



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2012; 26 (1): 35 - 46
http://www.fusabil.org

Eugenol ve Thymol'ün Pastörize Tereyağının Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalitesi Üzerine Etkisi

Pınar KARATEPE¹
Bahri PATIR²

¹Veteriner Kontrol
Enstitüsü Müdürlüğü,
Katkı Kalıntı Laboratuvarı,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada, deneysel olarak üretilen pastörize tereyağı örnekleri üzerine, 100 ppm oranında eugenol ve thymol'ün farklı muhafaza sıcaklıklarında (4 ± 1 ile -20 ± 1 °C), kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kaliteye olan etkisi incelendi. Yapılan analizler neticesinde, pH değeri, tiyobarbitürik asit (TBA) sayısı ve diasetil değeri bakımından, kontrol grubu ile eugenol ve thymol ilaveli gruplar arasında her iki muhafaza sıcaklığında da istatistiki olarak önemli bir fark görülmedi ($p > 0,05$). Ancak, serbest yağ asitleri miktarı açısından, 4 °C'de muhafaza edilen örnekler arasında önemli fark görülürken ($p < 0,05$), -20 °C'de muhafaza edilen örneklerde bu farklılıklar önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Araştırmada, deneysel tereyağı örneklerinde peroksit sayısı tespit edilebilir seviyenin altında bulundu.

Örneklerdeki toplam mezofilik aerob mikroorganizma, Laktik *Streptococcus* spp. ve lipolitik mikroorganizma sayısı 4 °C'de muhafaza edilen tüm gruplarda muhafaza süresince önemli bir değişim göstermedi ($p > 0,05$). Buna karşın, -20 °C'de muhafaza edilenlerde, muhafaza başlangıcında saptanan değer ile muhafazanın ilerleyen günlerinde tespit edilen değerler arasında önemli farklılıklar bulundu ($p < 0,05$). Çalışmada, tüm gruplardaki, küf, koliform, *Lactobacillus* spp. sayısı bakımından önemli düzeyde bir değişiklik tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Yapılan duyusal analizde, gerek gruplar arasında, gerekse grup içinde muhafaza süresince görünüm ve kıvam kriterlerinde herhangi bir değişim gözlemlenmedi ($p > 0,05$). Yine lezzet ve koku kriterlerinde meydana gelen değişimler de istatistiki olarak önemli bulunmadı ($p > 0,05$).

Sonuç olarak, 100 ppm oranında ilave edilen eugenol ve thymol'ün örneklerin muhafazası sırasında kimyasal ve mikrobiyolojik bazı parametreler üzerine beklenen etkiyi göstermediği ve duyusal açıdan ürünün nitelikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Tereyağı, eugenol, thymol, raf ömrü, kimyasal, mikrobiyolojik, duyusal, kalite.

Effects of Eugenol and Thymol on Chemical, Microbiological and Sensory Quality of Pasteurized Butter

In this study, effects of eugenol and thymol at 100 ppm concentration on chemical, microbiological and sensory attributes of pasteurized butter samples produced experimentally were investigated during storage period at different storage temperatures. Results indicated that there was no significant difference between control and other groups containing terpenes in terms of pH levels, thiobarbituric acid (TBA) and diacetyl values at both storage temperatures (4 ± 1 and -20 ± 1 °C) ($p > 0.05$). However, a significant difference was found between groups stored at 4 ± 1 °C in terms of free fatty acid levels ($p < 0.05$) while no significant difference was observed between groups stored at -20 ± 1 °C ($p > 0.05$). Peroxide value was below the detection limit in all samples.

Numbers of total mesophilic aerobic bacteria, lactic *Streptococcus* spp. and lipolytic bacteria showed insignificant changes in all groups stored at 4 ± 1 °C ($p > 0.05$). In groups stored at -20 ± 1 °C, however, there were significant differences between the storage days in terms of the numbers of bacteria mentioned above ($p < 0.05$). No significant difference were observed between groups stored at both storage temperatures in terms of the numbers of mold, coliform and *Lactobacillus* spp. ($p > 0.05$).

In sensory attributes, between groups or within groups, no changes were observed in appearance and consistency of the samples during storage period ($p > 0.05$). Significant difference was also not found between groups in terms of taste and odor ($p > 0.05$).

As a result, it was concluded that 100 ppm of eugenol and thymol added into the samples did not show the expected significant effects on some chemical and microbiological parameters, and their effects on sensory attributes of the butter samples were insignificant during the storage period.

Key Words: Butter, eugenol, thymol, shelf-life, chemical, microbiological, sensory, quality.

Giriş

Tereyağı Standardına (TS1331) göre; "Tereyağı, krema (kaymak) ve yoğurdun tekniğine uygun metot ve aletlerle işlenmesi sonucunda elde edilen, gerektiğinde Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde izin verilen katkı maddeleri de ilave edilebilen kendine has tat, koku ve kıvamdaki bir süt mamulüdür" şeklinde; kahvaltılık tereyağı ise,

Geliş Tarihi : 26.08.2011
Kabul Tarihi : 30.01.2012

Yazışma Adresi Correspondence

Pınar KARATEPE
Veteriner Kontrol
Enstitüsü Müdürlüğü,
Katkı Kalıntı Laboratuvarı,
Elazığ - TÜRKİYE

pınar_su10@hotmail.com

"Pastörize edilmiş kremadan tekniğine uygun olarak elde edilmiş, tereyağı kültürü katılarak özel koku ve tat kazandırılmış ve en az %82 süt yağı bulunan tereyağıdır" şeklinde tanımlanmaktadır (1).

Ülkemizde tereyağlarının dayanıksızlığı önemli bir problemdir. Üretilen tereyağlarını çoğu zaman birkaç hafta bile muhafaza etmek mümkün olamamakta, ya duysal birçok kusur ortaya çıkmakta, ya da dayanıklılığını artırmak için tuzlama veya eritme uygulanarak sadeyağa dönüşürme yoluna gidilmektedir. Bu durum ise tereyağının kahvaltılık olarak kullanılmasını kısıtlamaktadır.

Yağ oksidasyonu, gıdaların bozulmasının başlıca nedenlerinden biridir ve gıda endüstrisi açısından büyük bir ekonomik öneme sahiptir. Çünkü oksidasyon yenilebilir katı ve sıvı yağlarda ve yağ içeren gıdalarda genellikle ransit lezzet olarak adlandırılan ve gıdaların kabul edilemez hale gelmelerini sağlayan veya raf ömürlerini düşüren çeşitli kötü tat ve kokuların oluşmasına neden olur. Ayrıca oksidatif reaksiyonların, gıdaların besin değerini azalttığı ve bazı oksidasyon ürünlerinin toksik olma potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (2).

Tereyağının, normal ambalaj materyalleri yerine UV ışığını geçirmeyen materyallerle paketlenmesi ransiditenin önlenmesi açısından önemlidir. Ayrıca üretimde bazı katkı maddelerinin örneğin antioksidanların kullanılması da kaliteyi olumlu etkilemektedir (3).

Antioksidanlar, muhafaza süresince oksidasyona bağlı olarak gelişen ransit tat ve kokunun oluşmasını engellemektedirler. Butillenmiş Hydroxy Anisole (BHA) ve Butillenmiş Hydroxy Toluene (BHT) gibi antioksidanlar gıdalarda acılaşmayı önlemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda antioksidan olarak kullanılan bu kimyasalların sürekli kullanılmaları halinde muhtemel teratojenik ve karsinojenik etkileri konusunda tartışmalar ortaya atılmıştır. Bu nedenle sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidan maddelerin kullanılması görüşü tüketiciler arasında yaygınlık kazanmıştır (4).

