T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

EUGENOL VE THYMOL'ÜN PASTÖRİZE TEREYAĞININ KİMYASAL, MİKROBİYOLOJİK VE DUYUSAL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Pınar KARATEPE

ELAZIĞ - 2010

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Bahri PATIR

Bölüm Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bahri PATIR

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU

Prof. Dr. Hasan Basri GÜLCÜ

Doç.Dr. Ahmet GÜNER

Yrd. Doç. Dr. O. İrfan İLHAK

TEŞEKKÜR

Bu bilimsel çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve ortaya konmasında ve tüm doktora dönemim boyunca her türlü ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Bahri PATIR'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Ayrıca Tez İzleme Komitesi'nde yer alan sayın Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU ve sayın Prof. Dr. Hasan Basri GÜLCÜ' ye şükranlarımı sunarım.

Çalışmada kullanılacak materyalin yapım aşamasında fabrikasını bize açan ve her türlü destekte bulunan, Malatya'da faaliyet gösteren Karlıdağ Süt Ürünleri İşletmesi'ne, çalışmanın tüm aşamalarında değerli görüşlerini benden esirgemeyen hocalarım sayın Yrd. Doç. Dr. O. İrfan İLHAK ve sayın Yrd. Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Bunun yanında çalışmanın bütün aşamalarında maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli eşim Dr. Savaş KARATEPE' ye, çalışmam boyunca bana manen destek olan babam Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR ve anneme sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET…….1

2. ABSTRACT……..3

3. GİRİŞ…….5

3.1. Genel Bilgiler…….5

3.2. Tereyağının Besin Değeri ve İnsan Beslenmesindeki Önemi……..….7

3.3. Tereyağı Üretiminde Kullanılan Starter Kültürler……10

3.4. Yağlarda Bozulma Şekilleri…….....12

3.5. Antioksidanlar…….….19

3.5.1. Eugenol…….32

3.5.2. Thymol……..….33

4. GEREÇ ve YÖNTEM…….……36

4.1. Gereç……36

4.1.1 Tereyağına İşlenen Krema……..…36

4.1.2. Tereyağına İlave Edilen Esansiyel Yağlar ……36

4.2. Yöntem…….……36

4.2.1. Deneme Tereyağının Üretimi……36

4.2.2. Kremanın Pastörizasyonu……38

4.2.3. Soğutma İşlemi……...38

4.2.4. Yayıklama, Yıkama ve Malakse İşlemi…….…….38

4.2.5. Tereyağına Esansiyel Yağların İlavesi ve Örneklerin Analize Hazırlanması ……...……..39

4.2.6. Deneme Tereyağı Örneklerine Uygulanan Analizler…….….39

4.2.6.1. Kimyasal Analizler……..…..39

4.2.6.1.1. pH Değerinin Belirlenmesi…….…..…..39

4.2.6.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değerinin Belirlenmesi……..…40

4.2.6.1.3. Peroksit Sayısının Belirlenmesi…….……40

4.2.6.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Tayini……..41

4.2.6.1.5. Diasetil Değerinin Belirlenmesi…….....41

4.2.6.2. Mikrobiyolojik Analizler……..42

4.2.6.2.1. Örneklerin Hazırlanması…….....42

4.2.6.2.2. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayımı…….….43

4.2.6.2.3. Maya – Küf Sayımı…….....43

4.2.6.2.4. Koliform Sayımı…….43

4.2.6.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayımı…….…….……43

4.2.6.2.6. Laktik *Streptococcus* spp.Sayımı…….……..44

4.2.6.2.7. Lipolitik Mikroorganizma Sayımı…….…….44

4.2.6.3. Duyusal Analizler……..…44

4.2.6.4. İstatistiksel Analizler……..…..….46

5. BULGULAR…….47

5.1. Deneysel Tereyağı Örneklerinin Muhafaza Sırasında Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler……47

5.1.1. Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler……..…47

5.1.1.1. pH Değeri…….……47

5.1.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değeri……..…....51

5.1.1.3. Peroksit Sayısı……..55

5.1.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı…….....55

5.1.1.5. Diasetil Değeri……..59

5.1.2. Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler……63

5.1.2.1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı……..63

5.1.2.2. Maya Sayısı……..……67

5.1.2.3. Küf Sayısı……..71

5.1.2.4. Koliform Sayısı…….75

5.1.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayısı……...…79

5.1.2.6. Laktik *Streptococcus* spp. Sayısı…….….83

5.1.2.7. Lipolitik Bakteri Sayısı…….87

5.1.3. Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler…….…...…91

5.1.3.1. Görünüm……...…91

5.1.3.2. Kıvam……91

5.1.3.3. Lezzet……91

5.1.3.4. Koku…….95

6. TARTIŞMA……99

6.1. Deneysel Tereyağı Örneklerinin Muhafaza Öncesi ve Muhafazası Sırasında Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler……99

6.1.1. Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler…….....99

6.1.1.1. pH Değeri……99

6.1.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değeri……101

6.1.1.3. Peroksit Sayısı…….…105

6.1.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı……...105

6.1.1.5. Diasetil Değeri……...….108

6.1.2. Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler……..……110

6.1.2.1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı……110

6.1.2.2. Maya Sayısı…….……112

6.1.2.3. Küf Sayısı…….……...114

6.1.2.4. Koliform Sayısı……...115

6.1.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayısı…….……117

6.1.2.6. Laktik *Streptococcus* spp. Sayısı……118

6.1.2.7. Lipolitik Bakteri Sayısı……...…119

6.1.3. Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler…….….121

7. SONUÇ……...…123

8. KAYNAKLAR……..…….124

9. ÖZGEÇMİŞ……132

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. TS 1331 Tereyağı Standardında, Pastörize Tereyağlarına Ait Mikrobiyolojik Değerler……...…6

Tablo 2. Duyusal Analiz Puanlama Formu…….45

Tablo 3. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen pH Değerleri.....49

Tablo 4. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Serbest Yağ Asitleri Değerleri……..…53

Tablo 5. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen TBA Değerleri…….…..57

Tablo 6. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Diasetil Değerleri…….....61

Tablo 7. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayıları…….65

Tablo 8. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Maya Sayıları…….…69

Tablo 9. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Küf Sayıları……..73

Tablo 10. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Koliform Grubu Bakteri Sayıları…….……77

Tablo 11. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen *Lactobacillus* spp. Sayıları……81

Tablo 12. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Laktik *Streptococcus* spp. Sayıları……..…85

Tablo 13. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Lipolitik Bakteri Sayıları……89

Tablo 14. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Lezzet Puanları……93

Tablo 15. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Koku Puanları…….……..97

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Deneysel Tereyağı Üretimi ……37

Şekil 2. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……..…..…50

Şekil 3. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……50

Şekil 4. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Serbest Yağ Asitleri Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……...…..…….54

Şekil 5. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Serbest Yağ Asitleri Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……54

Şekil 6. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında TBA Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler…….…...……58

Şekil 7. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında TBA Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……58

Şekil 8. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Diasetil Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……..……62

Şekil 9. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Diasetil Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler……..……62

Şekil 10. Deneysel Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……66

Şekil 11. Deneysel Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……..66

Şekil 12. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Maya Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ……...……70

Şekil 13. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Maya Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ……...……70

Şekil 14. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……74

Şekil 15. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……...…..……74

Şekil 16. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Koliform Grubu Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……78

Şekil 17. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Koliform Grubu Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……78

Şekil 18. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında *Lactobacillus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……82

Şekil 19. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında *Lactobacillus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……..……82

Şekil 20. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Laktik *Streptococcus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler…….……86

Şekil 21. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Laktik *Streptococcus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……..…86

Şekil 22. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Lipolitik Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……90

Şekil 23. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Lipolitik Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler……90

Şekil 24. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Lezzet Puanlarında Meydana Gelen Değişimler……..……..……94

Şekil 25. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Lezzet Puanlarında Meydana Gelen Değişimler……...…94

Şekil 26. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Koku Puanlarında Meydana Gelen Değişimler……..…….98

Şekil 27. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{0}C'de Muhafazası Sırasında Koku Puanlarında Meydana Gelen Değişimler…….98

1. ÖZET

Bu çalışmada, deneysel olarak üretilen pastörize tereyağı örnekleri üzerine eugenol ve thymol'ün farklı muhafaza sıcaklıklarında, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kaliteye olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Deneysel tereyağı örnekleri, Malatya'da faaliyet gösteren bir süt ürünleri işletmesinde yapıldı. Kontrol grubu ile birlikte, 100 ppm oranında eugenol ve thymol ilaveli olmak üzere 3 farklı grup örnek hazırlandı. Üretilen örnekler 4 ±1 ^{o}C ile -20±1 ^{o}C'de muhafazaya alındı ve 0. gün ile muhafazanın 10., 20., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerinde kimyasal (pH, serbest yağ asitliği, TBA değeri, peroksit sayısı ve diasetil tayini), mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerob mikroorganizma, maya-küf, koliform, *Lactobacillus* spp., laktik *Streptococcus* spp. ve lipolitik mikroorganizma sayımı) ve duyusal nitelikleri bakımından incelendi. Araştırma üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Yapılan analizler neticesinde, pH değeri, tiyobarbitürik asit (TBA) sayısı ve diasetil değeri bakımından, kontrol grubu ile terpen ilaveli gruplar arasında her iki muhafaza sıcaklığında da istatistiki olarak önemli bir fark görülmedi ($p>0,05$). Ancak, serbest yağ asitleri miktarı açısından, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örnekler arasında önemli fark görülürken ($p<0,05$), -20 ^{o}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 ^{o}C'de muhafaza edilen tüm gruplarda muhafaza süresince önemli bir değişim göstermedi ($p>0,05$). Buna karşın, -20 ^{o}C'de muhafaza edilenlerde, muhafaza başlangıcında saptanan değer

ile muhafazanın ilerleyen günlerinde tespit edilen değerler arasında önemli farklılıklar bulundu ($p<0,05$). Ancak, 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, ilave edilen eugenol ve thymol'ün örneklerin muhafazası sırasında kimyasal ve mikrobiyolojik bazı parametreler üzerine etki gösterdiği ve duyusal açıdan ürünün nitelikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu ortaya kondu.

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

2. ABSTRACT

In this study, effects of the some terpenes (eugenol and thymol) which are used for antioxidant properties and different storage temperatures on chemical, microbiological and sensory attributes of butter samples produced experimentally were investigated during storage period.

Experimental butter samples were produced by a dairy plant which is located in Malatya. With control group, three different groups containing eugenol and thymol at 100 ppm concentration were prepared. The samples were stored at 4±1 ^{o}C or -20±1^{o}C, and they were analyzed for chemical (pH, free fatty acidity, TBA, peroxide value, and diacetyl content), microbiological properties (total mesophilic aerobic bacteria, lactic acid bacteria, yeast and mold, coliform and lipolytic bacteria) and sensory attributes on days 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 during the storage period. The study was composed of three replicates.

Result 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 ($p>0.05$). However, a significant difference was found between groups stored at 4±1^{o}C in terms of free fatty acidity ($p<0.05$) while no significant difference was observed between groups stored at -20±1^{o}C ($p>0.05$). Peroxide value was not detected in any of the samples.

Numbers of total mesophilic aerobic bacteria, lactic *Streptococcus* spp. and lipolytic bacteria showed insignificant changes in all groups stored at 4±1^{o}C ($p>0.05$). However, in groups stored at -20±1^{o}C, there were significant differences

between storage days in terms of, the numbers of bacteria mentioned above ($p<0.05$). No significant differences was observed between groups stored at both storage temperatures in terms of the numbers of yeast-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 samples during storage period ($p>0.05$). It was also not found significant difference between groups in terms of taste and odor of samples ($p>0.05$).

As a result, it was observed that eugenol and thymol have significant effect on some chemical and microbiological parameters and have not effect on sensory attributes of butter samples during storage period. It was also seen that application eugenol and thymol at 100 ppm concentration to butter was inefficient.

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

3. GİRİŞ

3.1 Genel Bilgiler

Süt ürünlerinin çeşitliliği kültürel zenginliğin bir ifadesidir. Coğrafi konumu, yaşam koşullarının uygunluğu, nüfus hareketlerinin yoğunluğu gibi birçok faktör Anadolu'da değişik kültürlerin ortaya çıkmasına ve gelişmesine neden olmuştur. Anadolu'nun kültürel zenginliği içinde süt ürünleri önemli yer tutmaktadır. Binlerce yıldır çeşitli uygarlıklara beşiklik eden ülkemizde süt ürünleri kültürü çok uzun bir geçmişe sahiptir (86).

İnsan beslenmesinde çok önemli bir role sahip olan süt, bileşiminde insan bünyesi için gerekli olan gıda bileşenlerini (protein, yağ, karbonhidrat, mineral ve bazı vitaminleri) yeterli düzeyde içeren bir gıda maddesidir. Özellikle beyin gelişiminin % 85-90'ının gerçekleştiği insan yaşamının ilk dört yılında ve gelişmenin en hızlı olduğu çocukluk dönemlerinde en çok ihtiyaç duyulan gıdalar süt ve süt ürünleri olmasına rağmen, ülkemizde en yetersiz düzeyde tüketilen besin maddesi grubunun da yine süt ve süt ürünleri olduğu bilinmektedir (54).

Süt insan için mükemmele yakın bir gıda maddesi olmakla birlikte mikroorganizmaların gelişmesi için de ideal bir ortamdır. Dolayısıyla çok çabuk bozulabilen bir gıda maddesidir. Bu nedenle süt, daha dayanıklı ürünlere işlenerek hem raf ömrü uzatılmakta, hem de lezzet bakımından değişik yeni ürünler elde edilmektedir. Bu ürünlerden yaygın olarak üretilen ve tüketilenlerden birisi de tereyağıdır (74).

Anadolu'da yoğurttan üretilen tereyağları 'yayık tereyağı' olarak tanımlanmaktadır. Tereyağı Anadolu mutfak kültüründe önemli bir yere sahiptir.

Konu ile ilgili ilk bilgiler Urartu dönemine kadar uzanmaktadır (M.Ö VIII. yüzyıl). İlaveten Yarıkkaya (Hattuşaş) bölgesinde yapılan arkeolojik çalışmalarda ortaya çıkarılan M.Ö. 5500 dönemine ait yayıklar, yayık tereyağının Anadolu'nun en eski süt ürünlerinden biri olduğunu kanıtlamaktadır (86).

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 mamülüdür'' şeklinde; kahvaltılık tereyağı ise, ''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. Aynı standart, tereyağlarını kalite niteliklerine göre I. sınıf, II. sınıf ve III. sınıf olarak sınıflandırırken, kullanım yerlerine göre de kahvaltılık tereyağı, mutfak tereyağı (tuzlu, tuzsuz) ve sadeyağ olarak sınıflandırmaktadır (74).

İlgili standartta belirtilen, pastörize tereyağlarına ait mikrobiyolojik değerler ise Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. TS 1331 Tereyağı Standardında, Pastörize Tereyağlarına Ait Mikrobiyolojik Değerler (89).

Mikroorganizma	Bulunabilecek değer (kob/g)
Koliform	En çok 10
E.coli	Bulunmayacak
Proteolitik	En çok 50
Lipolitik	En çok 50
Maya - küf	En çok 100

Halk dilinde tereyağları genelde elde edildikleri hayvanın türü (koyun tereyağı, manda tereyağı, inek tereyağı) veya yapıldıkları bölge veya ilin adı ile (Trabzon tereyağı, Urfa tereyağı) anılmaktadır.

Ülkemizde büyük veya küçük, modern veya ilkel olsun hemen bütün süt işletmelerinde tereyağı üretilmektedir. Tereyağı üretiminin bu kadar geniş bir alana yayılması, sütçülüğümüzdeki önemini ortaya koymakta, bunun yanı sıra tereyağı üretim miktarının saptanmasını da olanaksız hale getirmektedir. Bunun için Türkiye'de yıllık tereyağı üretimi, ancak bazı araştırmalar ve anket çalışmalarına dayanan tahminlere göre belirlenmektedir. Demirci ve ark. yaptıkları bir çalışmanın sonucuna göre Türkiye'deki süt miktarının %35'i tereyağına işlenmektedir (38).

3.2 Tereyağının Besin Değeri ve İnsan Beslenmesindeki Önemi

Süt yağı beslenme fizyolojisi açısından önemli özelliklere sahiptir. Bu önem, sağlamış olduğu enerjiden çok içerdiği besin unsurlarından, özellikle orta zincirli ve esansiyel yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır (87, 96). Bünyesindeki yaşamsal öneme sahip yağ asitleri, sindirilme yeteneğinin yüksek olması, yağda çözünen vitaminleri (A,D,E,K) içermesi ve vücut sıcaklığında eriyebilecek özellikte olması nedeniyle süt yağı tüketimine, gelişmiş ülkelerde önem verilmektedir. Tereyağı diğer birçok yağ gibi insan organizmasının sentezleyemediği ve eksik alınmaları halinde vücutta bazı aksaklıkların meydana gelmesine yol açan ve gıdalarla alınması zorunlu olan, fizyolojik değeri yüksek esansiyel yağ asitlerini içermektedir. Esansiyel yağ asitlerinin cilt hastalıklarını önlemesi yanında, kanda çoğalan ve damar sertliğine neden olduğu bilinen kan kolestrolünü azaltıcı özelliğinin de olduğu belirtilmektedir (23, 37).

