağ, TBA, Mikrobiyolojik özellikler

### **Giriş**

Et ve ürünlerinde lipit oksidasyonu ve mikrobiyal bozulmalar önemli sorunlar oluşturmaktadır. Bu bozulmalar ile et ve ürünlerinin besin değerindeki değişimlerin yanı sıra renk, lezzet ve koku gibi tüketici beğenisini direkt olarak etkileyen kalite kriterleri de olumsuz etkilenmektedir. Bu değişimler ürünlerin raf ömrünü kısalttığı gibi ortaya çıkan metabolitler de tüketici sağlığını tehdit etmekte ve gıda kaynaklı sağlık problemlerine neden olmaktadır. Oksidasyon sonucu ortaya çıkan malondialdehit gibi bazı oksidasyon ürünlerinin karsinogenik etkiler gösterdiği belirtilmektedir (1,2). Gıda endüstrisinde oksidasyonu engellemek ya da geciktirmek amacı ile BHA, BHT gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak, bazı sağlık riskleri taşımaları nedeni ile sentetik katkı maddelerinin gıda

endüstrisinde kullanımlarında sıkı düzenlemelere gidilmektedir (3). Buna karşın antioksidan etki gösteren bitki ve baharat ekstraktları GRAS kategorisinde yer almaktadır (4).

### Materyal ve Yöntem

**Materyal:** Örnekler özel bir et kombinasyonundan temin edilmiştir. Kekik (*Origanum onites*) bitkisinin uçucu yağı Clavenger tipi aparat yardımıyla çıkarılmıştır. Kuşbaşı ve parça etler sızdırmaz, steril poşetlere koyulmuş ve havası mümkün olduğunca dışarı çıkarılan poşetlerin ağızları sıkı bir şekilde kapatılmıştır. Her bir poşete, 0, 250, 500 ve 1000 ppm düzeyinde uçucu yağ enjektörle ilave edilerek, enjektör delikleri bantlarla kapatılmış ve uçucu yağın poşetin içinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Etler 4°C’ de 0, 3, 7 ve 10 gün veya -18°C’ de 60 ve 120 gün depolanmıştır.

**TBA Analizi:** Ulu (5)’ya göre yapılmıştır. **Duyusal Analiz:** Etlerin duyusal analizinde hedonik skala yöntemi kullanılmıştır (6).

**Mikrobiyolojik Analizler:** Örneklerde sonuçlar, 1 g ette koloni oluşturan birim (kob)’in logaritmik sayısı olarak belirlenmiştir (7). Örneklerde ayrıca pH, nem ve yağ analizleri yapılmıştır (8).

### Sonuç

Araştırmada elde edilen TBA sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Analiz sonuçları uçucu yağ ilave edilen örneklerin kontrole kıyasla daha az oksidasyona uğradıklarını ortaya koymaktadır. Araştırma sonuçları yapılan diğer çalışmalarla uyumludur. Nitekim bir çalışmada bifteklerin yüzeyine püskürtülen doğal antioksidanların oksidatif bozulmayı etkili bir şekilde geciktirdiği saptanmıştır (9). Bir başka çalışmada ise sığır kıymalarına farklı konsantrasyonlarda kateşin ilavesinin oksidasyonun geciktirilmesinde kullanılabileceği aktarılmaktadır (10).

Çizelge 1. Uçucu yağ uygulanmış taze ve dondurarak muhafaza edilen kuşbaşı ve bonfile etlerin TBA değerleri

Et Çeşidi	Depolama Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (gün)	Eklenen Uçucu Yağ Miktarları (ppm)			
			0 (Kontrol)	250	500	1000
Kuşbaşı	4	0	0.14±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01	0.14±0.01
		3	0.25±0.02	0.16±0.01	0.13±0.02	0.15±0.01
		7	0.38±0.00	0.33±0.02	0.35±0.01	0.33±0.01
		10	0.50±0.03	0.47±0.01	0.46±0.01	0.43±0.00
	-18	60	0.23±0.01	0.20±0.02	0.15±0.02	0.14±0.01
		120	0.26±0.02	0.22±0.03	0.20±0.01	0.19±0.02
Bonfile	4	0	0.17±0.01	0.17±0.01	0.17±0.01	0.17±0.01
		3	0.30±0.02	0.25±0.01	0.21±0.01	0.17±0.00
		7	0.39±0.01	0.38±0.02	0.33±0.01	0.22±0.01
		10	0.50±0.01	0.44±0.03	0.39±0.03	0.25±0.02
	-18	60	0.25±0.01	0.25±0.01	0.21±0.02	0.19±0.01
		120	0.38±0.01	0.27±0.01	0.24±0.02	0.23±0.01

Örneklere uçucu yağ ilavesi nem ve yağ miktarlarında değişime neden olmamıştır. Örneklerden özellikle 500 ppm düzeyindeki uçucu yağ ilavesi 10 panelist tarafından kabul görmüştür. Örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 2 ve 3 'te görülmektedir.