Son yıllarda, tıbbi ve aromatik bitkiler ile bunlardan elde edilen aktif maddelere gösterilen ilgi artmaktadır. Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir (5,6). Bu maddeler radikal temizleme ve lipit oksidasyonu inhibe etme yolu ile antioksidatif özellik gösterirler (7).

Fenolik maddeler gıdalarda antioksidan olmalarının yanı sıra mikrobiyel güvenlik açısından da önemlidir (8). Bu maddelerin antimikrobiyel etki mekanizmaları hakkında yeterli bilgi mevcut değildir. Ancak, hücre membranında zararlı etkiler yaptığı, permeabiliteyi, buna bağlı olarak proton akış gücünü değiştirerek ve makromolekül kaybına neden olarak lizis yolu ile bakterileri yok ettikleri görüşü savunulmaktadır (9, 10, 11).

Esansiyel yağlar, aromatik bitkilerin sekonder metabolitleri olup, sıvı, uçucu, şeffaf, bazen renkli, güçlü kokuya sahip, organik solventlerde çözünebilir kompleks bileşiklerdir (9). Bu maddelerin büyük bir kısmı Food and Drug Administration (FDA) tarafından Generally Recognized As Safe (GRAS) statüsünde kabul edilmektedir (10). Eugenol, *Syzygium* soyuna ait karanfil bitkisinin ve diğer bazı bitkilerin yağında bulunan kısa hidrokarbon zincirli bir methoksifenoldür. Karanfil ekstraktının en büyük yapısal unsurunu (%75-85) oluşturur (12). Thymol kekik uçucu yağının ana bileşenini oluşturmakla birlikte, kekiğe kendine özgü kokusunu veren aynı zamanda antimikrobiyel ve antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiktir (6, 13, 14).

Bu çalışma, 100 ppm oranında eugenol ve thymol esansiyel yağları ilave edilerek üretilen tereyağının farklı sıcaklıklarda (4 ± 1 ve -20 ± 1 °C) muhafazası sırasında, kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal niteliklerinde meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç Yöntem

Araştırmada, tereyağı örnekleri Malatya'da faaliyet gösteren Karlıdağ Süt Ürünleri İşletmesinde 17 Nisan - 15 Mayıs 2009 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada Merck firmasından temin edilen sıvı haldeki eugenol ve Sigma firmasından sağlanan, kristal haldeki ticari thymol kullanıldı. Deneysel tereyağı örneklerinin üretim basamakları Şekil 1'de gösterilmektedir.

İki farklı antioksidanın (eugenol ve thymol) 100 ppm oranında ilavesiyle üretilen tereyağı örneklerinin, 0. gün ile muhafazanın 10., 20., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri incelendi. Çalışma 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirildi.

Kimyasal Analizler: Örneklerin pH değerleri, pH metre (P selecta pH 2001) ile 25 ± 1 °C'de saptandı (15). Serbest yağ asitleri değeri Official Methods of Analysis of AOAC International 2000'de bildirilen yöntemle göre (16), peroksit sayısı Öztürk ve Çakmakçı'nın belirttiği yöntemle göre (17), tiyobarbitürik asit (TBA) sayısı Allen-Hamilton'un kullandığı metoda göre (18), diasetil değerleri ise Bakırcı ve ark.'nın uyguladığı yöntemle göre (19) belirlendi.

Mikrobiyolojik Analizler: Toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların sayımında, Plate Count Agar (PCA) besiyeri (Fluka) (20), maya ve küf sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar besiyeri (Acumedia) (21), koliform sayısını tespit etmek için En Muhtemel Sayı (EMS) yöntemi (22, 23), *Lactobacillus* spp. sayımı için MRS Agar (Biolab) besi yeri (24), Laktik *Streptococcus* spp. sayımı için M17 Agar (Lab M) (24), lipolitik mikroorganizmaların sayımında ise Tributyrin Agar besiyeri (Fluka) kullanıldı (25).

Duyusal Analizler: Deneysel tereyağı örneklerinin duyusal analizi, 5 kişilik panelist grup tarafından yapıldı. Değerlendirmede görünüm, kıvam, lezzet ve koku kriterleri esas alındı.

İstatistiksel Analizler: Bu araştırmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanıldı. Ortalamalar, Fisher'in Least Significance Difference (LSD) metoduna göre ayrıştırıldı. Analizlerde Linear Regresyon Mix Modeller kullanıldı. Tüm

analizlerde önem derecesi $\alpha = 0,05$ olarak kabul edildi. Bütün analizler Statistical Analysis Sytem (SAS) programından yararlanılarak gerçekleştirildi (26).

Bulgular

Eugenol ve thymol esansiyel yağları ilave edilerek üretilen tereyağı örneklerinin kimyasal analiz sonuçları Tablo 1' de, mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 2' de, duyusal analize ait puan değerleri ise Tablo 3' de gösterilmektedir.

Tablo 1. Deneysel tereyağı örneklerinin kimyasal analiz bulguları.

MUHAFAZA SÜRESİ	KİMYASAL DEĞERLER	MUHAFAZA SICAKLIĞI	G R U P L A R		
			KONTROL	EUGENOL	THYMOL
Muhafaza Öncesi	pH		6,44±0,35	6,49±0,35	6,48±0,40
	Serbest yağ asitleri		1,37±0,16 ^x	1,26±0,16 ^x	1,52±0,56 ^x
	Peroksit sayısı		-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)		0,046±0,02	0,067±0,01	0,049±0,02
	Diasetil (ppm)		62,41±14,47	17,07±14,04	17,71±7,01
10. gün	pH	+4°C	5,94±0,35	6,16±0,27	6,30±0,29
		-20°C	6,38±0,38	6,44±0,35	6,42±0,35
	Serbest yağ asitleri	+4°C	1,64±0,16 ^x	1,45±0,24 ^x	1,34±0,23 ^x
		-20°C	1,30±0,32 ^x	1,22±0,24 ^x	1,19±0,32 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,054±0,02	0,078±0,01	0,056±0,01
		-20°C	0,062±0,01	0,075±0,06	0,065±0,03
	Diasetil (ppm)	+4°C	310,44±88,94	81,47±23,22	97,74±27,30
		-20°C	16,87±14,22	45,33±18,01	77,84±28,97
20. gün	pH	+4°C	6,12±0,75	6,18±0,68	6,17±0,64
		-20°C	6,34±0,64	6,40±0,65	6,33±0,52
	Serbest yağ asitleri	+4°C	1,53±0,08 ^x	1,53±0,08 ^x	1,37±0,16 ^x
		-20°C	1,37±0,16 ^x	1,34±0,01 ^x	1,30±0,08 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,062±0,02	0,077±0,03	0,085±0,01
		-20°C	0,095±0,01	0,075±0,11	0,069±0,12
	Diasetil (ppm)	+4°C	330,12±75,45	22,19±10,97	42,60±9,85
		-20°C	22,96±9,31	51,88±17,81	146,36±13,83
30. gün	pH	+4°C	6,11±0,66	6,07±0,63	6,16±0,51
		-20°C	6,39±0,62	6,44±0,62	6,46±0,61
	Serbest yağ asitleri	+4°C	1,53±0,08 ^x	1,49±0,16 ^x	1,60±0,16 ^{xy}
		-20°C	1,19±0,08 ^x	1,26±0,16 ^x	1,26±0,16 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,072±0,01	0,073±0,07	0,077±0,02
		-20°C	0,135±0,03	0,075±0,03	0,082±0,01
	Diasetil (ppm)	+4°C	331,27±85,45	81,60±17,80	84,35±19,85
		-20°C	91,73±9,35	193,97±35,87	184,09±15,21
60. gün	pH	+4°C	5,97±0,74	6,04±0,66	6,14±0,57
		-20°C	6,42±0,62	6,47±0,63	6,50±0,62
	Serbest yağ asitleri	+4°C	2,05±0,08 ^{xy}	2,01±0,01 ^{xy}	2,05±0,08 ^{xy}
		-20°C	1,56±0,47 ^x	1,49±0,40 ^x	1,42±0,32 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,059±0,08	0,062±0,07	0,049±0,06
		-20°C	0,106±0,19	0,067±0,11	0,075±0,03
	Diasetil (ppm)	+4°C	263,93±62,38	130,51±45,27	126,11±23,37
		-20°C	134,87±13,81	193,03±43,91	156,33±17,39