Günümüzde, tereyağının sağlığı korumak, vücudun dış etkenlere karşı direncini arttırmak ve organizmanın fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için alınması gerekli bir gıda maddesi olduğu bilinmektedir. Bu durum toplum sağlığı ve beslenmesi açısından olduğu kadar, tereyağı teknolojisinin gelişmesi bakımından da büyük önem taşımaktadır (74).

100 g tereyağının 2917 IU A vitamini, 1500-4800 IU D vitamini ve 2400 µg E vitamini içerdiği bildirilmektedir. Yağlar besin değerinin yanı sıra enerji bakımından da zengin gıda bileşenleridir. Protein ve karbonhidratların 1 g'ı 4,3 kcal enerji verirken, aynı miktardaki yağ 9,3 kcal'lik enerji sağlamaktadır. Yağların bu denli yüksek değerde kalori vermelerinin, yapılarında uzun zincirli yağ asidi içermelerine karşın, bünyelerinde çok az miktarda oksijen olması nedeniyle daha uzun süre yanmalarından kaynaklandığı belirtilmektedir. Günlük enerji ihtiyacının %25'inin yağdan karşılanması ve bunun %35-45'inin de süt yağından karşılanması önerilmektedir. Yağların önemi enerji kaynağı olmaları dışında, biosentez için karbon atomlarını hazır bulundurmalarından, toplam gıdanın hazmını kolaylaştırmalarından ve yağda eriyen vitaminleri taşımalarından veya emilmesinden, yemeklerin lezzetini artırmalarından, diyette temel bileşen olmalarından, yemeklerden sonra tokluk hissine katkıda bulunmalarından ve esansiyel niteliğe sahip çeşitli yağ asitlerini içermelerinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (74).

Tereyağının kalp-damar hastalıklarının oluşumunda etkili olduğu ve bu görüşün tereyağının içerdiği kolestrole dayandırıldığı, fakat bu konu hakkında somut bir delil bulunmadığı gibi, bu hastalıklara hayvansal gıdalardan daha çok kalıtım, içki, sigara, çevre kirliliği, vücut ağırlığı, hareketsizlik, stres, antibiyotik

alımı gibi farklı risk faktörlerinin neden olduğu vurgulanmaktadır (28). Bu kadar faktör içerisinde kesinliği tam olarak ispatlanmamış bir faktör olan kolestrolü içermesi dolayısıyla tereyağının, kalp-damar hastalıklarının en önemli veya tek sebebi olarak gösterilemeyeceği bildirilmektedir. Ayrıca yapılan yeni araştırmalar ışığında, süt ve süt ürünleri ile alınan çok düşük konsantrasyondaki kolestrolün, serum kolestrol seviyesini artıracak düzeyde olmadığı bildirilmektedir. Dışarıdan alınan kolestrolün dışında, vücudun kendisinin de yüksek düzeyde kolestrol sentezlediği bildirilmektedir. Kan kolestrol düzeyinin belirli bir seviyede tutulması için, vücutta düzenleyici bir sistemin bulunduğu ve eğer dışarıdan alınan kolestrol miktarında bir artış olursa, vücut tarafından yapılan sentezlemede bir yavaşlama başladığı bildirilmektedir. Bu nedenle dışarıdan alınan kolestrolün, kan kolestrolü seviyesini artırmada çok az bir etkisinin olduğu ifade edilmektedir (74).

Süt yağı, sütün en değerli maddesi olarak kabul edilmekte ve birçok ülkede süt fiyatı, yağ oranı esas alınarak belirlenmektedir. Ülkemizde de yağ oranı yüksek olan süte prim ödenmekte, yağ oranı düşük olan sütün fiyatı ise düşürülmektedir. Dolayısıyla tereyağının insan beslenmesinde önemli olmasının yanında, süt endüstrisi ve ülke ekonomisi açısından da öneminin büyük olduğu vurgulanmaktadır (59).

Türkiye'de tereyağı üretimi 2000 yılı verilerine göre 136000 ton talebe karşılık 133000 ton olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca 100 ton tereyağı ihraç edilmesine karşılık, 3900 ton tereyağı ithal edilmiştir. Ancak ülkemizde tereyağlarının dayanıksızlığı önemli bir problemdir. Üretilen tereyağlarını çoğu zaman birkaç hafta bile muhafaza etmek mümkün olamamakta, ya duyusal bir çok kusur ortaya çıkmakta, ya da dayanıklılığını artırmak için tuzlama veya eritme

uygulanarak sadeyağa dönüştürme yoluna gidilmektedir. Bu durum ise tereyağının kahvaltılık olarak kullanılmasını kısıtlamaktadır. Ülkemiz tereyağlarında sıkça rastlanılan iç ve donyağımsı, boyamsı, cevizimsi, balığımsı, salatalığı andırır koku ve tatların oksidatif ransititenin sonucu oluştuğu en sık görülen aroma kusurlarından balığımsı tadın fosfolipitlerin oksidasyonu, iç yağı tadının ise hayvansal beslemede kuru, ekşi çayırotu ve bozulmuş tane yemleri kullanımı ile oleik asit, lesitin ve kefalinin oksitlenmesi sonucu oluştuğu, lesitinin parçalanmasıyla oluşan trimetil aminin de balık tadı verdiği vurgulanmaktadır (74).

3.3 Tereyağı Üretiminde Kullanılan Starter Kültürler

Ülkemiz tereyağcılığının önemli sorunlarından biri de istenen tat ve aromada tereyağların çok az bulunmasıdır. Bunun nedenleri, tatlı kremaların pastörize edilmeden gelişigüzel ekşitilmesi veya pastörize edilen kremaların istenen starterlerle ekşitilmemesinden kaynaklanmaktadır.

Gerek duyusal ve gerekse hijyen açısından kaliteli bir tereyağı üretmek için mikrobiyel yükü düşük olan krema kullanmak ve bu kremayı pastörize etmek gerekmektedir (25).

Kremanın pastörizasyonu ile ilgili araştırmalara göre, 87 ^{o}C'de 15 sn, 95-105 ^{o}C'de 15 sn, 90-95 ^{o}C'de 30 sn, 85 ^{o}C'de 1 dak gibi çeşitli sıcaklık zaman kombinasyonları önerilmektedir (7). Tereyağına işlenecek kremanın yağ oranının tatlı kremada % 40-45, ekşi kremada % 30-34; pastörizasyon normunun ise 103-110 ^{o}C'de 90-120 sn olması gerektiği önerilmektedir (64, 74).

Krema, bilhassa büyük süt fabrikalarında süt tozunun ve koyulaştırılmış sütün üretimi esnasında, yan ürün olarak sütten elde edilir. Krema, süt genellikle 37-74^{o}C'ye kadar ısıtıldıktan sonra separatörle alınır.

Tereyağının kalitesi açısından üretimde kullanılacak krema; bakteriyolojik (genel canlı koloni sayısı vb.), kimyasal (iyot sayısı, asidite vb.), fiziksel ve organoleptik (aroma, tat, kıvam ve görünüm) yönden kontrol edilir (87).

Kremanın pastörizasyonu sırasında doğal mikroflorayı oluşturan mikroorganizmalarda inhibe olduğundan, istenen tat ve aromayı kazandırmak için uygun ve yeterli miktarda starter kültür kullanılması gerekmektedir.

Tereyağı endüstrisinde tatlı ve ekşi kremadan yararlanılmaktadır. Tatlı krema, sütün standardizasyonu veya yağsız süt üretilmesi sırasında elde edilen, hiçbir işleme tabi tutulmamış taze kremadır. Fakat bazı işletmelerde pastörize edildikten sonra saf kültür katılan krema, bir süre bekletildikten sonra yayıklanır. Bu şekilde bekletme sırasında oluşan değişmeye, kremanın olgunlaşması denir.

Kremayı olgunlaştırmanın en önemli yararlarından biri, tereyağına hoş bir koku ve tat kazandırmaktır. Olgunlaştırma döneminde saf kültürdeki mikroorganizmalar, tereyağının karekteristik aroması olan diasetil, asetoin ve diğer aroma maddeleri ile süt asitini oluştururlar. Ayrıca oluşan bu süt asiti, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını kontrol altında tutar, yayıklama işleminin daha çabuk olmasını ve yayık altına geçen yağ miktarının azalmasını sağlar (25).

Yurdumuzun bazı bölgelerinde tat ve aroması çok beğenildiği için, özellikle yoğurttan kahvaltılık tereyağı elde edilmektedir. Bu arada pıhtılaşan proteinler yağ hücrelerini de tuttukları için, yayıkaltı kayıpları çok olmaktadır.

Ayran veya yoğurt tereyağı diye adlandırılan bu tereyağın özellikle tat ve aroma bakımından çok beğenilmesinin nedeni hiç şüphesiz ki, yoğurt üretiminde kullanılan kültürlerden (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ileri gelmektedir (25, 53).

Tereyağı işleme teknolojisinde starter olarak genelde iki grup mikroorganizma kullanılmaktadır. Bunlardan birisi *Str. lactis* veya *Str. cremoris*, diğeri de *Leu. citrovorus* veya *Leu. dextranicum*'dur. İlk gruba giren mikroorganizmalar, süt şekerini parçalayarak asitlik oluşturur, ikinci gruba giren mikroorganizmalar ise daha ziyade sitratları hidrolize ederek aroma maddeleri olan diasetil, asetaldehit ve uçucu asitleri oluştururlar.

Yayıklanacak kremanın asitliği, ekşitilmiş kremalarda 18-31 SH arasında olmalıdır. Kremaya ilave edilecek kültür miktarı kremanın kalitesi, yağ oranı, olgunlaştırma müddeti, olgunlaştırma sıcaklığı, mevsim, yağın çeşidi ve kültürde yer alan mikroorganizmaların türüne bağlıdır. Genel olarak %1- 2,5 oranında kültür kullanılmaktadır.

Uzun süre muhafaza edilecek tereyağlarının imalatında *Str. lactis* / *Str. cremoris* / *Leu. cremoris* ve taze tüketilecek tereyağı üretiminde ise *Str. lactis* / *Str. cremoris* / *Str. diacetylactis* veya *Str. lactis* / *Str. cremoris* / *Str. diacetylactis* / *Leu. cremoris* kültür kombinasyonları kullanılır (25).

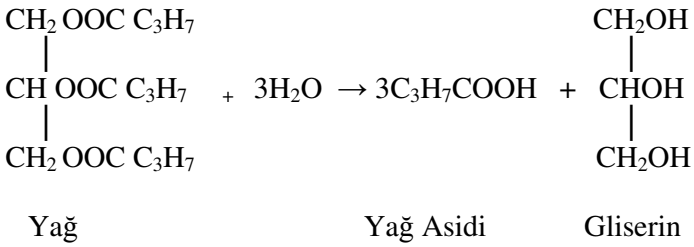
3.4 Yağlarda Bozulma Şekilleri

Yağlardaki bozulmalar 4 ana gruba (hidroliz, oksidasyon, reversiyon, polimerizasyon) ayrılabilir. Katı ve sıvı yağlarda en sık rastlanan reaksiyonlar veya bozulma tipleri, gliserit molekülünü ester bağından ayıran hidroliz ve gliserit moleküllerinin yağ asidi kısımlarındaki doymamış bağlarda oluşan oksidasyon

reaksiyonlarıdır. En önemli hidrolizasyonun lipaz enziminin katalitik etkisiyle oluştuğu, keskin acı tat ve kokuda olan düşük molekül ağırlıklı (butirik, kaproik, kaprilik) yağ asitlerinin meydana geldiği ve lipaz enziminin 96,1^{o}C'de 30 dak, 146 ^{o}C'de 3,2 sn sterilizasyondan sonra bile aktif olduğu belirtilmektedir (74).

Trigliseritlerin hidrolizasyonu sonucu (lipoliz) açığa çıkan serbest yağ asitleri miktarı, özellikle tereyağı gibi yağca yoğun ürünlerde yaygın olarak yararlanılan bir kalite parametresidir. Lipolizin derecesi asit değeri olarak ifade edilmektedir (12).

Hidrolizasyon (lipoliz), süt yağının lipaz enzimi yardımıyla, aşağıdaki formülde görüldüğü gibi bünyesine su alarak esas unsurları olan yağ asitleri ve gliserine parçalanması olayıdır (25).



Serbest yağ asitlerinin özelliğine ve miktarına bağlı olarak genelde ransit olarak tanımlanan tat ve aroma bozuklukları meydana gelmektedir. Süt ve süt ürünlerindeki lipaz iki kaynaktan ileri gelmektedir. Birincisi sütte bulunan doğal lipaz, diğeri ise mikrobiyel orijinli lipazdır. Doğal lipazın 45^{o}C'den daha yüksek sıcaklıklarda faaliyetinin zayıfladığı, 55 ^{o}C'de 30 dk. tutulan sütlerde tamamen harap olduğu, pastörizasyon sıcaklığının 10 ^{o}C altında ve 73 ^{o}C'de 30 sn ısıl işlem ile inaktif hale geldiği belirtilmektedir. Mikrobiyel orijinli lipaz ise özellikle psikrotrof mikroorganizmalardan (*Pseudomonas, Enterobactericeae, Bacillus,*

Aeromonas, Alcaligenes vb.) kaynaklanmaktadır. Süt ve kremanın soğukta muhafazası sırasında anılan mikroorganizmaların ürettiği ısıya dayanıklı mikrobiyel enzimler (esteraz, proteinaz, lipaz) ürünlerde tat- aroma bozukluklarının başlıca nedeni olarak gösterilmektedir. Mikrobiyel orijinli lipazın yüksek sıcaklıklarda bile aktif olabildiği, tamamen inaktivasyonu için daha yüksek sıcaklıklara çıkılması gerektiği bildirilmektedir. Ekstrem değerler olmasına karşın mikrobiyel orijinli lipazların -28,9 ^{o}C'den 146 ^{o}C'ye kadar aktivitesini koruması ve reaktif hale geçmesi süt ve ürünleri dayanımı açısından önem taşımaktadır. Bu durum üretim sonrasında lipolizin devam etmesinin başlıca nedeni olarak gösterilmektedir (86).

Enzimatik hidrolizasyonun soğukta bekletilmekle engellenemeyeceği, bu yüzden çiğ süt, içme sütü ve tereyağının her zaman hidrolizasyon tehlikesiyle karşı karşıya olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (74).

Süt yağının yapısındaki düşük moleküllü uçucu yağ asitlerinin gliseritleri oldukça hoş aromaya sahiptir. Ancak lipoliz sonucunda trigilseritlerin bünyesinde bulunan düşük moleküllü yağ asitlerinin serbest hale geçmesi ile süt ürünlerinde acılaşma olarak nitelendirilen aroma bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Lipolitik aroma olarak da tanımlanan bu tat- aroma bozukluğu bütirik, kaproik, kaprilik, laurik gibi suda çözünen uçucu yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır.

Lipolizin derecesi asit değeri olarak ifade edilir. Asit değeri belirli miktar yağdaki toplam serbest yağ asitlerini nötralize etmek için gerekli sodyum veya potasyum hidroksitin mg, mek, milimol olarak miktarıdır. Kaliteli tatlı kremadan hazırlanan tereyağlarının serbest yağ asitleri içeriği 20 üniteden küçük olmakta (1 ünite=1mg NaOH/100g yağ), 40 üniteyi aştığında lipolitik tat gelişimi başlamakta,

50 üniteyi aştığında kabul edilemez tat bozukluğu oluşmaktadır. Kültürlenmiş krema tereyağlarının karekteristik laktik aromasından dolayı bu tereyağlarında daha yüksek düzeyde serbest yağ asitlerini tolere edebilir. Konuya yönelik ülkemizde yapılan çalışmalarda olgunlaşmış krema tereyağlarında sınır değeri 1,53 mg KOH/g yağ (109 ünite) (41), 1,36 mg KOH/g yağ (97 ünite) (9) ve 1,80 mg KOH/g yağ (11) olarak saptanmıştır.

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 (74).

Oksidasyon, doymamış yağ asitlerindeki çift bağların veya yağlardaki hidrokarbon zincirlerinde bulunan doymamış kısımların oksijen ile reaksiyona girmeleri sonucu peroksit ve hidroperoksitlerin meydana gelmesi olayıdır. Lipit oksidasyonu başlangıç, gelişme ve son olmak üzere üç aşamalı, serbest radikaller üzerinden giden zincir reaksiyonudur. Bu olayın başlaması için sistemde serbest radikali oluşturan bazı maddelerin bulunması gerekir. Bunlar eseri miktarda hidroperoksitler, metal iyonları (demir, bakır vb.), enzimler veya aktif oksijendir. Yağda RH ile gösterilen hidrokarbon zinciri, bir katalizör tarafından R^o radikaline ayrıştırılır. Meydana gelen serbest radikaller oksijen alarak peroksit içeren serbest radikallere dönüşür.

Başlangıç : $RH \rightarrow R^o$

Oluşan alkilperoksi radikali ya diğer bir molekülün hidrokarbon zincirinden hidrojen atomu kopartarak hidroperoksite dönüşür ve oluşan R^o radikali yeniden O_2 ile birleşerek zincir reaksiyonu sürer, ya da hidrokarbon zincirinde bulunabilen çift bağa katılarak yeni radikal oluşturur.