Çizelge 2. Uçucu yağ uygulanmış taze ve dondurarak muhafaza edilen bonfile etlerin mikrobiyolojisi (log kob/g)

Mikrobiyolojik özellikler	Miktar, ppm	4 °C'de depolama				-18 °C'de depolama	
		0. gün	3. gün	7. gün	10. gün	60. gün	120. gün
TMAB	0	3.27±0.14	4.61±0.05	5.62±0.07	6.64±0.14	4.66±0.03	3.20±0.14
	250	3.33±0.11	4.59±0.10	5.65±0.08	6.62±0.12	4.59±0.09	3.31±0.07
	500	3.32±0.11	4.62±0.08	5.54±0.10	6.61±0.05	4.53±0.08	3.05±0.25
	1000	3.20±0.24	3.42±0.21	4.37±0.18	5.33±0.17	4.12±0.13	2.84±0.15
Psikrofil	0	1.79±0.14	2.32±0.08	3.52±0.07	5.45±0.10	3.82±0.19	2.66±0.09
	250	1.82±0.13	2.25±0.14	3.57±0.08	5.65±0.05	3.84±0.15	2.03±0.24
	500	1.84±0.15	2.11±0.15	3.54±0.07	5.29±0.18	3.73±0.07	1.87±0.18
	1000	1.74±0.11	1.97±0.14	2.41±0.10	4.36±0.12	3.87±0.18	1.73±0.05
Maya ve küf	0	1.15±0.15	2.32±0.08	3.09±0.22	4.22±0.12	3.09±0.22	2.05±0.08
	250	1.10±0.14	2.27±0.16	3.14±0.15	4.23±0.08	3.00±0.23	2.00±0.15
	500	1.05±0.11	2.30±0.17	3.17±0.13	4.16±0.08	3.79±0.14	2.05±0.08
	1000	1.15±0.15	2.17±0.14	3.05±0.19	4.08±0.08	3.87±0.18	1.98±0.03
Koliform	0	1.79±0.14	2.48±0.10	3.06±0.22	4.17±0.14	2.17±0.14	1.79±0.14
	250	1.84±0.15	2.40±0.05	3.07±0.21	4.15±0.12	2.10±0.11	1.74±0.11
	500	1.74±0.11	2.42±0.03	3.12±0.22	4.11±0.06	2.20±0.12	1.73±0.07
	1000	1.63±0.11	2.25±0.08	2.74±0.09	3.02±0.13	1.58±0.13	-
<i>S. aureus</i>	0	2.18±0.10	2.79±0.05	3.24±0.02	4.00±0.14	2.84±0.15	-
	250	2.23±0.08	2.80±0.03	3.23±0.01	4.01±0.07	2.95±0.19	-
	500	2.18±0.10	2.79±0.02	3.22±0.02	3.95±0.05	2.74±0.11	-
	1000	2.16±0.08	2.76±0.04	3.21±0.01	3.87±0.02	-	-
LAB (MRS Agar)	0	2.50±0.11	3.40±0.05	4.81±0.13	5.82±0.08	3.92±0.17	2.84±0.15
	250	2.51±0.10	3.37±0.06	4.79±0.10	5.81±0.07	3.89±0.14	2.86±0.13
	500	2.44±0.08	3.29±0.09	4.67±0.07	5.72±0.06	3.74±0.11	2.83±0.13
	1000	2.54±0.11	3.19±0.16	4.67±0.09	5.67±0.06	3.77±0.08	2.91±0.12

TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri; LAB: Laktik asit bakterileri.

Çizelgeler incelendiğinde kuşbaşı etlerin daha fazla mikroorganizma içerdiği görülmektedir. Kontrole kıyasla 500 ve 1000 ppm uçucu yağı ilave edilmiş etlerin mikroorganizmalar üzerinde biraz daha etkili olduğu belirlenmiştir. Antioksidan ve antimikrobiyal etkileri olan bazı baharatların kullanımı ile et kalitesi ve raf ömrü iyileştirilerek ekonomik kayıpların önüne geçileceği bildirilmektedir (11). Ülkemiz gibi baharat çeşitliliği açısından son derece zengin bir ülkenin doğal kaynaklarını değerlendirmek adına kekikten elde edilen uçucu yağın farklı parça büyüklüğündeki kırmızı etlerdeki antioksidan ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar uçucu yağ ilavesinin etlerin duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine olumlu yönde etki yaptığını ortaya koymaktadır.

## Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

Çizelge 3. Uçucu yağ uygulanmış taze ve dondurarak muhafaza edilen kuşbaşı etlerin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/g)

Mikrobiyolojik özellikler	Miktar, ppm	4 °C'de depolama				-18 °C'de depolama	
		0. gün	3. gün	7. gün	10. gün	60. gün	120. gün
TMAB	0	3.84±0.04	4.55±0.06	5.71±0.07	6.65±0.05	4.80±0.02	3.39±0.07
	250	3.84±0.02	4.56±0.06	5.74±0.05	6.63±0.07	4.81±0.03	3.35±0.09
	500	3.85±0.02	4.51±0.06	5.70±0.04	6.38±0.08	4.78±0.05	2.87±0.18
	1000	3.82±0.02	4.49±0.03	5.69±0.03	6.30±0.09	4.76±0.09	2.79±0.14
Psikrofil	0	1.82±0.19	2.12±0.13	3.97±0.14	5.42±0.12	2.29±0.06	1.79±0.14
	250	1.89±0.14	2.07±0.11	3.92±0.17	5.35±0.10	2.15±0.12	1.74±0.11
	500	1.79±0.14	2.10±0.11	3.88±0.13	5.30±0.10	2.02±0.06	1.57±0.07
	1000	1.74±0.11	1.89±0.14	3.95±0.19	5.22±0.12	2.00±0.15	2.42±0.10
Maya ve küf	0	2.08±0.08	2.93±0.03	3.23±0.01	4.94±0.03	3.18±0.10	1.80±0.05
	250	2.15±0.12	2.81±0.06	3.25±0.01	4.91±0.03	2.13±0.10	1.72±0.03
	500	1.95±0.19	2.80±0.06	3.13±0.03	4.85±0.05	2.95±0.19	1.73±0.03
	1000	1.92±0.17	2.84±0.15	3.05±0.04	4.82±0.05	2.89±0.14	1.74±0.05
Koliiform	0	1.05±0.11	1.66±0.04	2.41±0.07	3.32±0.09	1.79±0.14	1.74±0.11
	250	1.10±0.14	1.64±0.09	2.40±0.05	3.34±0.09	1.86±0.09	1.76±0.11
	500	1.17±0.18	1.61±0.07	2.35±0.11	3.29±0.13	1.87±0.18	1.74±0.11
	1000	1.10±0.14	1.56±0.13	2.29±0.09	3.25±0.15	1.86±0.05	1.75±0.09
<i>S. aureus</i>	0	1.90±0.21	2.87±0.06	3.29±0.22	5.12±0.22	2.23±0.16	2.14±0.06
	250	1.93±0.23	2.83±0.10	3.28±0.11	5.18±0.10	2.34±0.04	2.11±0.08
	500	1.87±0.18	2.72±0.09	3.10±0.11	5.06±0.14	2.05±0.08	1.87±0.18
	1000	1.90±0.21	2.74±0.07	3.12±0.13	4.94±0.11	1.94±0.11	2.11±0.08
LAB (MRS)	0	2.21±0.16	2.69±0.08	4.44±0.02	5.59±0.04	2.48±0.07	2.30±0.10
	250	2.25±0.15	2.69±0.14	4.43±0.01	5.58±0.05	2.32±0.09	2.10±0.06
	500	2.19±0.15	2.71±0.06	4.40±0.03	5.54±0.06	2.36±0.06	2.11±0.08
	1000	2.13±0.10	2.58±0.05	4.37±0.04	5.41±0.02	2.05±0.08	2.00±0.01

TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri; LAB: Laktik asit bakterileri.

## Kaynaklar

1. Ames BM. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. Science 221, 1256-1263.
2. Frankel EN. 1991. Recent advances in lipid oxidation. A review. J Sci. Food Agr. 54, 495-511.
3. Biswas AK, Keshri RC., Bishit GS. 2004. Effect of enrobing and antioxidants on quality characteristics of precooked pork patties under chilled and frozen storage conditions. Meat Sci. 66, 733-741.
4. Hao YY, Brackett RE, Doyle MP. 1998. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. Food Mic. 15, 367-378.
5. Ulu H. 2004. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. Meat Sci. 67, 683-687.
6. Yetim H. 2001. Gıda Analizleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, No: 227, Erzurum, ss. 161.
7. de Man JC, Rogosa M, Sharpe ME. 1960. Medium for the Cultivation of Lactobacilli. J.Appl. Bacteriol. 3:130-138.
8. Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba Ö. 1995. Et ve ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. II. Baskı, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum, ss. 268.
9. Djenane D, Sanchez-Escalante A, Beltran JA, Roncales P. 2002. Ability of  $\alpha$ -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. Food Chem. 76, 407-415.
10. Tang SZ, Ou SY, Huang XS, Li W, Kerry JP, Buckley DJ. 2005. Effects of added tea catechins on colour stability and lipid oxidation in minced beef patties held under aerobic and modified atmospheric packaging conditions. J Food Eng. 77 (2) 248-253.
11. Yin M, Cheng W. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Sci. 63, 23-28.