Tablo 1'in Devamı

90. gün	pH	+4°C	5,66±0,86	5,93±0,62	6,08±0,57
		-20°C	6,41±0,60	6,43±0,61	6,42±0,52
	Serbest yağ asitleri	+4°C	2,38±0,16 ^{xy}	2,31±0,08 ^{xy}	2,24±0,01 ^{xyz}
		-20°C	1,64±0,32 ^x	1,53±0,32 ^x	1,60±0,40 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,030±0,05	0,054±0,08	0,030±0,05
		-20°C	0,067±0,11	0,061±0,12	0,064±0,03
Diasetil (ppm)	+4°C	235,76±79,83	67,36±19,93	196,29±27,12	
	-20°C	140,10±11,28	166,96±39,52	127,92±8,99	
120. gün	pH	+4°C	5,72±0,67	5,90±0,64	5,72±0,81
		-20°C	6,20±0,69	6,25±0,69	6,26±0,66
	Serbest yağ asitleri	+4°C	2,38±0,08 ^{xy}	2,46±0,01 ^{xy}	2,57±0,24 ^{xyz}
		-20°C	1,64±0,32 ^x	1,56±0,24 ^x	1,53±0,32 ^x
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,148±0,10	0,082±0,01	0,028±0,01
		-20°C	0,075±0,01	0,059±0,04	0,049±0,01
Diasetil (ppm)	+4°C	217,63±91,01	91,46±25,49	198,21±31,23	
	-20°C	169,44±13,38	16,23±7,38	76,40±19,21	
150. gün	pH	+4°C	5,41±0,90	5,82±0,66	5,81±0,64
		-20°C	6,33±0,67	6,38±0,67	6,41±0,64
	Serbest yağ asitleri	+4°C	2,94±0,16 ^{a,y}	2,83±0,16 ^{ab,yz}	2,87±0,08 ^{ab,yz}
		-20°C	1,64±0,32 ^{b,x}	1,64±0,32 ^{b,x}	1,67±0,47 ^{b,x}
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,139±0,05	0,150±0,02	0,067±0,03
		-20°C	0,098±0,03	0,041±0,02	0,072±0,01
Diasetil (ppm)	+4°C	63,16±28,45	14,99±11,12	20,86±9,85	
	-20°C	84,03±16,85	17,64±9,12	27,57±14,37	
180. gün	pH	+4°C	5,42±0,70	5,88±0,12	5,85±0,30
		-20°C	6,46±0,53	6,39±0,69	6,39±0,66
	Serbest yağ asitleri	+4°C	6,27±1,43 ^{a,z}	3,88±0,40 ^{cd,z}	3,40±0,32 ^{d,z}
		-20°C	1,67±0,24 ^{b,x}	1,67±0,47 ^{b,x}	1,64±0,32 ^{b,x}
	Peroksit sayısı	+4°C	-	-	-
		-20°C	-	-	-
	TBA (mg malonaldehit/kg)	+4°C	0,088±0,02	0,145±0,14	0,090±0,01
		-20°C	0,270±0,29	0,088±0,06	0,150±0,19
Diasetil (ppm)	+4°C	56,12±31,02	4,49±4,01	5,45±3,45	
	-20°C	37,98±18,32	14,11±7,15	13,24±10,01	

a, b, c, d: Grup içi (-20 ±1°C ve +4 ±1°C) ve gruplar arası (kontrol, eugenol ve thymol) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

x, y, z: Günler arasındaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

Tablo 2. Deneysel tereyağı örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları.

MUHAFAZA SÜRESİ	MİKROORGANİZMA	MUHAFAZA SICAKLIĞI	G R U P L A R		
			KONTROL	EUGENOL	THYMOL
Muhafaza Öncesi	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)		7,47±0,24 ^x	7,57±0,16 ^x	7,42±0,34 ^x
	Maya (log ₁₀ kob/g)		2,44±0,95	2,30±0,33 ^x	3,17±0,47
	Küf (log ₁₀ kob/g)		2,13±0,92	2,04±0,37	2,20±0,71
	Koliform (EMS/g)		38,30	74,10	74,10
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)		6,39±0,86	6,52±0,64	6,00±0,37
	<i>L. Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)		7,58±0,03 ^x	7,60±0,12 ^x	7,64±0,11 ^x
	Lipolitik (log ₁₀ kob/g)		7,58±0,25 ^x	7,59±0,16 ^x	7,46±0,23 ^x
10. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,87±0,06 ^{a,x}	8,01±0,08 ^{a,x}	7,64±0,16 ^{a,x}
		-20°C	5,80±0,57 ^{b,y}	5,42±0,70 ^{b,y}	5,74±1,20 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,30±1,72 ^a	4,93±1,03 ^{a,xy}	4,69±0,28 ^a
		-20°C	1,51±1,20 ^{ab}	1,52±1,22 ^{b,x}	1,37±0,91 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	1,77±1,17	<1	<1
		-20°C	<1	1,12±0,25	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	37,13	37,13	37,13
		-20°C	<0,3	37,13	37,13
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,66±0,83	6,72±0,77	6,47±1,39
		-20°C	4,82±1,94	4,72±0,97	4,50±1,92
	<i>L. Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,87±0,04 ^{a,x}	8,04±0,03 ^{a,x}	7,75±0,04 ^{a,x}
		-20°C	6,05±1,07 ^{b,y}	5,78±1,18 ^{b,y}	5,33±0,62 ^{b,y}
	Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,68±0,05 ^{a,x}	7,70±0,01 ^{a,x}	7,51±0,12 ^{ab,x}
		-20°C	5,84±0,23 ^{b,y}	5,69±1,19 ^{b,y}	6,05±0,35 ^{b,xy}
20. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,53±0,30 ^{a,x}	7,99±0,08 ^{a,x}	7,73±0,28 ^{a,x}
		-20°C	6,36±0,04 ^{ab,xy}	5,44±0,20 ^{b,y}	5,77±0,17 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,33±1,44 ^a	3,62±1,80 ^{ab,xy}	4,14±0,99 ^a
		-20°C	1,22±0,59 ^b	1,12±0,37 ^{b,x}	1,06±0,25 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	1,62±0,95	1,71±1,08	1,77±1,17
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	74,06	74,06	82
		-20°C	74,06	>110	>110
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,63±0,65	6,55±0,65	6,57±1,03
		-20°C	4,87±1,29	4,40±0,95	4,74±1,22
	<i>L. Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,75±0,05 ^{a,x}	8,03±0,04 ^{a,x}	7,85±0,06 ^{a,x}
		-20°C	6,52±0,34 ^{ab,xy}	5,43±0,01 ^{b,y}	5,62±0,21 ^{b,y}
	Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,74±0,26 ^{a,x}	7,55±0,14 ^{a,x}	7,69±0,11 ^{a,x}
		-20°C	6,43±0,31 ^{ab,xy}	4,89±0,37 ^{b,y}	4,96±0,37 ^{b,y}
30. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,67±0,13 ^{a,x}	7,81±0,25 ^{a,x}	7,66±0,18 ^{a,x}
		-20°C	6,46±0,09 ^{ab,xy}	5,32±0,09 ^{b,y}	5,59±0,04 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,49±0,36	3,93±0,62 ^{xy}	3,72±0,86
		-20°C	1,60±0,26	1,42±1,01 ^x	1,31±0,77
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	<1	1,71±1,08	1,86±1,29
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,12	>110	>110
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,43±0,86	6,43±0,62	6,44±1,04
		-20°C	5,21±1,46	4,48±0,35	4,38±0,93
	<i>L. Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,87±0,09 ^{a,x}	7,93±0,16 ^{a,x}	7,88±0,08 ^{a,x}
		-20°C	6,70±0,26 ^{ab,xy}	5,62±0,30 ^{b,y}	5,65±0,09 ^{b,y}
	Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,80±0,01 ^{a,x}	7,61±0,23 ^{a,x}	7,64±0,01 ^{a,x}
		-20°C	6,59±0,33 ^{ab,xy}	5,33±0,61 ^{b,y}	5,19±0,06 ^{b,y}
60. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,39±0,40 ^{a,x}	7,83±0,37 ^{a,x}	7,68±0,29 ^{a,x}
		-20°C	6,19±0,93 ^{ab,xy}	5,06±0,56 ^{b,y}	4,84±0,91 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,08±0,81 ^a	4,62±0,22 ^{a,xy}	3,94±1,12 ^a
		-20°C	<1 ^b	1,06±0,25 ^{b,x}	<1 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	1,71±1,08	1,97±1,45	1,71±1,08
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,06	110,66	>110
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,30±0,68	6,30±0,73	6,19±0,79
		-20°C	5,10±1,15	3,81±0,16	3,87±0,30
	<i>L. Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,79±0,21 ^{a,x}	7,95±0,28 ^{a,x}	7,76±0,18 ^{a,x}
		-20°C	6,63±0,09 ^{ab,xy}	5,46±0,33 ^{b,y}	5,66±0,13 ^{b,y}
	Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,71±0,01 ^{a,x}	7,64±0,08 ^{a,x}	7,48±0,01 ^{a,x}
		-20°C	6,39±0,08 ^{ab,xy}	4,87±0,75 ^{b,y}	4,97±0,43 ^{b,y}