İndükleme : $R^o + O_2 \rightarrow ROO$
$ROO + R_1H \rightarrow ROOH + R_1{}^O$

Sonlanma : $R^o + ROO^O \rightarrow ROOR + O_2$
$ROO + C{=}C \rightarrow ROOC\text{-}C$
$RO^O + R^o \rightarrow ROR$
$ROO^O + R^o \rightarrow ROOR$
$2\ RO^O + 2\ ROO^O \rightarrow 2ROOR + O_2$

Radikal sönümleri sonunda zincir kırılması ve stabil olmayan peroksitler meydana gelir. Hidroperoksitler tatsız ve kokusuz bileşiklerdir. Ancak hızlı bir şekilde dekompoze olarak aromatik karbonil bileşikleri oluştururlar. Hidroperoksitlerin bu parçalanma ürünleri doymuş ve doymamış aldehitler, doymamış ketonlar, doymuş ve doymamış hidrokarbonlar, malonaldehitler, doymuş ve doymamış alkollerdir. Bu bileşiklere bağımlı olarak genellikle ‘’okside’’ olarak tanımlanan bir çok tat - aroma (metalik tat, balığımsı, yağımsı, meyvemsi vb.) bozuklukları ortaya çıkar.

Lipit oksidasyonu, gıdalarda oluşan temel kimyasal reaksiyonlardan biridir ve genellikle kalitenin bozulmasına neden olur. Süt ve süt ürünleri gibi yağ içeren gıdalarda kalitenin korunmasında ve raf ömrünün uzatılmasında lipit oksidasyonunun önlenmesi önemli bir faktördür (86).

Oksidasyona etkili olan bir çok faktör bulunmaktadır. Bunlar süte ısı uygulanması, aktif oksijen varlığı, ortamın sıcaklığı, pH'sı, bakır içeriği, doymamış yağ asitlerinin varlığı vb.dir.

Krema ve tereyağlarında, lipit oksidasyonunun derecesini belirlemede peroksit değeri ve TBA testi kullanılmaktadır. Daha yaygın olarak peroksit değerinden yararlanılmaktadır. Peroksit değeri oksidatif bozulmanın başlangıç aşamasında oluşan hidroperoksitlerin miktarını verir. Bu değer 2 meq O_2/kg yağ olduğunda, genellikle tereyağlarında belirgin bir tat bozukluğu oluşmaktadır. Ülkemizde ki gıda mevzuatına göre 10 meq O_2/kg yağ düzeyine kadar ki peroksit değerleri kabul edilebilir sınırlar içerisinde tutulmaktadır (18, 86).

Pearson (77), taze tereyağlarında peroksit değerinin 1,4 meq O_2/kg yağ, ransit tereyağlarında 6,3 meq O_2/kg yağa ulaştığını belirlemiştir. Buna ilaveten olgunlaşmış krema tereyağlarında tat- aroma bozukluğu olmaksızın yüksek peroksit değerinin tolere edilebildiği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (11, 86).

Atamer ve ark. (11), yayık tereyağlarında yaptıkları bir çalışmada, örneklerin peroksit değerlerinin belirli bir döneme kadar artış gösterdiği, bunu izleyen dönemlerde ise azalma meydana geldiği ortaya konmuştur. Azalmaya oksidasyonun başlangıç aşamasında oluşan hidroperoksitlerin, malonaldehitlere kadar parçalanmasının neden olduğu düşünülmüştür. Bu sonuçlar peroksit değeri ile tat- aroma bozukluklarının ilişkilendirilmesini ortadan kaldırmaktadır.

Yapılan bir araştırmada peroksit değeri 2 meq O_2/kg yağ'dan yüksek tereyağlarında herhangi bir tat bozukluğu panelistlerce algılanmamıştır. Asitlik düzeyi ve karbonil bileşenleri miktarlarının tat- aroma bozukluklarının

algılanmasında etkili oldukları bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (12).

Farklı araştırmacıların yaptıkları bir çalışmaya göre; tereyağında peroksit değerinin 0,75'ten, TBA değerinin ise 0,05'ten yüksek olduğu zaman oksit lezzetin belirginleştiği vurgulanmıştır. Bu nedenle TBA testinin öneminin tek başına oldukça sınırlı olduğu, peroksit değerinin 0,75'ten az olmasının her zaman kabul edilebilir aromayı göstermediğini, fakat TBA değerinin 0,05'ten düşük olmasının, oksit tadın olmadığını gösterdiğini belirtmişlerdir. Kısacası bu çalışma ile, tereyağının aroma durumunun göstergesi olarak her iki testin de gerekli olduğu anlaşılmıştır (74).

Lipoliz derecesinin belirlenmesinde, bir gram tereyağındaki serbest yağ asitlerini nötralize etmek için gereken KOH (mg) miktarı hesaplanmaktadır. KOH miktarı gram yağ başına 1,8 mg'a ulaştığında panelistler tarafından kötü bir aroma hissedilir. Atamer ve Sezgin'in (11) yaptıkları bir çalışmaya göre; serbest yağ asitleri miktarı 3,3 mg KOH/g yağ olduğunda panelistlerin %59'u tarafından ransit tat algılanmıştır.

TBA testi ise oksidasyonun ileri aşamalarında oluşan malonaldehitlerin miktarını belirlemek için kullanılmaktadır. Muhafaza süresince oksidasyonun ilerlemesiyle hidroperoksitler malonaldehitlere parçalanırlar ve dolayısıyla peroksit testi ile malonaldehitleri tespit etmek mümkün değildir. Özellikle uzun süre muhafaza edilmiş tereyağlarının oksidatif bozulmalarının TBA testi ile belirlenmesi önerilmektedir (7).

Tereyağının muhafaza edilmesi esnasında oksidasyon sorunuyla sıklıkla karşılaşılmakta ve bunun sonucunda acımsı tat, istenmeyen koku ve toksik

bileşikler oluşmaktadır. Oksijen, ısı, ışık, rutubet ve bazı metaller (bakır ve/veya demir) özellikle hidrolitik ransitite sonucu açığa çıkan doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonlarını büyük ölçüde hızlandırır. Tuz ilavesi ve fazla asidite de oksidasyonu arttırır. Tereyağının, normal ambalaj materyalleri yerine UV ışığını geçirmeyen materyallerle paketlenmesi ransititenin önlenmesi açısından önemlidir. Ayrıca üretimde bazı katkı maddelerinin örneğin antioksidanların kullanılması da kaliteyi olumlu etkilemektedir (87).

3.5 Antioksidanlar

Antioksidanlar, muhafaza süresince oksidasyona bağlı olarak gelişen ransit tat ve kokunun oluşmasını engellemektedirler. Bu ürünler oksidasyonu geri çevirmez yada ransit ürünleri ortadan kaldırmaz. Söz konusu maddeler oksidasyon işlemi başlamadan önce taze üretilmiş yağlara ilave edilerek oksidasyonun şekillenmesini geciktirir veya engellerler. 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 (1).

Antioksidanlar, oksidan tutucu etki, hidrojen verici etki, zincir kırma etkisi ve onarıcı etki olmak üzere başlıca dört yolla serbest radikalleri etkisizleştirirler. Bu maddelerin etki mekanizmaları şöyle açıklanmaktadır; zincir reaksiyonunda enerji alarak aktif hale gelmiş olan peroksitlerin fazla enerjisini antioksidan molekülü alarak, bu fazla enerjinin lipit molekülleri tarafından alınması

önlenmektedir. Aktif hale geçmiş olan antioksidan molekülü, fazla enerjisini lipit moleküllerine aktarmamakta ve kendisi okside olarak inaktif duruma geçmektedir. Bu olayın sonucunda lipit oksidasyonu yavaşlamış olmaktadır. Genel olarak, süt yağının oksidasyonunda linoleik asidin önemli olduğu belirtilerek, süt yağının oksidatif stabilitesindeki azalışın, linoleik asit içeriğinin artması ile ilişkili olduğu açıklanmıştır (66, 74).

Yükseltgenme ürünleri yağın kalitesini bozduğu ve yağı hoşa gitmeyen hale soktuğu gibi, yağların içerdikleri A, D ve E vitaminleri, karoten ve yağ asitleri gibi birçok önemli madde de oksidasyon sonucu parçalanmaktadır. Yağlarda görülen bu olayların, yağları ısı, ışık, nem, atmosferik oksijen, metal ve mikroorganizma etkisinden koruyarak, uygun ambalajlama materyalleri ile vakum altında ambalajlayarak, düşük sıcaklıklarda muhafaza ederek ve uygun antioksidanlar ilave ederek engellenebildiği yada geciktirilebileceği belirtilmektedir (7, 36, 74).

Yağ ve yağ içeren gıdalarda kaliteyi olumsuz yönde etkileyen en önemli faktör olan oksidasyonun, gıdalarda tat ve aroma bozulmasına neden olan lipit hidroperoksitlerinin, karbonil bileşiklerin, hidrokarbonların ve diğer bazı bileşiklerin vücut hücrelerine de zarar verebildiği belirtilmektedir. Antioksidanlar, gıda sanayinde bitkisel ve hayvansal yağlar ve yağ içeren gıda maddelerinin üretimi, muhafazalanması, taşınması ve pazarlanması sırasında, atmosfer oksijeninin etkisini geciktirerek gıdanın bozulmasını ve acılaşmasını belli bir süre engelleyen en etkili maddelerdir. Otooksidasyonu, dışarıdan herhangi bir madde katmadan geciktirmek çok zordur. Oksidasyonun fiziksel ve teknolojik yöntemlerle önlenemediği durumlarda antioksidanlar ve sinerjistler katkı maddesi

olarak kullanılmaktadır. Oksidasyon başlamadan önce katılan antioksidan veya karışımları, ürünün kalitesini korumakta ve oksidasyonu geciktirerek raf ömrünü uzatmaktadır. Yasal düzenlemelere uygun olarak kullanılacak uygun bir antioksidan ile üründe kalitenin korunması, raf ömrünün artırılması ve ekonomik yararlar sağlaması mümkündür. Aksi takdirde, son ürün kalitesi ve tüketici sağlığının riske girebileceği belirtilmektedir (74).

Özellikle yağ ve yağlı gıda maddelerine, oksidasyon başlamadan önce ilave edilen uygun bir antioksidan veya antioksidan karışımı ile ürünün kalitesinin korunduğu, oksidasyonun geciktirilerek raf ömrünün uzatıldığı ve bu amaçla pek çok doğal ve yapay antioksidan madde kullanıldığı vurgulanmaktadır. Kullanılacak antioksidanın gıda ürününde tamamen çözünmesi, ürünün içine nüfuz etme gücünün yüksek olması, uçuculuğunun düşük olması, tatsız ve kokusuz olması, küçük miktarlarda etkili olması, kolay elde edilebilir ve ucuz olması gerektiği belirtilmektedir. Ayrıca ürüne istenmeyen renk ve görünüm vermemesi, toksik ve cilde tesiri olmaması, gıda ile tüketilmesinde sakınca olmaması gerektiği de vurgulanmaktadır. Antioksidanların etkili olabilmeleri için, yağların ve yağlı gıdaların üretimi sırasında veya üretimden hemen sonra eklenmesi, çok iyi karıştırılması, bu sırada ürünün içine hava kaçırılmaması, ürün sıcaklığının 60-80 ^{o}C arasında olması, antioksidanın yağ karışımına devamlı ve orantılı bir şekilde ilave edilmesi ve karıştırılması gerektiği vurgulanmaktadır (33, 34).

Karoten ve benzeri doğal pigmentlerin okside olması sonucu renk kaybı ve tat bozukluğu meydana gelmekte, bu bozuklular ürüne uygun antioksidan ilavesiyle önlenebilmektedir. Serbest radikaller ile kompleks oluşturan

antioksidanlar, fenolik yapılarından veya moleküler yapılarındaki konfigrasyondan dolayı fenolik hidroksil gruplarından hidrojen vererek başlangıçtaki serbest yağ asidi radikali oluşumunu engelleyerek otooksidasyonu inhibe ederler. Bu reaksiyonda oluşan antioksidan serbest radikali stabil olup, oksidasyonu başlatma veya ilerletme yeteneğine sahip değildir (74).

Radikal oluşan ortama, kolayca radikal oluşturabilen ve oluşturduğu radikali de kararlı kılabilen bileşikler eklenirse istenmeyen reaksiyonlar önlenmiş olur. Radikaller bünyelerinde elektron boşluğu bulunan bileşikler olduklarından, elektrofilik özellik gösterirler ve nükleofil olan çift bağlara katılırlar. BHA, BHT ve tokoferoller içerdikleri –OH grupları ile çift bağa en yakın hidrojenlerden dolayı kolayca radikal oluşturabilirler. Ayrıca, içerdikleri aromatik halkalar ve tert-butil gruplarından dolayı oluşan radikalleri de kararlı kılabilirler. Bu nedenle, antioksidanlar gıda maddelerine ilave edilince, oluşan radikaller gıda maddelerine zarar veremeden bu bileşikler tarafından yakalanarak söndürülür, yani oksidasyon önlenir. Ancak antioksidanların kullanım miktarına ve kullanım zamanına dikkat edilmelidir. Kullanılacak antioksidan, mümkün olan en az miktarda kullanılmalıdır. Bazı durumlarda fazla miktarların aksi sonuç verip oksitlenmeyi hızlandırdığı belirtilmektedir (33, 74).

Antioksidanlar, lipitlerin oksidatif bozulmasını engelleyerek gıdalarda oksidatif yağ bozulmasını yavaşlatmakta böylece, yağlardaki karotenoidleri, A ve E vitaminlerini ve diğer bazı besin öğelerini oksijenin bozucu etkisine karşı korumaktadırlar. Doğal antioksidanların gıda sanayinde kullanımlarının çok eskilere dayandığı, yapay antioksidanların ise yaklaşık 50-60 yıl içerisinde yaygınlaştığı belirtilmektedir.

Günümüz gıda sanayisinin hedeflerinden biri gıda maddelerinin kalitesini korumak ve raf ömrünü olabildiğince uzatmaktır. Bunu gerçekleştirebilmek için yağ ve yağlı gıdalarda antioksidan kullanımına ihtiyaç vardır. Ancak antioksidanların toksik olabilme riskleri göz önüne alınarak, yasal düzenlemelerle belirtilen miktarlarda kullanılmalıdır.

Tereyağının raf ömrünü sınırlayan en önemli faktör oksidatif ransititedir. Zira, iç ve donyağımsı, boyamsı, cevizimsi, balığımsı, salatalığı andırır koku ve tatların oksidatif ransitite sonucu oluştuğu belirtilmektedir. Bu nedenle tereyağı muhafazalanması için antioksidan kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmalı ve sonuçlar pratiğe aktarılmalıdır. Böylece tereyağının gerek tüketiciye ulaşıncaya, gerekse tüketici tarafından kullanılıncaya kadar kalitesinin korunması, oksit tat ve acılığın önlenmesi, raf ömrünün artırılması, tüketici sağlığının korunması ve ekonomik yararlar sağlanması mümkün olabilecektir (74).

Lipit peroksidasyonu kontrol etmek için butillenmiş hidroksitoluen (BHT), butillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer butil hidroksikinon (TBHQ) ve propil gallatlar gibi sentetik veya vitamin E, C ve β-karotenler gibi doğal antioksidan maddeler uzun yıllardan beri başarıyla kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanlar ucuz olmaları, yüksek düzeyde stabilite ve güçlü antioksidan aktivite göstermelerinden dolayı tercih edilmektedir. Ancak son yıllarda bunların kızartılmış ürünlerde tam etki göstermediği, hoş olmayan tat ve kokulara sahip olduğu ve en önemlisi sürekli kullanılmaları halinde DNA replikasyonunu ve indüksiyon enzimlerini bozup kanserli hücre oluşumunu uyararak insan sağlığını olumsuz etkilediği (42) ve muhtemel teratojenik etkileri olduğu belirlenmiştir. Bu yüzden bazı ülkelerde kullanımı sınırlanırken bazılarında yasaklanmıştır (22).

Vitamin E, yağda çözünebilen, güçlü antioksidan aktiviteye sahip biyolojik bir antioksidandır. Morrisey ve ark. (60), en az kesimden önceki 28 gün boyunca 200 mg/kg α-tokoferol asetat ilaveli yemlerle beslenen etlik piliçlerde lipit oksidasyonun önlendiğini bildirmektedirler. Ancak tokoferollerin diğer sentetik antioksidanlara göre dayanıksız olması, kullanımında güçlüklere neden olmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda bazı aromatik bitkilerin antioksidan olarak kullanılması gündeme gelmiştir. Lipit oksidasyonunun bu tür doğal maddelerle önlenmesi veya azaltılması, üretici ve tüketici açısından güvenilir gıda maddelerinin üretimine olanak sağladığı için önemlidir.

Son yıllarda, tıbbi ve aromatik bitkiler ile bunlardan elde edilen aktif maddelere gösterilen ilgi artmaktadır. Doğada yetişen 300'e yakın bitki familyasının yaklaşık 1/3'ü uçucu yağ içermektedir. Örneğin *Labiatae* familyasında bulunan, birçok Akdeniz ve Avrupa ülkelerinde üretimi yapılan *Thymus, Lavandula, Melissa, Mentha* türleri ve diğer bazı bitkiler değerli uçucu yağ kaynaklarıdır. Bu nedenle adı geçen familyadaki birçok bitki, antimikrobiyel ve antioksidan özellikler göstermektedir. Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir. Bu bileşikler içerisinde en fazla bulunanları flavonoidler (quarcetin, kaemferol, myricetin), fenolik asitler (carnosic asit, rosmarinic asit) ve fenolik terpenlerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal şelatlama) ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler, lipitlerin ve diğer biyomoleküllerin (protein, karbonhidrat, nükleik asitler) serbest radikallerce okside olmalarını engellemek için aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarda

bulunan hidrojeni verebilmektedirler. Flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler çoğunlukla bitkinin yaprak, çiçek ve odunsu kısımlarında bulunmaktadır. Bu nedenle, genellikle aromatik bitkiler yaprak ve çiçek kısımları kurutularak drog halinde yada ekstraksiyon, distilasyon gibi yöntemlerle elde edilen uçucu yağ esktrakları şeklinde kullanılmaktadır (42, 65).

Fenolik maddeler gıdalarda antioksidan olmalarının yanı sıra mikrobiyel güvenlik açısından da önemlidir. Baharatlarda bulunan eugenol, thymol vb. bileşiklerin antimikrobiyel etkiye sahip olması baharatların çoğunu Gram (+) bakteriler ve küflere karşı etkili hale getirmektedir (29).

Genellikle yağlarda gram başına 100- 200 µg fenolik antioksidanların tek veya birbirleriyle karışım halinde kullanımına izin verilmektedir (73).

Esansiyel yağlar, yağ esktraksiyonu ile bitkilerden elde edilen doğal kaynaklı maddeler olmalarının yanı sıra, kendilerine özgü lezzet ve aromaları ile antimikrobiyel ve antioksidan etki dahil geniş bioaktivite profiline sahip olmaları nedeniyle farklı amaçlarla gıda sektöründe kullanılabilecek önemli alternatiflerdendir. Bu maddelerin insan sağlığı açısından, antikanserojen etkiyi de kapsayan çok sayıda olumlu biyolojik aktivitelere sahip oldukları ortaya konmuştur (26, 30, 31, 52).

Bu maddeler, orta çağlardan beri bakterisidal, virüsidal, fungusidal, antiparaziter, insektisidal özelliklerinden dolayı antiseptik olarak, antimikrobiyel, analjezik, sedatif, antiinflamatuvar, spazmolitik ve lokal anestezik özelliklerinden dolayı medikal alanda, kozmetik endüstrisinde, özellikle günümüzde de farmakolojide, kozmetik sanayide, tarımsal alanda ve gıda endüstrisinde gıda koruyucusu olarak kullanılmaktadır.

Esansiyel yağlar, aromatik bitkilerin sekonder metabolitleri olup, sıvı, uçucu, şeffaf, bazen renkli, güçlü kokuya sahip, organik solventlerde çözünebilen kompleks bileşiklerdir. Bitkilerin tomurcuk, çiçek, yaprak, gövde, dal, meyve, tohum, kabuk gibi kısımlarından elde edilirler. Orta çağda ilk olarak araplar tarafından buhar ve su distilasyonlarıyla elde edilmişlerdir. Günümüzde likit CO_2 veya mikrodalga kullanımı veya düşük-yüksek başınçta kaynayan su veya sıcak buharla distilasyon metotlarıyla üretilmektedirler.

Yaklaşık 3000 çeşit esansiyel yağ varlığı bilinmektedir. Ancak bunların sadece 300' ü ticari olarak farmakolojide, gıda endüstrisinde, sanitasyonda, kozmetikte ve parfüm endüstrisinde önemli rol oynamaktadır. Örneğin d-limonen, geranyl acetate veya d-carvon parfüm, krem ve sabun endüstrisinde, gıdalarda katkı maddesi olarak, ev temizleyicilerinde güzel koku vermek için ve de solvent olarak kullanılırlar. İlaveten bu maddeler aroma terapide de sıklıkla kullanılmaktadır.

Esansiyel yağların bünyesinde bulunan terpenler ve terpenoidler ile aromatik ve alifatik içerikler olmak üzere iki büyük grup bu maddelerin biyolojik özelliklerinde belirleyici rol üstlenirler. Terpenler; β-karoten, skualen, fitol ve steroidler gibi zincirli yapıya sahip ve izopren denilen beş karbonlu ünitelerin kombinasyonundan oluşan esansiyel yağların bünyesinde bulunan doğal maddelerdir (20). Doğada terpen içeren birçok bileşik vardır. Özellikle bitkilerin kendilerine has koku ve tatları terpenlerden ileri gelir. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda da aroma bileşenleri olarak önemlidirler. Örneğin turunçgiller, tarçın ve diğer baharat aromaları birkaç terpen ile karakterize edilir. Limonen ve citral (her ikisi de limonda bulunur), camfor,

pinen (çam ağaçları), eugenol (karanfil), anetol, thymol, geraniol (gül) ve mentol en yaygın bilinen terpenlerdir (4, 24).

Terpenler, çoğunlukla esansiyel yağlarda bulunduklarından, Eski Mısır'da çeşitli dini amaçlar için geçmişte sıklıkla kullanılmıştır (4).

Oksijen içeren terpenlere ise terpenoid denmektedir. Terpenler de kendi aralarında monoterpenler (C_{10}) ve sesquiterpenler (C_{15}) olarak sınıflandırılırlar. Monoterpenler iki izopren ünitesinin birleşmesinden meydana gelirler ve esansiyel yağların molekül içeriğinin %90'ını oluştururlar. Alkoller (geraniol, mentol vb.), aldehitler (geranial, neral vb.), ketonlar (tegeton, carvon vb.), esterler (linalyl asetat veya propianat vb.), eterler (1,8-cineol vb.), peroksitler (ascaridol vb.) ve fenolller (thymol, carvacrol vb.) bu gruba girmektedir. Sesquiterpenler ise üç izopren ünitesinin birleşmesinden oluşmaktadır.

Aromatik bileşikler ise düşük molekül ağırlıklarıyla karekterizedirler. Fenilpropandan türetilmişlerdir. Aldehitler (cinnamaldehit), alkoller (cinnamic alkol), fenoller (eugenol), metoksi derivatlar (estragol) ve metilen dioksi bileşikler (apiole) bu gurubun yapı taşlarını oluştururlar (20).

Esansiyel yağların büyük bir kısmı Food and Drug Administration (FDA) tarafından Generally Recognized As Safe (GRAS) statüsünde kabul edilmektedir. Ancak bu maddelerin koruyucu amaçla yüksek miktarlarda kullanılmaları gıdaların organoleptik özelliklerini değiştirdiğinden dolayı sınırlandırılmaktadır. Yine yapılan bir çalışmaya göre; bazı esansiyel yağ ve onların komponentlerinin kimi şahıslarda sık kullanılmaları halinde alerjenik kontakt dermatit yaptığı kayıtlar arasına geçmiştir (27).

Bu maddelerin antimikrobiyel etki mekanizmaları hakkında yeterli bilgi mevcut değildir ancak, hücre membranında zararlı etkiler yaptığı, permiabiliteyi, buna bağlı olarak proton akış gücünü değiştirerek ve makromolekül kaybına neden olarak liziz yolu ile bakterileri yok ettikleri görüşü savunulmaktadır. *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella* Typhimurium*, Escherichia coli* O157:H7*, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Brochothrix thermosphacta, Pseudomonas fluorescens, Serratia liquefaciens, Lactobacillus carvatus, Lactobacillus sake, Rhizobium leguminosarum, Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Aspergillus ochraceus, Fusarium oxysporum ve Penicillium* spp. gibi çeşitli bakteri, maya ve küflere karşı gelişmelerini durdurucu veya öldürücü etkiye sahip oldukları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (20, 27, 55).

Söz konusu maddelerin antimikrobiyel özellikleri genellikle, gıda pH'sının, muhafaza sıcaklığının ve oksijen miktarının düşmesiyle artmaktadır. Çünkü düşük pH'da bu maddelerin hidrofobitesi artar ve buna bağlı olarak bakteri hücre membran lipitlerinde kolayca çözünürler (27). Yapılan çalışmalar aynı zamanda söz konusu etkinin yoğunluğa bağımlı olduğunu da göstermiştir (84).

Bitki esansiyel yağlarının antimikrobiyel etkileri üzerinde günümüze kadar bir çok araştırma yapılmıştır. Nostro ve ark.'nın (61) yapmış oldukları çalışmada bazı bitki eksraktlarının test mikroorganizması olarak kullanılan bazı Gram (+), Gram (-) bakteri ve maya suşlarına karşı inhibitör etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Disk difüzyon metodu kullanılarak yapılan bir diğer çalışma da, antimikrobiyel aktivitenin Gram (+) bakteri ve maya suşlarına karşı Gram (-) bakterilerden daha etkili olduğu gözlenmiştir (35).

İsmail ve Pierson (50), sarımsak, soğan, tarçın, kekik, yabani mercanköşk ve karabiber yağlarının 100 ppm konsantrasyonda, karanfil ve yenibahar yağlarının ise 150 ppm konsantrasyonda *Clostridium botulinum* 67 B'nin spor oluşturmasını engellediğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, vejetatif üremeye karşı en etkili iki baharat yağının karanfil ve karabiberde olduğunu, sporun gelişimi üzerine hiçbir yağın önemli bir etki yapmadığını belirtmişlerdir.

Kekik, nane, defne yaprağı ve bunların alkol eksraktlarının gıda zehirlenmesine yol açan bakterilerden *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio parahaemolyticus*'un gelişimi üzerine engelleyici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *Salmonella* Typhimurium'un üç baharat karışımında da en az duyarlılık gösterdiği belirtilmiştir. *Staphylococcus aureus*'un gelişimini %0,05 konsantrasyonda inhibe eden kekik, en etkili baharat olarak gösterilmiştir. *Vibrio parahaemolyticus*'un üremesi ise nane, kekik ve defne yaprağının 1000, 5000 ve 6000 ppm konsantrasyonlarında dahi engellenememiştir. Böylece test edilen baharatlara karşı en dirençli bakteri olduğu vurgulanmıştır (91).

Farag ve ark. (44), adaçayı, biberiye, çörekotu, kimyon, karanfil ve kekik baharatının ve bunların temel bileşenlerinin inhibitor etkilerini analiz ettikleri bir çalışmada, çeşitli uçucu yağların 0,25-12 mg/ml oranında dahi mikrobiyel gelişimi önlediği ve en etkili yağların kekik ve kimyon yağları olduğunu ortaya koymuşlardır.

Sentetik antioksidanlara alternatif olarak düşünülen doğal antioksidanların etkilerini ortaya koymak için bitkiler ve baharatlar, araştırmaların en önemli odak noktası olmuştur (14). Bu maddeler radikal temizleme ve lipit oksidasyonu inhibe etme yolu ile antioksidatif özellik gösterirler (85).

Biberiye, adaçayı, sumak, kekik, karanfil, zencefil, kırmızı biber ve rezene çeşitli gıdalarda kullanılabilecek yüksek antioksidatif özelliğe sahip bitkilerdir. Farag ve ark. (43), linoleik asit oksidasyonu üzerine çeşitli esansiyel yağların antioksidatif etkisini inceledikleri bir çalışmaya göre, en etkili esansiyel yağın kimyon esansiyel yağı olduğunu, bunu sırasıyla adaçayı, biberiye, kekik ve karanfilin izlediğini ortaya koymuşlardır. Akgül ve Ayar (1), 50 ^{o}C'de muhafazalanan ayçiçek yağında adaçayı, biberiye, kekik ve sumağın güçlü antioksidatif etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Ayar ve Özcan (14), yaptıkları bir çalışmada, tereyağında muhafaza süresince oluşan oksidasyonu önlemek amacı ile adaçayı, biberiye ve kekik ekstraktlarını kullanıp, söz konusu ekstraktların tereyağını oksidasyona karşı BHA' dan daha iyi koruduğunu, bunlardan en etkilisinin adaçayı olduğunu ve antioksidatif etkinin konsantrasyona bağlı olarak arttığını vurgulamışlardır.

Bu amaçla yapılan bir diğer çalışmada, biberiye ve adaçayı sucuklarda düşük redoks potansiyeli göstererek domuz yağı için en önemli antioksidan maddeler olarak tespit edilmiştir. Buna rağmen yağ- su emülsiyonunda karanfil en etkili baharat olarak belirlenmiştir. Başka bir çalışmada (82), araştırmacılar karanfil, adaçayı, kekik ve zencefilin et yağındaki antioksidan etkilerinin konsantrasyona bağlı olduğunu tespit etmişlerdir ve içlerinde en etkilisinin karanfil olduğunu, bunu adaçayı ve biberiyenin izlediğini vurgulamışlardır. Aynı çalışmada zencefil ve kekik en az etki gösteren baharatlar olarak belirlenmiştir. Farklı araştırmacılar, uskumru yağının kontrollü oksidasyonunda %1 kekiğin, 200 ppm miktarındaki BHA ile eşdeğer etki gösterdiğini bulmuşlardır (10). Karabiber, reyhan ve adaçayının endüstriyel olarak mikrodalgaya tabi tutulması ile ilgili bir

çalışmada (95), bu bitkilerin antioksidan özelliklerinde bir değişme görülmediği belirtilmiştir.

31 çeşit aromatik bitkinin antioksidan etkisinin, ayçiçeği yağında incelendiği bir çalışmada (1), en güçlü antioksidan etkiye biberiye bitkisinin sahip olduğu ve bunu sırasıyla adaçayı, sumak, kekik gibi bitkilerin izlediği görülmüştür.

Aromatik özelliğinden dolayı ülkemizde çok kullanılan kekik bitki türünün tereyağlarındaki antioksidan özelliğini ölçmek için yapılan bir çalışma da *Satureja cilicica* türü kullanılmış ve tereyağlarında bu türün; içerdiği thymol, carvacrol, γ-terpinen ve p- cimen dolayısıyla güçlü antioksidan etkili olduğu yapılan testlerle ortaya konulmuştur (71).

Kekik ve kimyon esansiyel yağları kullanılarak tereyağının raf ömrünün uzatılması amacı ile yapılan bir başka çalışmada; söz konusu maddelerin 200 ppm oranında tereyağına ilave edilmesiyle birlikte muhafaza süresince asit değerinde çok az bir artış olduğu ve bu maddelerin BHT ile kıyaslanacak kadar yüksek antihidrolitik etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (42).

Oda sıcaklığında muhafaza edilen pamukyağındaki oksidasyonu önlemek amacıyla, kekik ve karanfil esansiyel yağlarının çeşitli konsantrasyonlardaki antioksidatif etkisinin incelendiği bir çalışmada karanfil yağı kekik yağından daha etkili bulunmuştur (94).

Biberiye ve adaçayının antioksidan etkisi büyük oranda carnosic asitten, karanfilin söz konusu etkisi eugenolden kaynaklanırken, kekiğin antioksidatif etkisinden başlıca thymol ve/veya carvacrol sorumlu tutulmuş ve yapılan çalışmalarda (65), carnosic asitin; biberiyenin antioksidatif etkisinden sorumlu

diğer bir madde olan carnolsoldan üç kat, sentetik antioksidanlar olan BHT ve BHA'dan yedi kat fazla antioksidatif etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır.

3.5.1. 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. Suda çözünmez, fakat alkolde veya yağda kolayca çözünebilir. FDA tarafından GRAS statüsüne uygun görülmüş bir maddedir (45).

Radikal tutucu ve metallerle şelat oluşturabilme özelliklerinden dolayı, eugenol söz konusu bitkinin antioksidatif etkisinden sorumludur. Demir orijinli lipit peroksidasyon ve bakıra bağlı düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu önlemek için yapılan bir çalışmada eugenolün bu etkisi ortaya konmuştur (51). Yapılan çalışmalarda eugenolün antikanserojen ve antifungal özellikleri olduğu vurgulanmıştır (27, 57).

Araştırmacılar tarafından; *Staphlococcus aureus, Escherichia coli, Campylobacter jejuni, Vibrio parahaemolyticus, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica* ve *Helicobacter pylori*'ye karşı eugenolün antimikrobiyel etki gösterdiği vurgulanmıştır (40).

Eugenol, güçlü kokusundan dolayı baharat olarak ve arıtıcı özelliğinden dolayı diş antiseptiği olarak ta kullanılmaktadır. Araştırmacılar tarafından ağrı kesici özelliği olduğu da tespit edilmiştir.

Eugenol, BHA'nın antioksidatif etkisinin %90'ına sahiptir. Yapılan bir çalışmada, bünyesinde bulundurduğu eugenolden dolayı karanfil bitkisinin BHA ve BHT kadar güçlü antioksidatif etki gösterdiği tespit edilmiştir (51, 56).

Konu ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada da, tereyağlı keklerde karanfil ve zerdeçalın antioksidatif ve antimikotik etkisi incelenmiş ve bu iki baharat türünün diğer baharatlara kıyasla güçlü antimikotik ve antioksidatif etki gösterdiği bulunmuştur (56).

3.5.2. Thymol

Kekik (*Thymus spp.*) dünyada bilinen tıbbi ve aromatik bitkilerin en önemlilerinden biridir. *Labiatae* familyasındandır. Buna ilaveten aynı familyaya ait *Origanum* (Mercanköşk), *Sideritis* (Dağçayı), *Thymbra* (Karakekik) ve *Satureja* (Kayakekiği) türleri de kekik olarak bilinmekte ve baharat olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde 40 kadar türü yetişmektedir.