Tablo 2'nin devamı

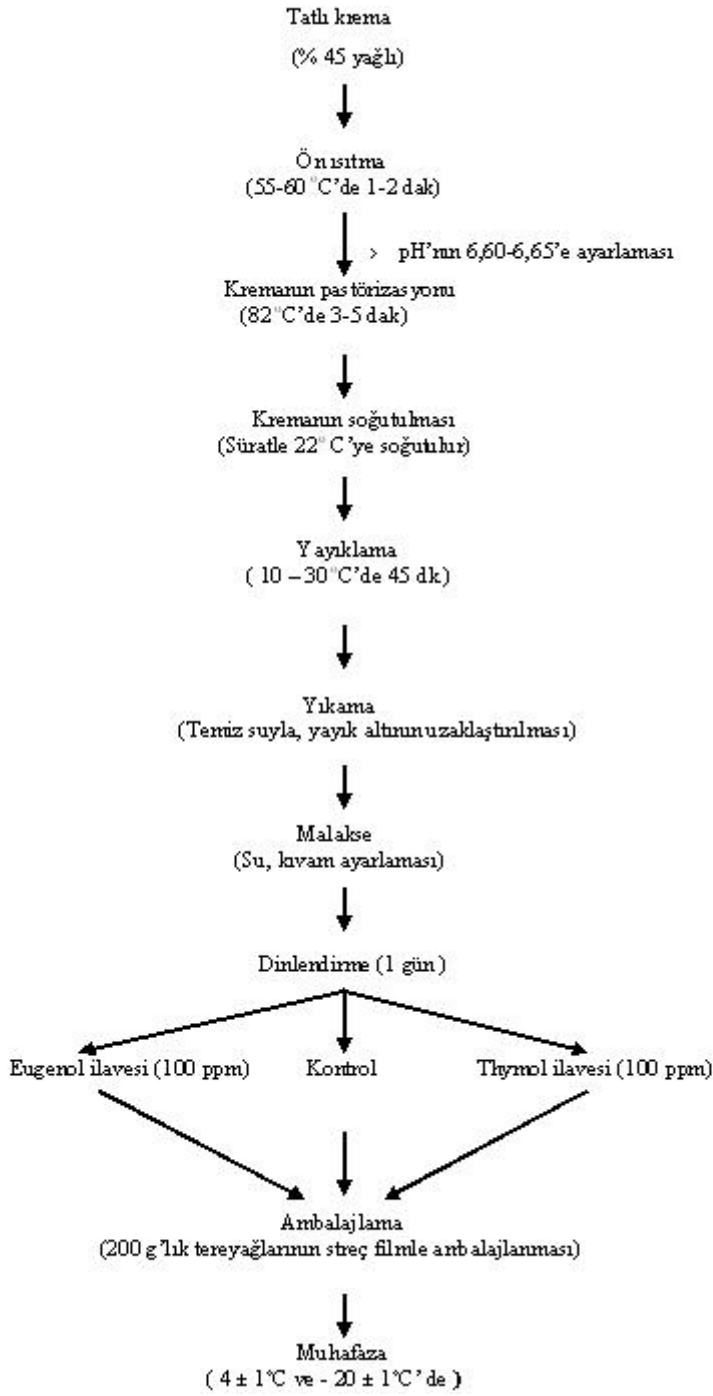
90. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,53±0,45 ^{a,x}	7,85±0,04 ^{a,x}	7,31±0,62 ^{a,x}
		-20°C	6,35±0,13 ^{ab,xy}	5,33±0,49 ^{b,y}	5,36±0,12 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,24±0,04 ^a	3,87±0,49 ^{a,xy}	3,36±0,23 ^{ab}
		-20°C	<1 ^b	<1 ^{b,x}	<1 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	3,48±0,01	2,80±0,28	2,59±0,16
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,06	>110	>110
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,21±0,66	6,18±0,88	6,04±0,81
		-20°C	4,97±1,20	4,47±0,65	3,96±2,00
L. <i>Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,76±0,13 ^{a,x}	7,79±0,10 ^{a,x}	7,65±0,08 ^{a,x}	
	-20°C	6,41±0,05 ^{b,xy}	5,55±0,24 ^{b,y}	5,11±0,29 ^{b,y}	
Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,73±0,21 ^{a,x}	7,65±0,41 ^{a,x}	7,54±0,04 ^{a,x}	
	-20°C	6,17±0,13 ^{b,xy}	5,06±0,33 ^{b,y}	4,74±0,62 ^{b,y}	
120. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,66±0,13 ^{a,x}	7,91±0,08 ^{a,x}	7,31±0,16 ^{a,x}
		-20°C	6,24±0,13 ^{ab,xy}	5,12±0,08 ^{b,y}	5,20±0,33 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,35±0,29 ^a	4,41±0,36 ^{a,xy}	3,86±0,71 ^a
		-20°C	<1 ^b	<1 ^{b,x}	<1 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	3,16±0,45	1,90±1,34	1,71±1,08
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,06	>110	110,66
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,04±1,13	5,89±0,95	5,90±1,02
		-20°C	5,20±1,43	4,15±0,68	3,55±2,76
L. <i>Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,85±0,01 ^{a,x}	7,86±0,08 ^{a,x}	7,50±0,06 ^{a,x}	
	-20°C	6,17±0,26 ^{b,y}	4,97±0,01 ^{b,y}	4,90±0,74 ^{b,y}	
Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,70±0,18 ^{a,x}	7,66±0,22 ^{a,x}	7,52±0,04 ^{a,x}	
	-20°C	6,16±0,30 ^{a,xy}	4,39±0,27 ^{bc,y}	4,40±0,31 ^{c,y}	
150. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,71±0,10 ^{a,x}	7,87±0,11 ^{a,x}	7,75±0,30 ^{a,x}
		-20°C	6,06±0,52 ^{b,xy}	5,15±0,23 ^{b,y}	5,01±0,18 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	5,32±0,13 ^a	5,58±0,62 ^{a,y}	4,89±0,71 ^a
		-20°C	<1 ^b	<1 ^{b,x}	<1 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	2,82±2,65	2,99±2,89	2,47±2,16
		-20°C	<1	<1	<1
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,06	>110	>110
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	6,00±0,64	5,51±0,56	5,72±1,31
		-20°C	5,05±1,17	4,25±0,69	3,71±2,14
L. <i>Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,76±0,01 ^{a,x}	7,89±0,02 ^{a,x}	7,62±0,09 ^{a,x}	
	-20°C	6,31±0,01 ^{b,xy}	5,09±0,15 ^{b,y}	5,05±0,60 ^{b,y}	
Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,61±0,04 ^{a,x}	7,75±0,18 ^{a,x}	7,56±0,07 ^{a,x}	
	-20°C	5,48±0,07 ^{b,y}	4,60±0,40 ^{b,y}	4,44±0,14 ^{b,y}	
180. gün	T.Mezofilik Aerob (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,68±0,23 ^{a,x}	7,90±0,05 ^{a,x}	7,70±0,14 ^{a,x}
		-20°C	6,08±0,39 ^{b,xy}	5,14±0,05 ^{b,y}	5,24±0,08 ^{b,y}
	Maya (log ₁₀ kob/g)	+4°C	4,74±1,35 ^a	4,88±0,62 ^{a,xy}	4,31±0,98 ^a
		-20°C	<1 ^b	1,30±0,37 ^{b,x}	1,16±0,46 ^b
	Küf (log ₁₀ kob/g)	+4°C	2,65±2,41	1,97±1,45	3,74±1,05
		-20°C	1,49±0,77	1,12±0,25	1,53±0,82
	Koliform (EMS/g)	+4°C	>110	>110	>110
		-20°C	74,06	110,66	89,33
	<i>Lactobacillus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	5,88±0,62	5,41±0,20	5,46±0,75
		-20°C	4,96±1,47	3,95±0,58	3,76±1,36
L. <i>Streptococcus</i> spp. (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,81±0,13 ^{a,x}	7,84±0,01 ^{a,x}	7,64±0,27 ^{a,x}	
	-20°C	5,99±0,47 ^{b,y}	4,92±0,01 ^{b,y}	5,11±0,16 ^{b,y}	
Lipolitik (log ₁₀ kob/g)	+4°C	7,67±0,01 ^{a,x}	7,56±0,37 ^{a,x}	7,50±0,08 ^{a,x}	
	-20°C	5,67±0,58 ^{b,y}	4,47±0,24 ^{b,y}	4,14±1,04 ^{b,y}	