Yurdumuz zengin kekik rezervleriyle, dünya kekik pazarının %70'ini elinde bulundurmakta ve yıllık yaklaşık 10.000 ton üretimi yapılarak ülke ekonomisine 21 milyon dolar civarında kazanç sağlanmaktadır. Kekik baharat olarak kullanılmanın yanında kekik çayı, kekik yağı, kekik suyu gibi çok çeşitli şekillerde üretilmekte ve kullanılmaktadır. Tıp, eczacılık ve tarım alanında da geniş kullanım imkanı bulan kekik, antik çağlardan beri iştah açıcı, sindirimi kolaylaştırıcı, idrar söktürücü, kan dolaşımını hızlandırıcı, terletici, hazımsızlığı azaltıcı, kramp çözücü, dezenfekte edici, balgam söktürücü vb. gibi pek çok tıbbi yararları bilinerek kullanılmıştır (3, 16).

Uçucu yağı ve bileşenleri konusunda üzerinde en fazla araştırma yapılan aromatik bitki kekiktir. Uçucu yağında thymol, carvacrol, p-cimen, terpineol, borneol, cymol, linalol gibi bileşenler mevcuttur. Thymol, carvacrol kekik uçucu yağının ana bileşenlerini oluşturmakla birlikte, bu maddeler kekiğe kendine özgü kokusunu veren aynı zamanda antimikrobiyel ve antioksidan özellik kazandıran

fenolik bileşiklerdir. Antimikrobiyel özelliklerini fonksiyonel hidroksil grupları ve yüksek redoks potansiyelleri sayesinde göstermektedirler. Bu bileşikler uçucu yağların % 78-82'sini oluşturmaktadır (3, 65, 75).

Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışma da, kekik uçucu yağı veya α-tokoferol asetat ilave edilen yemlerle beslenen etlik piliçlerin göğüs ve but etlerindeki malondialdehit (MDA) düzeyleri kontrol grubuna göre azalmış ve bu azalma ilave edilen kekik uçucu yağı arttıkça belirginleşmiştir. Ancak kekik uçucu yağının antioksidan etkisinin vitamin E kadar güçlü olmadığı gözlemlenmiştir. Hatta kekik uçucu yağı ve vitamin E'nin yarı yarıya karıştırılarak kullanıldığında, antioksidan etkinin daha da arttığı ve bu nedenle kekik uçucu yağı ile vitamin E arasında sinerjik bir etki bulunduğu belirtilmektedir (65).

Thymol aynı zamanda güçlü bür antimikrobiyeldir. *S. aureus, E. coli, C. jejuni, V. parahaemolyticus, S.* Typhimurium'a karşı kekik yüksek bir inhibitör etki göstermektedir. Kekiğin aflatoksin üreten *Aspergillus parasiticus NRRL* 2999 suşuna etkisinin incelendiği bir araştırmada 10^6 spor/ml miktarında *A. parasiticus*'un gelişimi kekik içeren besiyerinde miktara bağlı olarak içermeyenlere göre daha geç olmuştur. Kekik uçucu yağları aynı şekilde *Listeria monocytogenes'*e karşı da inhibitor etki göstermektedir. Stoplazmada eksiklik ve sertliğini arttırarak hücre duvarını bozar yada kalınlaştırır. Nisinle kombinasyonuyla elektrik şoku etkisinden daha fazla güçlü etkisi vardır (29, 40).

Yine yapılan başka bir çalışmada; thymol ve carvacrol lipozom fosfolipitlerindeki peroksidasyonu doza bağlı olarak azaltmıştır (93).

Kekik ve karanfil esansiyel yağlarının oda sıcaklığında muhafaza edilen pamuk yağı üzerinde antioksidatif etki gösterdiği ve bu etkinin karanfilde kekiğe kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür (94).

Tereyağında muhafaza süresince karşılaşılan en önemli problem acılaşmadır. Oksidatif ransititenin önlenebilmesi öncelikle, üretimde kaliteli taze kremadan hijyenik koşullarda tekniğine uygun olarak yapılan tuzsuz veya çok az miktarda tuz içeren tereyağının, radyasyona özellikle UV ışığa maruz kalmamasına ve rutubet oranı düşük soğuk ortamlarda muhafaza edilmesine bağlıdır. Ayrıca üretimde bazı katkı maddelerinin örneğin antioksidanların kullanılması da kaliteyi olumlu etkilemektedir. Tereyağında oksidasyonu önlemek için doğal antioksidanların kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmalar daha ziyade sentetik antioksidanların kullanımı veya doğal antioksidan olarak bitki ekstraktlarının kullanımıyla sınırlıdır.

Planlanan bu çalışma ile terpen olarak bilinen esansiyel yağlardan eugenol ve thymol tereyağına 100 ppm oranında ilave edilerek, tereyağının gerek tüketiciye ulaşıncaya, gerekse tüketici tarafından kullanılıncaya kadar kalitesinin korunması, ülkemiz şartlarında büyük problem olan dayanıksızlığın giderilmesi, özellikle bozulma sonucu oluşan oksit lezzet ve acılığın önlenmesi, raf ömrünün arttırılması, böylece tüketici sağlığının korunması ve ekonomik yararlar sağlanması, aynı zamanda kullanılacak olan bu maddelerin farklı muhafaza sıcaklıklarında (-20 $\pm 1^{o}$C ve +4 $\pm 1^{o}$C) ürünün kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kalitesine olan etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1 Tereyağına İşlenen Krema: Araştırmada, tereyağına işlenen taze inek sütü kreması Malatya'da faaliyet gösteren Karlıdağ Süt Ürünleri İşletmesi'nden 17 Nisan – 15 Mayıs 2009 tarihleri arasında temin edilmiştir. Kremanın süt yağı oranı %45 olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.1.2 Tereyağına İlave Edilen Esansiyel Yağlar:

4.1.2.1 Eugenol: Merck firmasından temin edilen ve sıvı haldeki eugenol

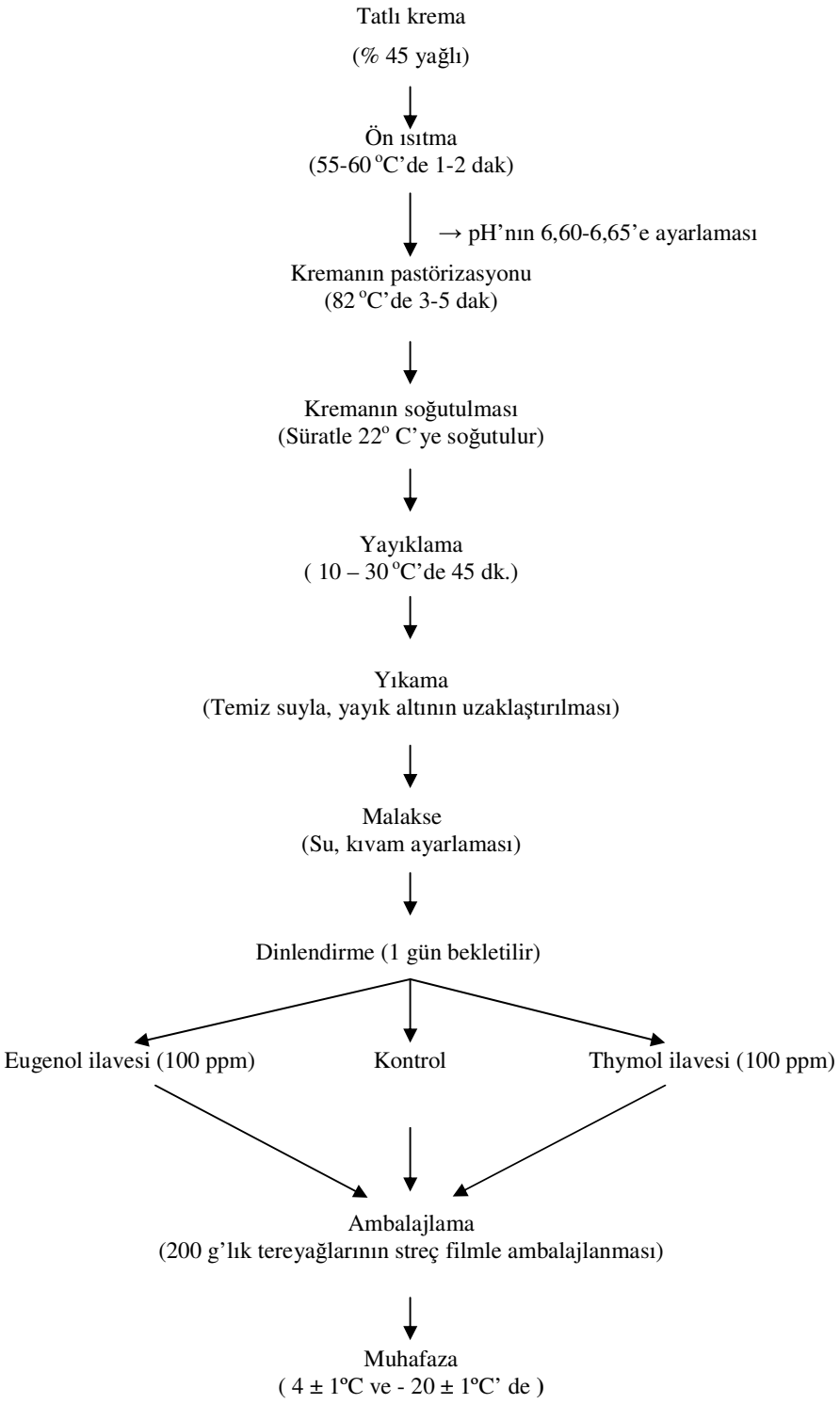
4.1.2.2 Thymol: Sigma firmasından sağlanan, kristal haldeki ticari thymol

4.2. Yöntem

Bu araştırmada, iki farklı antioksidanın (eugenol ve thymol) 100 ppm oranında ilavesiyle üretilen tereyağı örnekleri 0., 10., 20., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri bakımından incelenmiştir.

4.2.1. Deneme Tereyağının Üretimi:

Deneme tereyağı örneklerinin üretimi aşağıda Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Deneysel Tereyağı Üretimi

Şekil 1'de belirtildiği gibi üretilen tereyağı örnekleri 200 g'lık kalıplar halinde streç film ile ambalajlanmış ve her bir grup kendi arasında 2 kısma ayrılmıştır. Bir kısmı 4 ±1 ^{o}C'de, diğeri ise -20±1 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir. Muhafaza başlangıcında (0. gün) ve bunu takip eden 10., 20., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerde tereyağı örnekleri kimyasal (pH, serbest yağ asitliği, TBA değeri, peroksit sayısı ve diasetil tayini), mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerob mikroorganizma, maya-küf, koliform, *Lactobacillus* spp., laktik *Streptococcus* spp. ve lipolitik mikroorganizma sayımı) ve duyusal özellikleri bakımından analiz edilmiştir (74).

4.2.2. Kremanın Pastörizasyonu:

%45 yağ oranına ayarlanan taze inek sütü kreması 55-60 ^{o}C'de 1-2 dakika ön ısıtmanın ardından, 82 ^{o}C'de 3-5 dakika süreyle pastörize edilmiştir.

4.2.3. Soğutma İşlemi:

Pastörize edilen krema, ısı işleminden canlı kalan termodürik bakterilerin gelişmesini önlemek amacıyla süratle 22 ^{o}C'ye kadar soğutulmuştur.

4.2.4. Yayıklama, Yıkama ve Malakse İşlemi:

Yatay malaksörlü yayıkta kremanın yayıklanmasıyla elde edilen tereyağından, yayıkaltının ayrılması için, yayığın alt musluğu açılarak yayıkaltı ve yıkama suyu uzaklaştırılmıştır. İzleyen aşamada yayık belirli miktar temiz suyla doldurularak yayığın birkaç kez döndürülmesiyle yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Böylece yayık altıyla birlikte besin maddeleri de ortamdan uzaklaştığı için mikroorganizma gelişimi de nispeten inhibe edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca malakse işlemi ile suyun homojen dağılımı sağlanmış, tereyağının su içeriği azaltılmış ve kıvamı ayarlanmıştır (74).

4.2.5. Tereyağına Esansiyel Yağların İlavesi ve Örneklerin Analize Hazırlanması:

Elde edilen tereyağı, 1 kontrol ve 2 farklı antioksidan muamelesi için 3 kısma bölünmüştür. Antioksidan olarak 100 ppm düzeyinde eugenol ve thymol kullanılmıştır. Antioksidanlar bir miktar erimiş tereyağı içerisinde çözündürüldükten sonra deneme desenine uygun olarak henüz yumuşak olan asıl tereyağı kitlesine ilave edilmiş ve bir homojenizatör yardımıyla mümkün olduğunca homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Oksijenin etkisini mümkün olduğunca azaltmak amacıyla yağların bulunduğu kapların üzeri kapatılmıştır. Tereyağları 200 g'lık kalıplar halinde streç film ile ambalajlanarak, 2 ayrı sıcaklık derecesinde (4 ±1^{o}C ve -20±1 ^{o}C) ışıktan korunacak şekilde 6 ay süreyle muhafaza edilmiştir. Muhafazanın başında ve 10., 20., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerinde tereyağı örnekleri, sıcaklığı 39^{o}C'den düşük olan su banyosunda bekletilerek yumuşatılmış ve karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Böylece örnekler, analize hazır hale getirilmiştir (74).

4.2.6. Deneme Tereyağı Örneklerine Uygulanan Analizler:

4.2.6.1. Kimyasal Analizler:

4.2.6.1.1. pH Değerinin Belirlenmesi:

Örneklerin pH değerleri (25±1 ^{o}C'de), pH metre (P selecta pH 2001) ile saptandı. Tereyağı örneğinden 50 g tartılarak 50 ml'lik santrifüj tüpüne konuldu ve tüpler 65 ^{o}C'deki su banyosuna yerleştirilerek tereyağının erimesi, dolayısıyla serum ve yağ fazlarının ayrılması sağlandı. Tereyağı tamamen eridikten sonra santrifüj tüpünün kapağı takılıp 5 dakika santrifüj edildi. Bunu takiben tüpler hemen buzlu su banyosuna konularak, tüpün üst kısmında bulunan yağ donduktan

sonra spatül yardımıyla alınarak uzaklaştırıldı. Tüpteki serum 25 ml'lik behere aktarılarak, sıcaklığı 20 ^{o}C'ye ayarlandıktan sonra pH değerleri ölçüldü (8).

4.2.6.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değerinin Belirlenmesi:

Tereyağındaki serbest yağ asitlerini belirlemek için, 5-10 g yumuşatılmış tereyağı 250-300 ml'lik bir erlenmayer içinde 50-100 ml nötralize etanol/dietil eter (1:1) (Riedel-de Haën, Fluka) karışımında çözdürüldü ve üzerine %1'lik fenolfitalein (Merck) çözeltisinden 0,1 ml ilave edildi. En az 10 saniye sabit kalabilen açık pembe renk oluşuncaya kadar 0,1M KOH (Merck) ile titre edildi ve aşağıda belirtilen formülden tereyağı örneğinin asit değeri saptandı (62).

Asitlik değeri (mg KOH/g yağ)= Harcanan KOH solüsyonu (ml) x KOH'in molaritesi x 56,1/g örnek.

4.2.6.1.3. Peroksit Sayısının Belirlenmesi:

Örneklerin peroksit sayısını belirlemek için 5 g tereyağı örneği bir erlende 10 ml kloroform (Merck) içerisinde çözündürüldü. Erlenin ağzı sıkıca kapatıldıktan sonra hızlı bir şekilde karıştırıldı. Sonra 15 ml glasial asetik asit (Riedel-de Haën), 1 ml doymuş poyasyum iyodür (KI) (Riedel-de Haën) çözeltisi ilave edilip erlenin kapağı kapatılarak bir dakika karıştırıldı. Daha sonra 5-10 dk oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletildi. Arkasından kaynatılmış soğutulmuş saf sudan 75 ml eklenip kuvvetlice karıştırıldı ve yaklaşık 1 ml kadar nişasta çözeltisi ilave edilerek 0,002 N $Na_2S_2O_3$ (Merck) ile renk açılıncaya kadar titre edildi. Tanık deneyden sonra tereyağı örneğinin peroksit sayısı aşağıda verilen formülden yararlanılarak hesaplandı (74).

Peroksit Sayısı= (V_1-V_2) x N/m

$V_{1:}$ Örnek için harcanan $Na_2S_2O_3$ miktarı, ml

V_2: Tanık deney için harcanan $Na_2S_2O_3$ miktarı, ml

N: $Na_2S_2O_3$'ün normalitesi

M: Örnek miktarı, g

4.2.6.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Tayini:

TBA değerini tayin etmek için bir behere 10 g tereyağı örneği tartılarak 50 ml distile su ilave edilip 2 dakika karıştırıldı. Süre sonunda karışım 500 ml'lik Kjeldahl balonuna aktarılarak üzerine 47,5 ml distile su ilave edildi. Ortam pH'sı 4N HCl (Riedel-de Haën) ile 1,5'a ayarlanıp balon destilasyon düzenine takıldı. 10 dakikada 50 ml destilat toplanacak şekilde destile edildi. Toplanan destilattan tüplere 5 ml alındı ve üzerine 5 ml TBA çözeltisi (Merck) eklendi. Blank için başka bir deney tüpüne 5 ml TBA çözeltisi ve 5 ml distile su ilave edilerek karıştırıldı. Tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra iyice karıştırılıp kaynar su banyosunda 35 dakika bekletildi. Daha sonra soğuması için 10 dakika soğuk su içinde tutulan tüplerdeki solüsyon, spektrofotometre (UV mini 1240 spectrophotometer, Shimadzu) tüplerine aktarıldı ve köre karşı 538 nm'de okundu. Okunan absorbans değerinden yararlanılarak aşağıda belirtilen formülle tereyağı örneğinin TBA değeri tespit edildi (2).

TBA sayısı (mg malonaldehit/ kg yağ) = 7,8 x D

D= 538 nm'de okunan absorbans değeri

4.2.6.1.5. Diasetil Değerinin Belirlenmesi:

Örneklerdeki diasetil değerini belirlemek için, Walsh- Cogan ve Xanthopoulos'un yöntemlerinden yararlanıldı. Bu amaçla 40 g tereyağı bir şişe içinde steam (buğulama) distilasyon cihazına bağlanarak 10 ml distilat elde edildi. Bu distilattan 5 ml alınıp test tüpleri içine konuldu. Üzerine 1,5 ml hidroksilamin

(Fluka) ilave edildi ve karışım 75 ^{o}C'de 20 dakika su banyosunda bekletildi. Bu arada karıştırma işlemi uygulandı. Daha sonra tüplere 0,5 ml aseton fosfat ilave edildi. Tüpler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra üzerine 1,5 ml alkalin tartarat solüsyonu ilave edilerek karıştırıldı, üzerine yeni hazırlanmış 0,1 ml $FeSO_4$ (Merck) solüsyonu eklendi ve tekrar karıştırıldı. Hacim % 33'lük dipotasyum hidrojen fosfat (Merck) solüsyonu ile 10 ml'ye tamamlandı. 15 dakika sonra spektrofotometre (UV mini 1240 spectrophotometer, Shimadzu) ile 530 nm'de absorbans ölçüldü. Daha sonra, 1, 2.5, 5, 7.5, 10 ppm'lik standart diasetil solüsyonları hazırlanarak bir standart eğri oluşturuldu ve bunun sonucunda bir katsayı elde edilerek absorbans verileri bu katsayı ile çarpılarak örneklerimizdeki diasetil miktarları ppm düzeyinde tespit edildi (18).

4.2.6.2. Mikrobiyolojik Analizler:

4.2.6.2.1. Örneklerin hazırlanması:

Mikrobiyolojik analizler için, bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasına (200 Specimen bags, LP Italiana Spa) aseptik şartlar altında 10 g tereyağı numunesi konuldu ve üzerine 90 ml 1/4 kuvvetinde Ringer çözeltisinden ilave edildi. Stomacher torbası tereyağı eriyinceye kadar 39 ^{o}C'deki su banyosunda tutuldu ve ardından tereyağı ile Ringer çözeltisinin homojen karışımını sağlamak amacıyla Stomacher cihazında 60 saniye boyunca homojen hale getirildi. Daha sonra bu çözeltiden desimal dilüsyonlar yapılarak örneklerin mikrobiyolojik ekimleri yapıldı (89, 90).

4.2.6.2.2. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayımı:

Toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların sayımında besi yeri olarak, Plate Count Agar (PCA) (Fluka) kullanıldı (49). Ekimi yapılan plaklar 37±1^{o}C'de 48-72 saat inkube edildikten sonra 30-300 koloni içeren plaklar sayıldı.

4.2.6.2.3. Maya-Küf Sayımı:

Örneklerdeki maya ve küf sayısını tespit etmek için Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar (Acumedia) kullanıldı (5). Ekimi yapılan petriler 25±1^{o}C'de 4-5 gün inkübe edildikten sonra 10-150 koloni içeren plaklar değerlendirildi.

4.2.6.2.4. Koliform Sayımı:

Örneklerdeki koliform sayısını tespit etmek için En Muhtemel Sayı (EMS) metodu kullanıldı. Bunun için içinde Lauryl Sulfate Broth (LST) (Biolab) bulunan 3 deney tüpüne ekim yapıldı ve tüpler 37±1^{o}C'de 24 saat süreyle inkube edildi. Süre sonunda asit ve gaz görülen tüpler pozitif olarak değerlendirildi ve doğrulamak amacıyla, Brillant Green Lactose Bile Broth (BGLB)'a (Biolab) pozitif tüplerden ekim yapıldı. Tüpler aynı sıcaklık derecesinde aynı süreyle inkübe edildi, asit ve gaz oluşan tüpler koliform pozitif olarak değerlendirildi (32, 88).

4.2.6.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayımı:

Lactobacillus spp. sayımı için MRS Agar (Biolab) kullanıldı (6). Ekimi yapılan petriler 30±1^{o}C'de 48 saat inkübe edildikten sonra 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi.

4.2.6.2.6. Laktik *Streptococcus* spp.Sayımı:

Laktik *streptococcus* spp. sayımı için M17 Agar (Lab M) besi yeri kullanıldı (6). Ekimi yapılan plaklar 30±1^{o}C'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra 30-300 koloni içeren plaklar sayıldı.

4.2.6.2.7. Lipolitik Mikroorganizma Sayımı:

Lipolitik mikroorganizmaların sayımında Tributyrin Agar (Fluka) besi yeri kullanıldı (46). Ekimi yapılan plaklar 30±1^{o}C'de 48 saat inkübe edildikten sonra etrafı berrak zonlu koloniler sayıldı.

4.2.6.3. Duyusal Analizler:

Deneysel tereyağı örneklerinin duyusal analizi 5 kişilik panelist grup tarafından yapıldı. Duyusal analiz için kullanılan form Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Duyusal Analiz Puanlama Formu

Panelist Adı Soyadı:						Tarih:				
Değerlendirilen Özellikler	Nitelikler	Puan	A	B	C	D	E	F	G	H
GÖRÜNÜM	Benekli (mermer gibi)	1								
	Noktalı benekli	1								
	Yağı ayrılabilir	1								
	Alacalı	1								
	İki renkli	1								
	Çok renkli	1								
	Yabancı madde	1								
	Küflü	1								
	Taneli	1								
	Çok sulu	1								
	Hatasız	10								
KIVAM	Sert	1								
	Yumuşak	1								
	Kırıntılı	1								
	Hamurumsu	1								
	Yapışkan	1								
	Hatasız (İyi sürülebilme yeteneği)	5								
LEZZET	Pişmiş-Yanık	1								
	Yem	1								
	Yabancı	1								
	Asit-Ekşi	1								
	Bayat	1								
	Okside-Metalik	1								
	Küf kokulu-Kokmuş	1								
	Peynir gibi	1								
	Mayamsı	1								
	Süt yağı acılığı	1								
	Balığımsı	1								
	Donyağımsı	1								
	Acı	1								
	Saf olmayan	1								
	Diğer	1								
	Hatasız (Saf tereyağı lezzeti)	15								
KOKU	Hoşa gitmeyen	1								
	Pişmiş	1								
	Süt yağı acılığı	1								
	Küfümsü	1								
	Ekşi	1								
	Hatasız	5								
TOPLAM PUAN										

4.2.6.4. İstatistiksel Analizler:

Araştırma, deneme deseni 3 (antioksidan muamelesi) x 2 (muhafaza sıcaklığı) şeklinde faktöriyel deneme düzenine göre 3 tekerrürlü olarak yapıldı.

Bu araştırmada, verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testinden yararlanıldı. Ortalamalar, Fisher'in Least Significance Difference (LSD) metoduna göre ayrıştırıldı. Tüm analizlerde önem derecesi $\alpha = 0,05$ olarak kabul edildi. Bütün analizler Statistical Analysis Sytem (SAS) programından yararlanılarak gerçekleştirildi (83).

5. BULGULAR

5.1. Deneysel Tereyağı Örneklerinin Muhafaza Sırasında Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.1. Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.1.1. pH Değeri

Deneysel tereyağı örneklerinin, 180 günlük muhafazası sırasında tespit edilen pH değerleri Tablo 3 ile Şekil 2 ve 3'te gösterilmektedir.

Tereyağı örneklerinin pH değerleri üzerine, uygulanan üretim tekniğinin, muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulunurken ($p<0,05$), bu 3 değişkenin 3'lü interaksiyonu önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Tablo 3 incelendiğinde, muhafaza öncesi pH değerleri, 6,44 – 6,49 arasında değişim gösterdi. Bu değerler muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de 5,94 – 6,3 arasında, -20 ^{o}C'de ise 6,38 – 6,44 arasında bulundu.

Kontrol grubu deneysel tereyağı örneklerinin 4 ^{o}C'de muhafazası sırasında pH değeri dalgalı bir görünüm sergileyerek muhafazanın 180. gününde 5,42 seviyesine düştü. Fakat pH ile ilgili artış ve azalışlar istatistiki olarak önemli görülmedi ($p>0,05$).

Eugenol grubu örneklerde, muhafaza öncesinde pH değeri 6,49 olarak saptandı. Bu grupta, 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C'de kaydedilen pH değişiklikleri istatistiki açıdan önemsiz bulundu ($p<0,05$). Grupta en düşük pH değerleri 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 5,82 ile 150. günde, -20 ^{o}C'de ise 6,25 ile 120. günde tespit edildi.

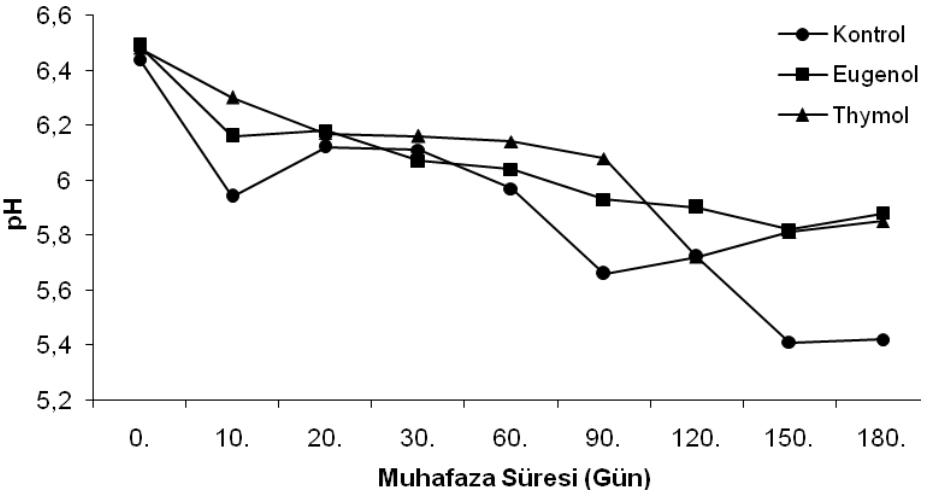
Thymol grubu tereyağı örneklerinde, muhafaza öncesi pH değeri 6,48 olarak tespit edildi. Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C olan tereyağı örneklerinde, pH

değerlerinde 180. güne kadar istatistiki olarak önem arzetmeyen bir düşüş gözlemlendi ($p>0,05$). Yine, -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde de muhafaza süresince önemli bir değişiklik meydana gelmedi ($p>0,05$). Bu muhafazada elde edilen en düşük pH değeri 6,26 ile 120. günde kaydedildi.

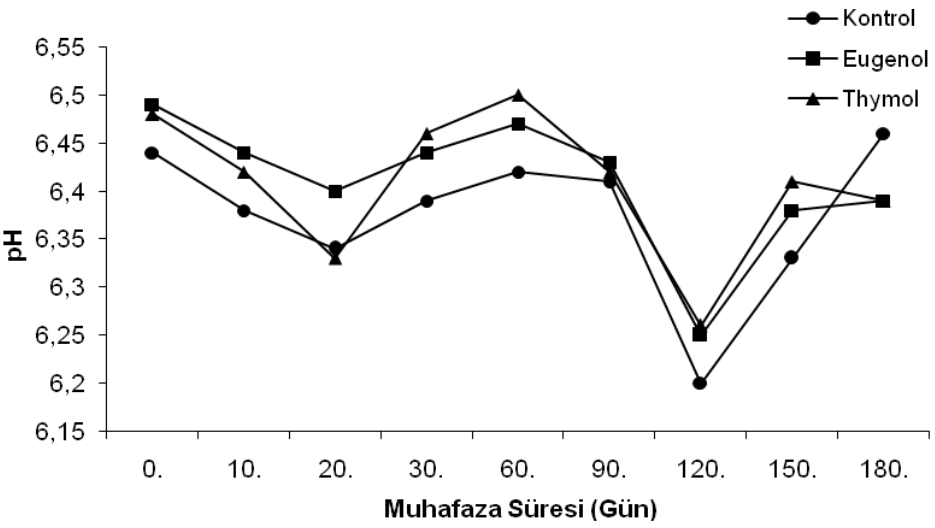
Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C olan tereyağı örneklerinde gruplar arasında pH değerlerindeki farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 3. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen pH Değerleri

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	6,44	5,94	6,12	6,11	5,97	5,66	5,72	5,41	5,42
	-20 °C		6,38	6,34	6,39	6,42	6,41	6,20	6,33	6,46
EUGENOL	4 °C	6,49	6,16	6,18	6,07	6,04	5,93	5,90	5,82	5,88
	-20 °C		6,44	6,40	6,44	6,47	6,43	6,25	6,38	6,39
THYMOL	4 °C	6,48	6,30	6,17	6,16	6,14	6,08	5,72	5,81	5,85
	-20 °C		6,42	6,33	6,46	6,50	6,42	6,26	6,41	6,39



Şekil 2. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



Şekil 3. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değeri

Deneme tereyağı örneklerinde belirlenen asit değerleri Tablo 4 ile Şekil 4 ve 5'te verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin asit değerleri üzerine uygulanan üretim tekniğinin ana etkisi önemli bulunmazken ($p>0,05$), muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$).

Deneysel örneklerde muhafaza öncesi asit değerleri 1,26 – 1,52 mg KOH/g olarak saptandı.

Kontrol grubu örneklerde, asit değeri muhafaza başlangıcında 4 ^{o}C'de 1,37 mg KOH/g olarak tespit edilirken, muhafazanın 10. gününde 1,64 mg KOH/g olarak belirlendi. Muhafazanın 150. gününde 2,94 mg KOH/g ve 180. gününde ise 6,27 mg KOH/g asit bulundu. Serbest yağ asitleri değerindeki bu artış istatistiki açıdan önemli bulundu ($p<0,05$). -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise, muhafaza süresince önemli farklılıklar kaydedilmedi ($p>0,05$). Bu grupta, en yüksek değer 1,67 mg KOH/g ile 180. günde tespit edildi.

Eugenol grubu tereyağlarında, muhafaza öncesi asit değeri 1,26 mg KOH/g olarak tespit edildi. Bu grupta 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde, 180 günlük muhafaza periyodunda serbest yağ asitleri değeri 30. gün hariç tutulursa giderek arttı. Bu artış önemli bulundu ($p<0,05$). Ancak, -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde, günler arasında önemli bir fark görülmedi ($p>0,05$). Grubun en yüksek değeri (1,67 mg KOH/g) 180. günde elde edildi.

Thymol grubu tereyağı örneklerinde, muhafaza öncesi asit değeri 1,52 mg KOH/g olarak saptandı. Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C olan örneklerde muhafaza süresince asit değerlerinde önemli artış görüldü ($p<0,05$). -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise, muhafaza günleri arasında istatistiki fark görülmedi

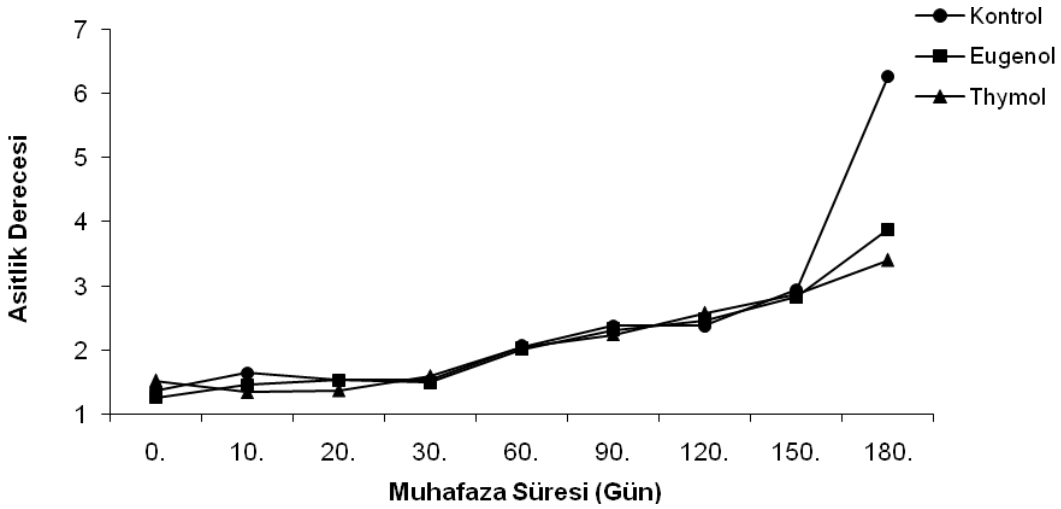
($p>0,05$). Grubun en yüksek asit değeri ise 1,67 mg KOH/g ile 150. günde tespit edildi.

Çalışmada kullanılan tereyağı örneklerinde, asit değeri açısından, gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde muhafazanın ilk günlerinde farklılık tespit edilmezken, 150. ve 180. günlerdeki farklılıklar önemli bulundu ($p<0,05$). -20 ^{o}C'de muhafaza edilenlerde ise, istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Gruplar arasında en yüksek değer, 4 ^{o}C 'de muhafaza edilen kontrol grubunda 180. günde 6,27 mg KOH/g olarak saptandı.