a,b, c: Grup içi (-20 ±1°C ve +4 ±1°C) ve gruplar arası (kontrol, eugenol ve thymol) farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

x,y: Günler arasındaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0,05)

Tablo 3. Deneysel tereyağı örneklerinin duyu analizi bulguları.

MUHAFAZA SÜRESİ	DUYUSAL NİTELİK	MUHAFAZA SICAKLIĞI	G R U P L A R		
			KONTROL	EUGENOL	THYMOL
Muhafaza Öncesi	Lezzet		15,00±0,01	14,20±0,01	14,90±0,01
	Koku		5,00±0,01	4,90±0,14	5,00±0,01
10. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,40±0,14	14,80±0,28
		-20°C	14,65±0,42	14,50±0,14	14,80±0,28
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,80±0,14	4,90±0,14
		-20°C	5,00±0,01	4,90±0,14	5,00±0,01
20. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,30±0,01	14,56±0,33
		-20°C	14,70±0,42	14,90±0,14	14,46±0,19
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,46±0,19	4,83±0,24
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
30. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,26±0,09	14,80±0,28
		-20°C	14,90±0,14	14,60±0,57	15,00±0,01
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,50±0,35	5,00±0,01
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
60. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,16±0,01	15,00±0,01
		-20°C	14,87±0,18	14,70±0,01	15,00±0,01
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,77±0,04	5,00±0,01
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
90. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,23±0,03	15,00±0,01
		-20°C	14,87±0,18	14,83±0,24	15,00±0,01
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,90±0,14	5,00±0,01
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
120. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,41±0,12	15,00±0,01
		-20°C	14,87±0,18	14,83±0,24	15,00±0,01
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,87±0,18	5,00±0,01
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
150. gün	Lezzet	+4°C	15,00±0,01	14,41±0,12	15,00±0,01
		-20°C	14,87±0,18	14,83±0,24	15,00±0,01
	Koku	+4°C	5,00±0,01	4,63±0,04	5,00±0,01
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	5,00±0,01
180. gün	Lezzet	+4°C	14,50±0,71	14,16±0,21	14,60±0,47
		-20°C	14,83±0,24	14,83±0,24	14,66±0,01
	Koku	+4°C	4,49±0,23	4,73±0,24	4,83±0,24
		-20°C	5,00±0,01	5,00±0,01	4,83±0,24



Şekil 1. Deneysel Tereyağı Örneklerinin Üretim Basamakları

Tartışma

Muhafaza sıcaklığı 4 °C ve -20 °C olan tereyağı örneklerinde gruplar arasında pH değerlerindeki farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmadı ($p>0,05$). Tablo 1

incelendiğinde, tereyağı örneklerinin 180 gün muhafazası süresince elde edilen pH değerleri, tereyağının optimum muhafaza pH'sı olarak bildirilen değerlere (4,7 – 5,0)

oldukça uzaktır (27,28). pH alt sınırı (4,7) yaklaştıkça oksidasyon olaylarının, üst sınırı (5,0) yaklaştıkça proteolitik olayların hız kazandığı bildirilmektedir (28). Dolayısıyla, 180 günlük muhafaza süresinde deneysel tereyağı örneklerinde proteolitik parçalanmanın meydana geldiği söylenebilir (2). -20 °C'deki muhafazada pH değerlerinde önemli derecede bir azalmanın olmadığı ve örneklerin pH değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görüldü ($p>0,05$). Bu çalışmada, eugenol ve thymol grupları ile kontrol grubu arasında pH değerleri bakımından istatistiki olarak bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$). Benzer şekilde, tereyağına α - tokoferol, BHA ve BHT katılarak yapılan bir çalışmada da (2), pH değerleri açısından gruplar arasında fark tespit edilemediği bildirilmektedir. Konu ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada (29), baharat ekstraktlarının pH değerlerinde önemli değişimlere neden olduğu belirtilmektedir. Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) (1) ise, kahvaltılık tereyağları için pH değerleri ile ilgili bir sınırlama bulunmamaktadır (2).