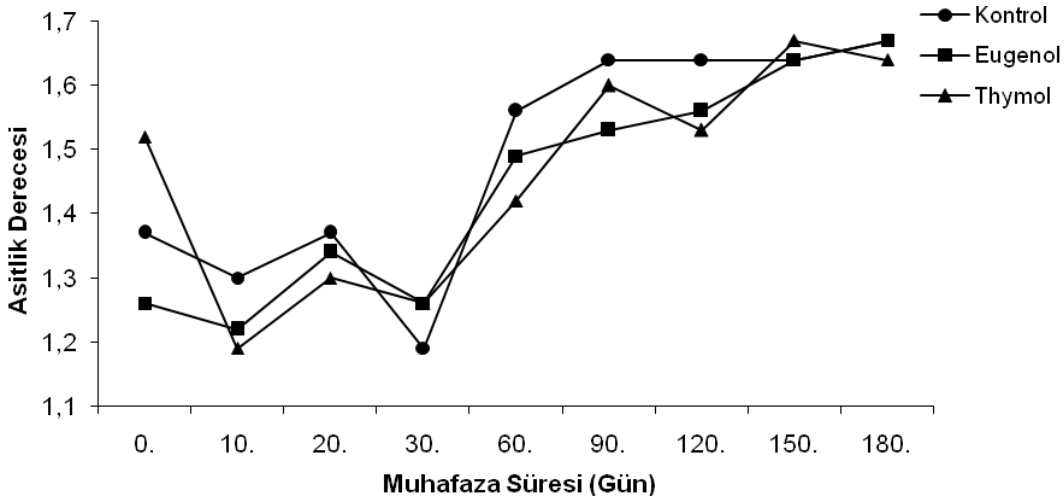
Tablo 4. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Serbest Yağ Asitleri Değerleri

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120. Gün	150. Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	$1,37^{x}$	$1,64^{x}$	$1,53^{x}$	$1,53^{x}$	$2,05^{xy}$	$2,38^{xy}$	$2,38^{xy}$	$2,94^{a,y}$	$6,27^{a,z}$
	-20 °C		$1,30^{x}$	$1,37^{x}$	$1,19^{x}$	$1,56^{x}$	$1,64^{x}$	$1,64^{x}$	$1,64^{b,x}$	$1,67^{b,x}$
EUGENOL	4 °C	$1,26^{x}$	$1,45^{x}$	$1,53^{x}$	$1,49^{x}$	$2,01^{xy}$	$2,31^{xy}$	$2,46^{xy}$	$2,83^{ab,yz}$	$3,88^{cd,z}$
	-20 °C		$1,22^{x}$	$1,34^{x}$	$1,26^{x}$	$1,49^{x}$	$1,53^{x}$	$1,56^{x}$	$1,64^{b,x}$	$1,67^{b,x}$
THYMOL	4 °C	$1,52^{x}$	$1,34^{x}$	$1,37^{x}$	$1,60^{xy}$	$2,05^{xy}$	$2,24^{xyz}$	$2,57^{xyz}$	$2,87^{ab,yz}$	$3,40^{d,z}$
	-20 °C		$1,19^{x}$	$1,30^{x}$	$1,26^{x}$	$1,42^{x}$	$1,60^{x}$	$1,53^{x}$	$1,67^{b,x}$	$1,64^{b,x}$

a,b,c,d: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)
x,y,z: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)



Şekil 4. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Serbest Yağ Asitleri Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



Şekil 5. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Serbest Yağ Asitleri Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.1.3. Peroksit Sayısı

Araştırmada kullanılan deneysel tereyağı örneklerinde peroksit sayısı, tüm gruplar için tespit edilebilir seviyenin altında bulundu.

5.1.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinde belirlenen TBA sayıları, Tablo 5 ile Şekil 6 ve 7'de verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin TBA sayıları üzerine uygulanan üretim tekniğinin ve muhafaza sıcaklığının ana etkisi önemli bulunmazken ($p>0,05$), sürenin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark elde edilemedi ($p>0,05$).

Deneysel örneklerde muhafaza öncesi TBA sayıları 0,046 – 0,067 mg malonaldehit/kg olarak belirlendi.

Kontrol grubu tereyağlarında, TBA sayısı muhafaza başlangıcında 4 ^{o}C'de 0,046 mg malonaldehit/kg olarak ölçülürken, muhafazanın 10. gününde 0,054 mg malonaldehit/kg tespit edildi. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu örneklerinde ise bu değer 0,062 mg malonaldehit/kg olarak belirlendi. Grubun gerek 4 ^{o}C'de gerekse de -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerin her ikisinde de, 180 günlük muhafaza süresince kaydedilen veriler arasında istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Eugenol grubu örneklerde, muhafaza öncesi TBA sayısı 0,067 mg malonaldehit/kg olarak ölçüldü. Bu grupta da 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örnekler arasında tüm muhafaza günlerinde önemli bir fark saptanamadı ($p>0,05$). Grubun 4 ^{o}C'deki en yüksek TBA sayısı 0,150 mg malonaldehit/kg ile 150. günde

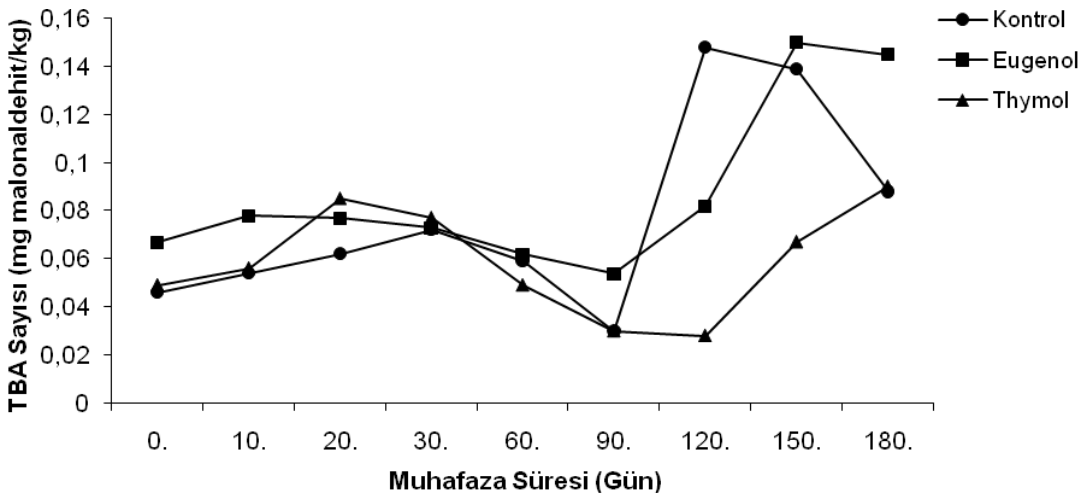
tespit edilirken, -20 ^{o}C'deki örneklerde ise 0,088 mg malonaldehit/kg ile 180. günde kaydedildi.

TBA sayısı, thymol grubu tereyağı örneklerinde muhafaza öncesi 0,049 mg malonaldehit/kg olarak saptanırken, muhafaza süresince dalgalı bir görünüm sergileyerek 180. günde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 0,090 mg malonaldehit/kg olarak belirlendi. Grubun -20 ^{o}C'deki örneklerinde en yüksek TBA sayısı 0,150 mg malonaldehit/kg ile 180. günde kaydedildi. Hem 4 ^{o}C hem de -20 ^{o}C'deki örneklerin hiç birinde muhafaza süresince istatistiki bir farklılık kaydedilemedi ($p>0,05$).

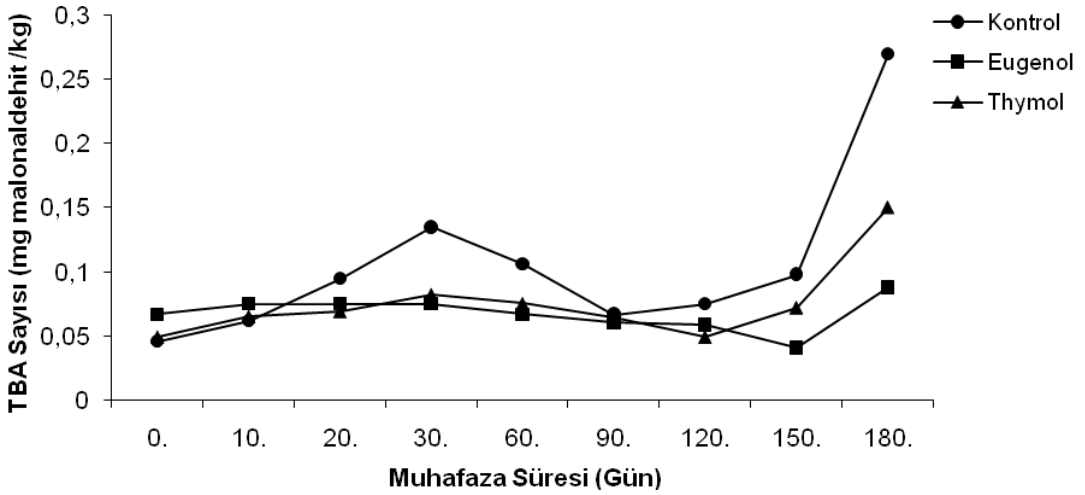
Tablo 5 incelendiğinde, deneysel tereyağı örneklerinde, gruplar arasında istatistiki bir fark görülmedi ($p>0,05$).

Tablo 5. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen TBA Değerleri

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	0,046	0,054	0,062	0,072	0,059	0,030	0,148	0,139	0,088
	-20 °C		0,062	0,095	0,135	0,106	0,067	0,075	0,098	0,270
EUGENOL	4 °C	0,067	0,078	0,077	0,073	0,062	0,054	0,082	0,150	0,145
	-20 °C		0,075	0,075	0,075	0,067	0,061	0,059	0,041	0,088
THYMOL	4 °C	0,049	0,056	0,085	0,077	0,049	0,030	0,028	0,067	0,090
	-20 °C		0,065	0,069	0,082	0,075	0,064	0,049	0,072	0,150



Şekil 6. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında TBA Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



Şekil 7. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında TBA Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.1.5. Diasetil Değeri

Deneysel tereyağı örneklerinin muhafaza öncesi ve muhafaza süresince içerdiği diasetil miktarına ait değişim Tablo 6 ile Şekil 8 ve 9'da verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin muhafazası sırasında diasetil miktarı üzerine uygulanan üretim tekniğinin ve muhafaza sıcaklığının ana etkisi önemsiz bulunurken ($p>0,05$), muhafaza süresinin ana etkisi önemli görüldü ($p<0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$).

Deneysel örneklerde muhafaza öncesi diasetil miktarı 17,07 – 62,41 ppm düzeyinde tespit edilirken, muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örnekler için 81,47 – 310,44 ppm düzeyinde saptandı.

Kontrol grubu tereyağlarında, muhafazanın başlangıcında 62,41 ppm olarak ölçülen diasetil miktarı 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C'de muhafaza sırasında tüm muhafaza günlerinde istatistiki olarak önemi olmayan artış ve azalışlar görüldü ($p>0,05$). Diasetil değeri, muhafazanın 180. gününde 4 ^{o}C'de 56,12 ppm, -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise 37,98 ppm olarak ölçüldü ($p>0,05$).

Eugenol grubu örneklerde muhafaza öncesinde 17,07 ppm olarak saptanan diasetil düzeyi, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde, muhafazanın 10. gününde 81,47 ppm düzeyine ulaştı ve 120. günde en yüksek değer olan 91,46 ppm miktarına çıktı. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen eugenol grubu örneklerde ise grubun en yüksek değeri 193,97 ppm ile 30. günde kaydedildi. Her iki muhafaza sıcaklığında tutulan örnekler içinde kaydedilen değişiklikler istatistiki olarak önemli görülmedi ($p>0,05$).

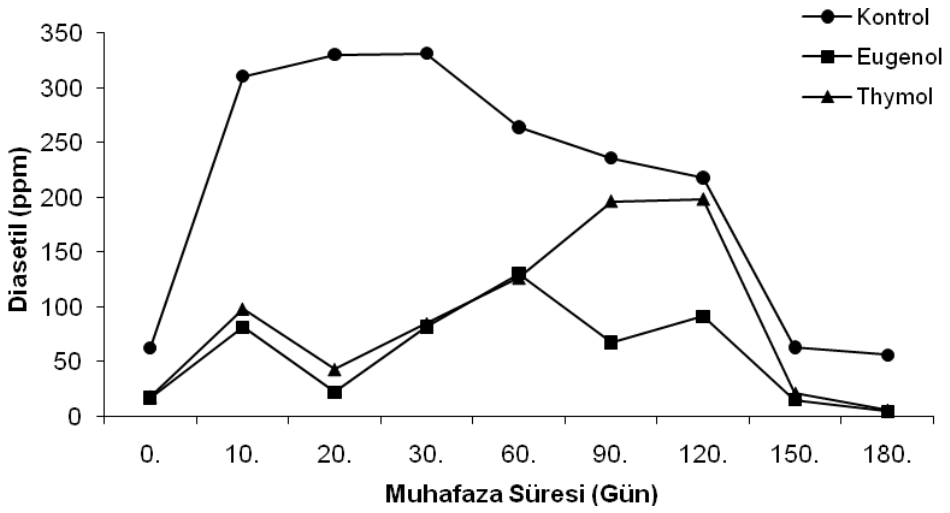
Thymol grubu tereyağı örneklerinde, muhafazanın başında 17,71 ppm olan diasetil miktarı, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 10. muhafaza gününde 97,74

ppm'e çıktı. Muhafazanın 180. gününde ise 5,45 ppm değerinde tespit edildi. -20 ^{o}C'deki örneklerde en yüksek diasetil miktarı 184,09 ppm ile 30. günde kaydedildi. Diasetil düzeyinde görülen bu değişiklikler istatistiki olarak önemli görülmedi ($p>0,05$).

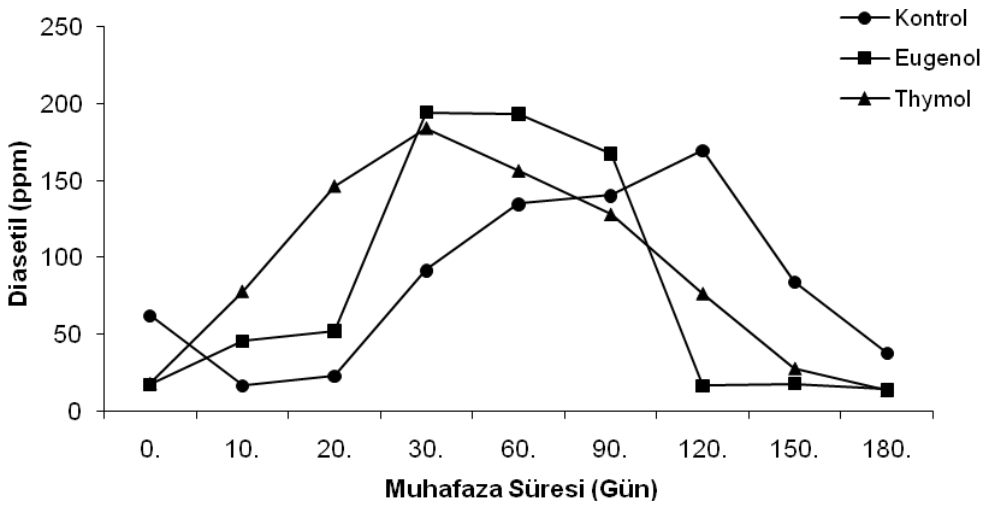
Yapılan istatistiki analizler sonucunda gruplar arasında farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Tablo 6. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Diasetil Değerleri

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120. Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	62,41	310,44	330,12	331,27	263,93	235,76	217,63	63,16	56,12
	-20 °C		16,87	22,96	91,73	134,87	140,10	169,44	84,03	37,98
EUGENOL	4 °C	17,07	81,47	22,19	81,60	130,51	67,36	91,46	14,99	4,49
	-20 °C		45,33	51,88	193,97	193,03	166,96	16,23	17,64	14,11
THYMOL	4 °C	17,71	97,74	42,60	84,35	126,11	196,29	198,21	20,86	5,45
	-20 °C		77,84	146,36	184,09	156,33	127,92	76,40	27,57	13,24



Şekil 8. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Diasetil Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



Şekil 9. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Diasetil Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.2. Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinin muhafaza öncesi ile 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C'de muhafaza sırasında içerdikleri toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarındaki değişim Tablo 7 ve Şekil 10 ve 11'de verilmektedir.

Yapılan istatistiki analizler sonucunda deneysel tereyağı örneklerinin toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayıları üzerine üretim tekniğinin, muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi önemli bulundu ($p<0,05$).

Tablo 7 incelendiğinde, muhafazanın başlangıcında gruplarda 7,42 - 7,57 $\log_{10}$ kob/g arasında olan bakteri sayısı muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de 7,64 - 8,01 $\log_{10}$ kob/g arasında, -20 ^{o}C'de ise 5,42 – 5,80 $\log_{10}$ kob/g arasında bulundu.