Çalışmada kullanılan tereyağı örneklerinde, serbest yağ asitliği değeri açısından gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, 4 °C'de muhafaza edilen örneklerde muhafazanın ilk günlerinde farklılık tespit edilmezken ($p>0,05$), 150. ve 180. günlerde farklılıklar saptandı ($p<0,05$). -20 °C'de muhafaza edilenlerde ise istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0,05$). -20 °C'de muhafaza edilen bütün gruplardaki örnekler incelendiğinde 180 günlük muhafazada çok az bir asitlik artışı kaydedildi. Tüm gruplarda serbest yağ asitliği değerinin 1,67 mg KOH/g'ı geçmediği görüldü (Tablo 1). Bu durum, -20 °C'nin birçok mikroorganizmanın gelişimini durdurucu ve kimyasal reaksiyonları yavaşlatıcı etkisiyle açıklanabilir. Atamer ve Kaptan (30), süt yağı asit değerinin 1,38 – 1,40 mg KOH/g' a ulaştığında ransit tadın hissedildiğini belirtmişlerdir. Konuyla ilgili olarak yapılan diğer bazı çalışmalarda (27,31), asit değerinin 1,8 mg KOH/g' a ulaşması durumunda belirgin bir aroma bozukluğunun algılandığı saptanmıştır. Bunun aksine, yayık tereyağlarının bazı özelliklerini araştıran Atamer ve ark. (32), asit değerinin 1,91 mg KOH/g yağ seviyesine ulaştığı örneklerde, herhangi bir tat-aroma bozukluğunun panelistlerce algılanmadığını açıklamışlardır. Bu sonuçların ışığında, -20 °C'de muhafaza edilen tereyağı örneklerinde tespit edilen asit değerinin, 180 günlük muhafaza sonunda dahi normal sınırlarda olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, bu süre içinde ve bu muhafaza sıcaklığında örneklerin hiçbiri, acılaşıma sınırına gelmemiştir. Tablo 1 incelendiğinde, 150. muhafaza gününde sadece kontrol grubu tereyağlarında sıcaklıklar arası (4 °C ve -20°C) fark tespit edildiği görülmektedir. Yine, 180. günde tüm gruplarda hem sıcaklıklar arası, hem de kontrol grubu ile eugenol ve thymol grubu tereyağı örnekleri arasında önemli fark saptandı ($p<0,05$). Bu durum, tereyağı örneklerinin serbest yağ asitliği değeri üzerine terpenlerin önemli inhibitör etkisinin olduğunu göstermektedir. Benzer olarak yapılan bir çalışmada (33), muhafaza süresince esansiyel yağ ilave edilen örneklerde titre edilebilir asidite miktarları kontrol grubuna göre daha az bulunmuştur. Atamer (27), tereyağı örneklerinin serbest yağ asitleri miktarını 0,76 –

13,92 mg KOH/g yağ arasında bulmuştur. Hayaloğlu ve Konar (34) ise, 11 adet yayık tereyağı örneğinde asit değerini 1,12 – 5,16 mg KOH/g yağ arasında saptamıştır. Bu çalışmada elde edilen asit değerleri (1,26 – 6,27 mg KOH/g) ile adı geçen araştırmacıların belirttiği değerler arasındaki farkın, kullanılan hammaddenin kalitesine ilaveten, farklı bazı teknolojik işlemlerden (özellikle yıkama sayısı) kaynaklanabileceği düşünülebilir. Ayrıca, üretim aşamasında, ayrılan yayık altı miktarı, yıkama sayısı vb. bazı uygulamaların, suda çözünebilir düşük moleküllü yağ asitlerinin miktarı üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (32). Tereyağı Standardı'nda, serbest yağ asidi değeri ile ilgili bir sınırlandırma getirilmemiştir (1).

Bu araştırmada, deneysel tereyağı örneklerinin hiçbir grubunda peroksit sayısı tespit edilemedi. Bu durumda, incelenen örneklerde yeterli düzeyde hidroperoksitler oluşmadığı sonucuna varılabilir. Benzer olarak piyasaya taraması şeklinde yapılan bir çalışmada (35), 20 adet yayık tereyağı örneğinde peroksit sayısı tespit edilememiştir. Yine, Sağıdıç ve ark. (36)'da inek, koyun ve keçi sütlerinden elde edilen yayık tereyağlarında peroksit değerini tespit edilebilir limitin altında bulmuşlardır.

Tiyobarbitürik asit testi, lipid oksidasyonunu belirlemek için sıklıkla kullanılan testlerden biridir. Araştırma sonuçlarımıza göre TBA sayısı 0,046 – 0,270 mg malonaldehit/kg arasında tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada (29), baharat ekstraktlarıyla üretilen tereyağı örneklerinde, TBA değerlerinin muhafaza sıcaklığı, kullanılan baharat ekstraktı çeşidine ve miktarına göre önemli farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Adı geçen araştırma bulguları ile bu araştırmada elde edilen bulgular arasındaki uyumsuzluk, muhtemelen hammadde farklılığı ve ilave edilen maddelerin miktarıyla ilgilidir. Farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktının tereyağına katıldığı bir çalışmada (37), ekstrakt ilaveli örneklerin TBA sayıları kontrol grubu örneklerden, 5 °C'de muhafaza edilen örneklerin TBA sayıları 25 °C'de muhafaza edilenlerden daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç, bizim bulgularımızla uyumsuzdur. Bulguların uyumsuzluğu, farklı muhafaza sıcaklığına ve ilave edilen farklı maddelere bağlı olabilir. Çeşitli araştırmacılar, biberiye ekstraktı katılan örneklerdeki TBA sayısının, kontrol grubu örneklere göre daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Farag ve ark. (38), tarafından da çeşitli esansiyel yağların antioksidatif etkilerinin bulunduğu doğrulanmıştır. Ayrıca, Shahidi ve ark. (39)'de biberiye, karanfil, adaçayı ve kekiğin TBA değeri üzerinde inhibitör etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Diasetil, tereyağı ve yayıkaltı ürünlerde tat-aromanın oluşmasında son derece önemli bir maddedir. Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada (40), yayık tereyağlarının diasetil içerikleri 3,21 – 5,31 ppm, krema tereyağlarında ise 1,77 – 4,74 ppm arasında saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizde örnekler arasındaki diasetil düzeyindeki farklılık bizim çalışmamızda olduğu gibi önemsiz bulunmuştur. Benzer olarak, yapılan bir diğer çalışmada (32), diasetil miktarı 22 adet yayık tereyağından 7'sinde 6,90 – 76,47 ppm arasında

bulunmuştur. Diğer 15 örnekte ise iz miktarda tespit edilmiştir. Bu sonuç, bizim saptadığımız değerlerden düşüktür. Bakırcı ve ark.(19), krema tereyağlarında karakteristik tat ve aromanın oluşması için diasetil miktarının 1-2 ppm düzeyinde olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Tereyağının mikrobiyel yükü üzerine, birinci derecede tereyağının kalitesi, muhafaza sıcaklığı ile, ambalaj materyali, kullanılan tuz, kültür ve baharat gibi katkıların etkili olduğu bildirilmektedir (29). Tablo 2 incelendiğinde, terpen ilaveli tereyağı örneklerinin 4 °C ve -20 °C'de muhafazası arasında istatistiki açıdan toplam mezofilik aerob sayısı bakımından farklılıkların olduğu görülmektedir (p<0,05). Kontrol grubu örneklerde ise, bu farklılık 10., 150. ve 180. günlerde tespit edildi (p<0,05). Baharat ekstraktları ilave edilerek yapılan bir çalışmada (29), örneklerdeki toplam bakteri sayısının 25 °C'de muhafaza edilen örneklerde (% 0,2 için 4,73 – 5,90 log₁₀ kob/g, % 0,5 için 4,41 – 6,25 log₁₀ kob/g) 5 °C'dekine (% 0,2 için 4,98 – 5,53 log₁₀ kob/g, % 0,5 için 4,00 – 5,13 log₁₀ kob/g) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmada, baharat ekstraktları ilave edilen tereyağı örneklerinin, herhangi bir madde ilave edilmemiş kontrol grubu tereyağlarına (5 °C için 5,28 log₁₀ kob/g, 25 °C için 5,57 log₁₀ kob/g) göre daha az oranda toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı içerdiği belirlenmiştir. Yani, ilave edilen ekstraktlar bakteriler üzerine antimikrobiyel etki göstermiştir. Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı göz önüne alındığında adı geçen araştırmada elde edilen veriler, muhafaza süresinin sonunda (180 gün) tespit ettiğimiz değerlerden (4 °C'de 7,68 – 7,90 log₁₀ kob/g, -20 °C'de 5,14 – 6,08 log₁₀ kob/g) nispeten farklıdır. Bu farklılık kullanılan hammadde (krema), üretim tekniği, muhafaza süresi ve sıcaklığı ile tereyağına ilave edilen farklı konsantrasyondaki maddelerden kaynaklanabilir. Deneysel tereyağı örneklerinde, kontrol grubu ile terpen ilaveli gruplar arasında muhafaza süresi sonunda bakteri sayısı bakımından belirgin bir fark elde edilememesi, genelde ilave edilen terpen miktarının yeterli olmadığını göstermektedir. Bakırcı ve ark.(41), tereyağlarında yaptıkları çalışmalarında toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısını 6,92 – 7,04 log₁₀ kob/g, Sert ve Özdemir (42), 6,146 log₁₀ kob/g, Yalçın ve ark. (43), 6,919 log₁₀ kob/g arasında tespit etmişlerdir. Yine, Özalp (44), Ankara piyasasından sağladığı pastörize tereyağlarında toplam mikroorganizma sayısını 3x10³ kob/g – 6,5x10⁷ kob/g arasında saptamıştır. Ayrıca Patır ve ark. (45), Elazığ'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağı örneğinde, genel koloni sayısını 9,1x10⁶ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Adı geçen araştırmalarda (44, 45) bildirilen sonuçlar, bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içerisindedir.

Maya ve küf sayısı, tereyağının mikrobiyolojik kalitesini belirlemede önemli bir faktör olup, kremaya uygulanan pastörizasyon işleminin arzulanan düzeyde olup olmadığı konusunda bir fikir vermektedir (34). Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) (1) maya - küf sayısının, en çok 100 kob/g olabileceği bildirilmektedir. Tablo 2 incelendiğinde, tereyağı örneklerinde

muhafazanın başlangıcındaki maya ve küf sayıları Tereyağı Standardı'na (TS 1331) (1) aykırı bulundu. Bu durum, üretim esnasındaki kontaminasyon ile açıklanabilir. Benzer şekilde, konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (46), pastörize kahvaltılık tereyağı örneklerinin %60'ında 1,7x10² - 8x10⁸ kob/g arasında maya, %36'sında 1,2x10² - 2,1x10⁴ kob/g arasında küf saptanmış ve bahsedilen parametreler yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne aykırı bulunmuştur. Aynı şekilde, tereyağında maya ve küf sayısının 4,81 log₁₀ kob/g düzeyinde olduğunu bildiren Bali ve ark. (47)'nin bulgularıyla da çalışmamız benzerlik teşkil etmektedir.

Koliform bakteriler, bir hijyen indeksi olarak kabul edilmektedir (34). Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) (1) pastörize edilmemiş tereyağlarında koliform bakteri sayısının en çok 100 kob/g, pastörize edilmiş tereyağlarında ise, en çok 10 kob/g olabileceği belirtilmektedir (48). Ankara'da pastörize kahvaltılık tereyağları üzerine yapılan bir çalışmada (46), koliform bakteriler incelenen örneklerin %28'inde 9,1 EMS/g ile 240 EMS/g arasında bulunmuştur. Bu sonuç, bizim bulgularımızla benzerdir. Yapılan farklı çalışmalarda (34, 45), incelenen 35 adet örnekte koliform bakteri sayısı ortalama 4,1x10⁴ adet/g, 20 adet örnekte ise 0 – 1,27x10⁵ adet/g arasında ve ortalama 9,61x10³ adet/g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim bulgularımızdan düşüktür. Diğer bir çalışmada (49), 91 adet tereyağı örneği koliform bakteri, fekal koliform ve *E. coli* yönünden analiz edilmiş ve örneklerin %53,8'inde koliform bakteri, %52,7'sinde fekal koliform ve %39,6'sında *E. coli* tespit edilmiştir. Bu bulgular, analiz edilen örneklerin kayda değer ölçüde fekal bir kontaminasyona maruz kaldığını, buna bağlı olarak da halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, bizim bulduğumuz sonuçlara benzerlik teşkil etmektedir.

Deneysel tereyağı örneklerinin üretiminde kullanılan eugenol ve thymol'ün *Lactobacillus* spp. üzerine, kontrol grubuna kıyasla etkilerinin olmadığı tespit edildi (p>0,05) (Tablo 2). Keçi, koyun ve inek sütleri kullanılarak elde edilen tereyağlarında laktik asit bakteri sayısının tespit edildiği bir çalışmada (36), *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* sayısı 5,20 - 5,80 log₁₀kob/g arasında belirlenmiştir. Bu sonuç, bizim bulduğumuz verilere (3,55 – 6,72 log₁₀ kob/g) benzerdir. İlgili bir diğer çalışmada (33), *Lactobacillus* spp. sayıları muhafazanın ilk 20. gününde nispeten azalmış, sonraki günlerde ise artmıştır. Muhafaza sırasında *Lactobacillus* spp. sayıları 10⁵ kob/ml'den 10⁶kob/ml'ye ulaşmıştır. Yapılan bu araştırmada ise, adı geçen araştırmada elde edilen verilerin aksine, 20. günden sonra tüm gruplarda bakteri sayısında bir düşüş görülmüştür. Bu durum, tereyağı örneklerinin, üretimde kullanılan maddelerin farklı olmasına ve farklı üretim koşullarına bağlanabilir. Bu araştırmada bulunan sonuçlar göz önüne alındığında, kullanılan terpenlerin (eugenol ve thymol) laktik asit bakterileri üzerine etkisiz olduğu tespit edildi (p>0,05). Ancak, farklı baharat ekstraktlarının %0,2 ve %0,5 oranında kullanılmasıyla üretilen tereyağı örneklerinde, ilave edilen ekstraktların LAB üzerine önemli inhibisyon

etkilerinin olduğu ve bu etkinin en fazla kekik, karanfil, sumak ve zencefilde olduğu ortaya konmuştur (29).

Lipolitik bakteri sayımı, lipoliz olayında etkili olan ve lipolitik aktiviteye sahip mikroorganizmaların varlığını belirlemek amacıyla yapılmaktadır. Tablo 2 incelendiğinde, deneysel tereyağı örneklerinin 180 günlük muhafazası sırasında, her üç grupta 4 °C muhafaza edilen örneklerde lipolitik bakteri sayılarının daha yüksek olduğu görülebilir ($p < 0,05$). Bu nedenle, tereyağlarının uzun süreli muhafazasında, -20 °C'de tutulmaları lipolitik bozulma açısından önerilebilir. Tereyağı Standardı'nda (TS1331) (1) lipolitik bakteri sayısının pastörize edilmemiş tereyağlarında en çok 1000 kob/g, pastörize edilmiş tereyağlarında ise en çok 50 kob/g olabileceği belirtilmektedir. Örneklerde belirlenen lipolitik bakteri sayısı bakımından, incelenen örneklerin tamamının adı geçen standarda uygun olmadığı ortaya kondu.

Tereyağı örneklerine üretim sırasında 100 ppm oranında ilave edilen eugenol ve thymol maddesinin, duyuşal değerlendirmede ürünün görünüm ve kıvamında

herhangi bir puan düşüklüğüne sebep olmadığı belirlendi. Muhafaza süresince lezzet ve koku bakımından meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmadı ($p > 0,05$). Kontrol grubu ile eugenol ve thymol içeren gruplar karşılaştırıldığında; görünüm ve kıvam açısından hiç fark tespit edilememesi, koku ve lezzette görülen farklılıklarında istatistiki olarak önemli olmaması, kullanılan dozun (100 ppm) duyuşal değerlendirme açısından uygunluğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular göz önüne alındığında; 100 ppm oranında ilave edilen eugenol ve thymol'ün örneklerin muhafazası sırasında kimyasal ve mikrobiyolojik bazı parametreler üzerine beklenen etkiyi göstermediği ve duyuşal açıdan ürünün nitelikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu ortaya kondu. Bu durumda, kullanılan eugenol ve thymol esansiyel yağlarına ilaveten, farklı esansiyel yağların, daha farklı konsantrasyonlarda tereyağına uygulanarak araştırılması gerektiği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. Türk Standardları Enstitüsü. Tereyağı. TS 1331, T.S.E., Ankara, 1995.
2. Öztürk S. Farklı Sıcaklıklarda Muhafaza Edilen Tereyağının Raf Ömrü Üzerine Çeşitli Antioksidanların Etkisi. Doktora tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2002.
3. Tekinşen C. Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi, 2000.
4. Akgül A, Ayar A. Antioxidant effect of Turkish spices . Turk J Agric. Forestry 1993; 17: 1061-1068.
5. Farag RS, Ali MN, Taha SH. Use of some essential oils as natural preservatives for butter. JAOCS 1990; 68 (3): 188-191.
6. Önenç SS, Açıkgöz Z. Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri. Hayvansal Üretim 2005; 46(1): 50-55.
7. Suhaj M. Spices antioxidants isolation and their antiradical activity. Journal of Food Composition and Analysis 2006; 19: 531-537.
8. Coşkun F. Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 2006; 2: 27-33.
9. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology 2008; 46: 446-475.
10. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. I. Journal of Food Microbiology 2004; 94: 223-253.
11. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology 2001; 91: 453-462.
12. Fujisawa S, Atsumi T, Kadoma Y, Sakagami H. Antioxidant and prooxidant action of eugenol related compound and their cytotoxicity. Toxicology 2002; 177: 39-54.
13. Altundağ Ş, Aslım B. Kekiğin bazı bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyel etkisi. Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi 2005; 3(7): 12-14.
14. Parlat SS, Yıldız AÖ, Olgun O, Cufadar Y. Bildirgin rasyonlarında büyütme amaçlı antibiyotiklere alternatif olarak kekik uçucu yağı kullanımı. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2005; 19(36): 7-12.
15. Atamer M. Tereyağı Teknolojisi Uygulama Kılavuzu. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1314,1993.
16. Official Methods of Analysis of AOAC International. Volume II, 17th Edition, 2000.
17. Ozturk S, Cakmakci S. The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. Eur J Lipid Sci Technol 2006; 108, 951-959.
18. Allen JC, Hamilton RJ. Rancidity in Foods. 3rd Edition, United Kingdom: Chapman and Hall, 1994: 290.
19. Bakırcı I, Çelik S, Özdemir C. The effect of commercial starter culture and storage temperature on the oxidative stability and diacetyl production in butter. Int J Dairy Technol 55(4): 177-181.
20. International Organization for Standardization. ISO 13559, 2002.
21. Anonim www.mikrobiyoloji.org 2009.
22. Çakır İ, Doğan HB, Başpınar E, Keven F, Halkman AK. The need for confirmation in coliform and *E.coli* enumeration in foods. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 2002; 26: 1049-1053.
23. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Tebliğ No:2001/19.

24. Association Official Analytical Chemists. Enumeration of lactic acid bacteria, colony count technique method. 1995; 14.1
25. Halkman AK. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. 2005.
26. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Method. 7th Edition, U.S.A: The Iowa State Univ Pres Ames, Iowa, 1980.
27. Atamer M. Tereyağı Teknolojisi. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1313, 1993.
28. Oysun G. Tereyağı Teknolojisi. İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Teksir 38/3, 1999.
29. Ayar A, Özcan M, Sert D, Arslan D. Yayık Tereyağının Raf Ömrünün Uzatılmasına Bazı Baharat Uçucu Yağ ve Eksraklarının Katkısı. Tübitak proje no: 105 O 046. 2006.
30. Atamer M, Kaptan N. Ankara'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağlarının nitelikleri üzerine araştırmalar. Gıda Dergisi 1982; 7(4): 190-197.
31. Atamer M, Sezgin E. Tereyağlarında lipolitik ve oksidatif bozulmaların saptanmasında yararlanılan asit ve peroksit değerler ile aroma arasındaki ilişki. Gıda Dergisi 1984; 6: 329-334.
32. Atamer M, şenel E, Öztekin ř. Yoğurttan Üretilen Tereyağlarının Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi. Tübitak proje no: TOGTAG-3035. 2005.
33. Özkan G, Simsek B, Kuleasan H. Antioxidant activities of satureja cilicica essential oil in butter and in vitro. Journal of Food Engineering 2007; 79: 1391-1396.
34. Hayaloğlu AA, Konar A. Malatya yöresinde yoğurttan ve kremadan üretilen tereyağlarının mikrobiyolojik kalitesi üzerinde karşılaştırmalı bir araştırma. Gıda Dergisi 2001; 26(6): 429-435.
35. Sağdıç O, Arıcı M, şimşek O. Selection of starters for a traditional Turkish yayık butter made from yoghurt. Food Microbiology 2002; 19: 303-312.
36. Sağdıç O, Dönmez M, Demirci M. Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayık butters produced from goats, ewes or cows milk. Food Control 2004; 15: 485-490.
37. Özcan M, Ayar A. Effect of propolis extracts on butter stability. Journal of Food Quality 2003; 26: 65-73.
38. Farag RS, Badel AZMA, Hemedi FM, El- Haroty GSA. Antioxidant activity of some spices essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. J Am Oil Chem Soc 1989; 6: 792-799.
39. Shahidi F, Pegg RB, Saleem ZO. Stabilization of meat lipids with ground spices. J Food Lipids 1995; 2: 145-153.
40. şenel E. Bazı Üretim Parametrelerinin Yoğurttan Üretilen Yayık Tereyağının Nitelikleri Üzerine Etkisi. Doktora tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.
41. Bakırcı İ, Çelik ř, Özdemir S. Erzurum piyasasında tüketime sunulan mutfak tipi tereyağlarının mikrobiyolojik özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2000; 31(1): 51-55.
42. Sert S, Özdemir S. Erzurum'da kış aylarında tüketime sunulan taze beyaz peynir ve kahvaltılık tereyağları üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi 1989; 13: 1142-1153.
43. Yalçın S, Tekinşen OC, Doğruer Y, Gürbüz Ü. Konya'da tüketime sunulan tereyağlarının kalitesi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1993; 9: 20-21.
44. Özalp E. Ankara piyasasında satılan kahvaltılık tereyağlarının hijyenik kalitesi üzerine araştırmalar. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No: 265/167, 1971.
45. Patir B, Güven A, Saltan S. Elazığ'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağlarının kalitesi üzerinde araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi 1995; 11(1): 77-81.
46. Özcan B. Ankara'da Tüketime Sunulan Tereyağlarının Mikrobiyolojik Yönden Türk Gıda Kodeksi'ne Uygunluğunun Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2004.
47. Bali OS, Ayadi MA, Attia H. Traditional tunisian butter: physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. Food Science and Techn. 2009; 42: 899-905.
48. Bilgin B. Tatlı ve Dört Farklı Kültür Kombinasyonu ile Ekşitilen Kremalardan Elde Edilen Tereyağlarının Depolama Süresince, Bazı Duyusal, Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Doktora tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 1996.
49. Doğan HB, Çakır İ, Keven F, Coşansu S, Kırıl N, Dağer Tİ, Gürsu G, Halkman AK. Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *E. coli* varlığı. Gıda Dergisi 2001; 26(2): 83-90.