Kontrol grubu tereyağı örneklerinin muhafaza öncesinde 7,47 $\log_{10}$ kob/g olan bakteri sayısı, 4 ^{o}C'de muhafazasında 60. güne kadar 7,39 – 7,87 $\log_{10}$ kob/g arasında dalgalanma gösterdiği tespit edildi. Bu dalgalanma istatistiki olarak önemsiz bulundu ($p>0,05$). Muhafazanın 60. gününden itibaren artan bakteri sayısı 180. günde 7,68 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Ancak bu artış da istatistiki açıdan önemli bulunmadı. ($p>0,05$) Muhafazanın başlangıcında (0. gün) 7,47 $\log_{10}$ kob/g olan bakteri sayısı, -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 10. günde 5,80 $\log_{10}$ kob/g değerinde saptandı. Bu azalma istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$).

Eugenol grubu tereyağı örneklerinin muhafaza öncesinde 7,57 $\log_{10}$ kob/g olan toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı, 4 ^{o}C'deki muhafazada 10. gün 8,01 $\log_{10}$ kob/g değerine çıktı. Muhafazanın ileri günlerinde farklı değişimler

göstererek 180. günde 7,90 $\log_{10}$ kob/g miktarında saptandı. Ancak, muhafaza süresince sergilenen bu dalgalı görünüm önemli bulunmadı ($p>0,05$). Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı eugenol grubu tereyağı örneklerinin -20 ^{o}C'de muhafazası sırasında 10. günde 5,42 $\log_{10}$ kob/g olurken, muhafazanın 180. gününde 5,14 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Muhafaza öncesinde 7,57 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunan toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı ileri muhafaza günlerinde yaklaşık 2 logaritmalık bir azalma gösterdi ($p<0,05$).

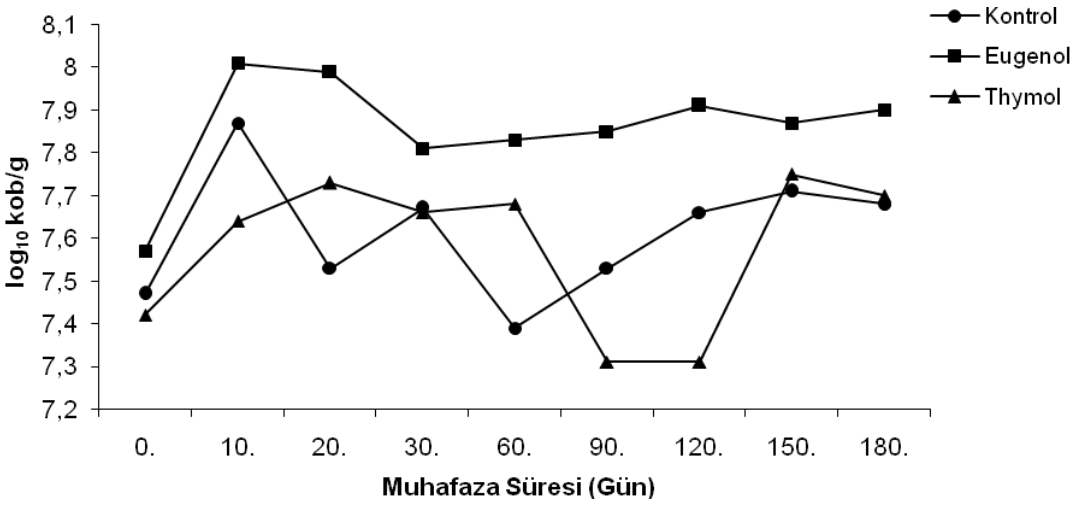
Thymol grubu örneklerde, muhafaza başlangıcında 7,42 $\log_{10}$ kob/g olan toplam aerob bakteri sayısı, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 20. güne kadar bir artış gösterdi. Bu gruptaki en yüksek değer 7,75 $\log_{10}$ kob/g ile 150. günde tespit edildi. Muhafaza süresince toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı bakımından elde edilen farklılıklar önemsiz bulundu ($p>0,05$). Thymol grubu örneklerin -20 ^{o}C'de muhafazası sırasında en düşük değer 4,84 $\log_{10}$ kob/g ile 60. gün saptandı. Muhafaza başlangıcı ile bundan sonraki muhafaza günleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$).

Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı bakımından muhafaza öncesinde (0.gün), kontrol, eugenol ve thymol grupları arasındaki farklılıklar önemsiz bulundu ($p>0,05$). Gruplar arasında, en yüksek mezofilik aerob bakteri sayısı eugenol grubu tereyağı örneklerinde tespit edildi. Deneysel tereyağı örneklerinin -20 ^{o}C'de muhafazasında ise, 60. ve 150. günler hariç, en düşük bakteri sayısı yine eugenol grubu tereyağı örneklerinde saptandı. Söz konusu günlerde (60. ve 150. gün) 4,84 – 5,01 $\log_{10}$ kob/g bakteri sayısı ile en düşük değer thymol grubu örneklerde tespit edildi.

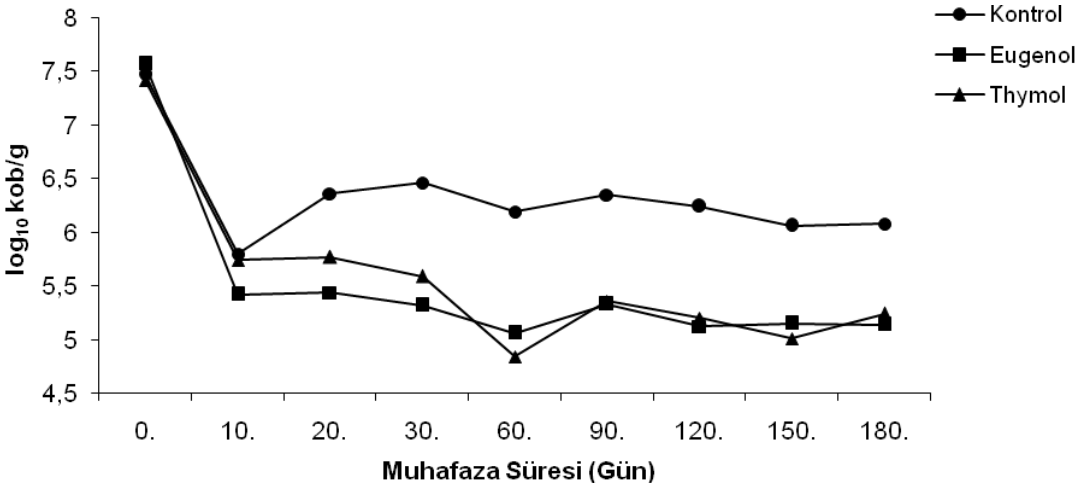
Tablo 7. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120. Gün	150. Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	7,47^{x}	7,87^{a,x}	7,53^{a,x}	7,67^{a,x}	7,39^{a,x}	7,53^{a,x}	7,66^{a,x}	7,71^{a,x}	7,68^{a,x}
	-20 °C		5,80^{b,y}	6,36^{ab,xy}	6,46^{ab,xy}	6,19^{ab,xy}	6,35^{ab,xy}	6,24^{ab,xy}	6,06^{b,xy}	6,08^{b,xy}
EUGENOL	4 °C	7,57^{x}	8,01^{a,x}	7,99^{a,x}	7,81^{a,x}	7,83^{a,x}	7,85^{a,x}	7,91^{a,x}	7,87^{a,x}	7,90^{a,x}
	-20 °C		5,42^{b,y}	5,44^{b,y}	5,32^{b,y}	5,06^{b,y}	5,33^{b,y}	5,12^{b,y}	5,15^{b,y}	5,14^{b,y}
THYMOL	4 °C	7,42^{x}	7,64^{a,x}	7,73^{a,x}	7,66^{a,x}	7,68^{a,x}	7,31^{a,x}	7,31^{a,x}	7,75^{a,x}	7,70^{a,x}
	-20 °C		5,74^{b,y}	5,77^{b,y}	5,59^{b,y}	4,84^{b,y}	5,36^{b,y}	5,20^{b,y}	5,01^{b,y}	5,24^{b,y}

a,b: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)
x,y: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)



Şekil 10. Deneysel Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 11. Deneysel Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.2. Maya Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinde, muhafazanın başlangıcında (0. gün) ve muhafaza süresince tespit edilen maya sayılarına ait değişimler Tablo 8 ile Şekil 12 ve 13'te gösterilmektedir.

Yapılan istatistiki analizler neticesinde, deneysel tereyağı örneklerinin maya sayısı üzerine uygulanan üretim tekniğinin ve sürenin ana etkisi önemsiz bulunurken ($p>0,05$), muhafaza sıcaklığının ana etkisi önemli bulundu ($p<0,05$).

Örneklerde maya sayıları, muhafaza başlangıcında 2,30 – 3,17 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edilirken, 4 ^{o}C'de muhafaza sırasında 10. günde 4,30 – 4,93 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Muhafaza sıcaklığı -20 ^{o}C olan örneklerde ise bu değerler bu günde 1,37 – 1,52 $\log_{10}$ kob/g arasında bulundu.

Kontrol grubu örneklerde, muhafazanın başlangıcında 2,44 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edilen maya sayısı, artarak 30 günde 4,49 $\log_{10}$ kob/g sayısına ulaştı. Maya sayısı, 60. günde 4,08 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunurken bu günden sonra 150. güne kadar tekrar artış göstererek en yüksek değere (5,32 $\log_{10}$ kob/g) çıktı. Ancak bu değişimler istatistiki açıdan önemsiz bulundu ($p>0,05$). Muhafaza sıcaklığı -20 ^{o}C olan örneklerde, 0. gündeki değer (2,44 $\log_{10}$ kob/g) ile ileri muhafaza günlerinde tespit edilen değerler (0,95- 1,60 $\log_{10}$ kob/g) karşılaştırıldığında günler arasındaki fark önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Eugenol grubunda, muhafazanın başlangıcında maya sayısı, 2,30 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Bu grup örneklerin 4 ^{o}C'deki muhafazasında maya sayısı 10. günde 4,93 $\log_{10}$ kob/g, 150. günde ise 5,58 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Bu gündeki artış istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Aynı grup örneklerin -20 ^{o}C'de muhafaza değerleri ise 0,95 – 2,30 $\log_{10}$ kob/g arasında değişiklik gösterirken, bu değişim önemli bulunmadı ($p>0,05$).

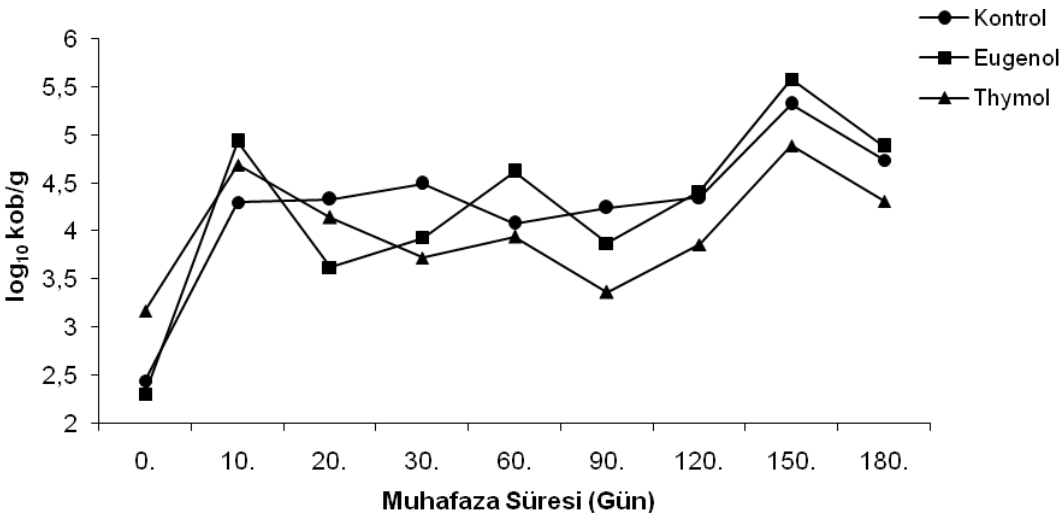
Thymol grubu örneklerde maya sayısı, muhafaza öncesinde 3,17 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Maya sayısı 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 10. günde 4,69 $\log_{10}$ kob/g olarak sayılırken, 180. günde 4,31 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Muhafaza süresince görülen farklılıklar önemsiz bulundu ($p>0,05$). Bu grupta en yüksek değer 4,89 $\log_{10}$ kob/g ile 150. günde tespit edildi. Aynı grup örneklerin -20 ^{o}C'de muhafazasında da günler arasında istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Deneysel tereyağı örneklerinde, muhafaza süresince gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, muhafaza öncesinde en yüksek değer 3,17 $\log_{10}$ kob/g ile thymol grubu tereyağı örneklerinde bulunurken, muhafazanın 30. gününden sonra 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde en düşük maya sayısı yine thymol grubu örneklerde sayıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar önemli görülmedi ($p>0,05$).

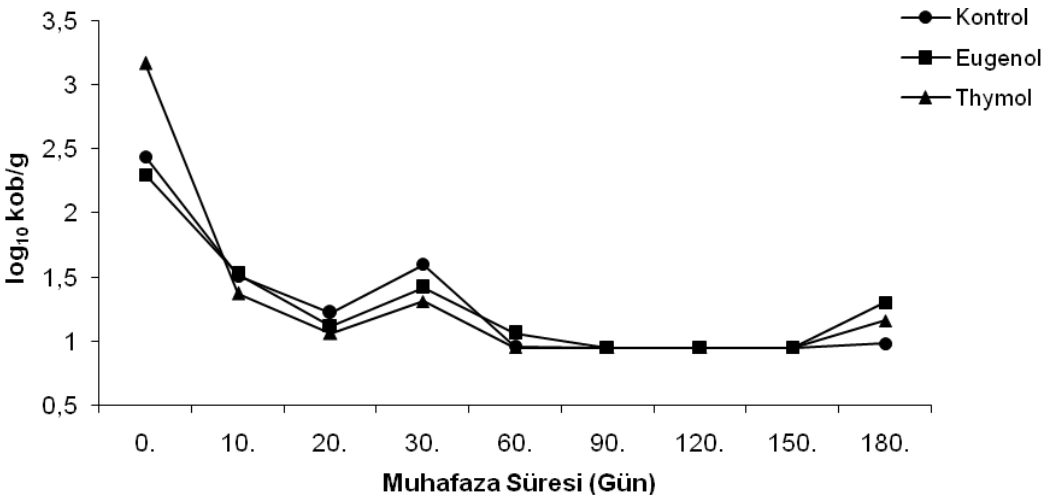
Tablo 8. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Maya Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	Muhafaza Öncesi	MUHAFAZA SÜRESİ 10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120. Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	2,44	4,30^{a}	4,33^{a}	4,49	4,08^{a}	4,24^{a}	4,35^{a}	5,32^{a}	4,74^{a}
	-20 °C		1,51^{ab}	1,22^{b}	1,60	< 1^{b}	< 1^{b}	< 1^{b}	< 1^{b}	< 1^{b}
EUGENOL	4 °C	2,30^{x}	4,93^{a,xy}	3,62^{ab,xy}	3,93^{xy}	4,62^{a,xy}	3,87^{a,xy}	4,41^{a,xy}	5,58^{a,y}	4,88^{a,xy}
	-20 °C		1,52^{b,x}	1,12^{b,x}	1,42^{x}	1,06^{b,x}	< 1^{b,x}	< 1^{b,x}	< 1^{b,x}	1,30^{b,x}
THYMOL	4 °C	3,17	4,69^{a}	4,14^{a}	3,72	3,94^{a}	3,36^{ab}	3,86^{a}	4,89^{a}	4,31^{a}
	-20 °C		1,37^{b}	1,06^{b}	1,31	< 1^{b}	< 1^{b}	< 1^{b}	< 1b	1,16^{b}

a,b: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)
x,y: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)



Şekil 12. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Maya Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 13. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Maya Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.3. Küf Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinde, muhafazanın başlangıcında ve muhafaza süresince tespit edilen küf sayılarına ait değişimler Tablo 9 ile Şekil 14 ve 15'te verilmektedir.

Yapılan istatistiki analizler neticesinde, örneklerde küf sayısı üzerine uygulanan üretim tekniğinin ana etkisi önemsiz bulunurken ($p>0,05$), muhafaza sıcaklığının ve süresinin ana etkisi önemli bulundu ($p<0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark elde edilemedi ($p>0,05$).

Tereyağı örneklerindeki küf sayıları, muhafaza başlangıcında (0. gün) 2,04 – 2,20 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit edildi. Örneklerin 4 ^{o}C'deki muhafazası sırasında, 10. günde 0,95 – 1,77 $\log_{10}$ kob/g, -20 ^{o}C'deki muhafazada ise 0,95 – 1,12 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi.

Kontrol grubu örneklerde, muhafazanın başlangıcında 2,13 $\log_{10}$ kob/g olarak sayılan küf sayısı, ilk 30 gün boyunca azalma gösterirken, muhafazanın 90. gününde en yüksek değer olan 3,48 $\log_{10}$ kob/g'a ulaştı. Sonraki muhafaza günlerinde ise tekrar azaldı. Ancak, 180 günlük muhafaza boyunca kaydedilen bu değişimler istatistiki olarak önemsiz bulundu ($p>0,05$). Aynı grubun -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerinde ise, küf sayısı 10. günden sonra 0,95 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunurken, 180. günde 1,49 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Buradaki değişim de önemli bulunmadı ($p>0,05$).

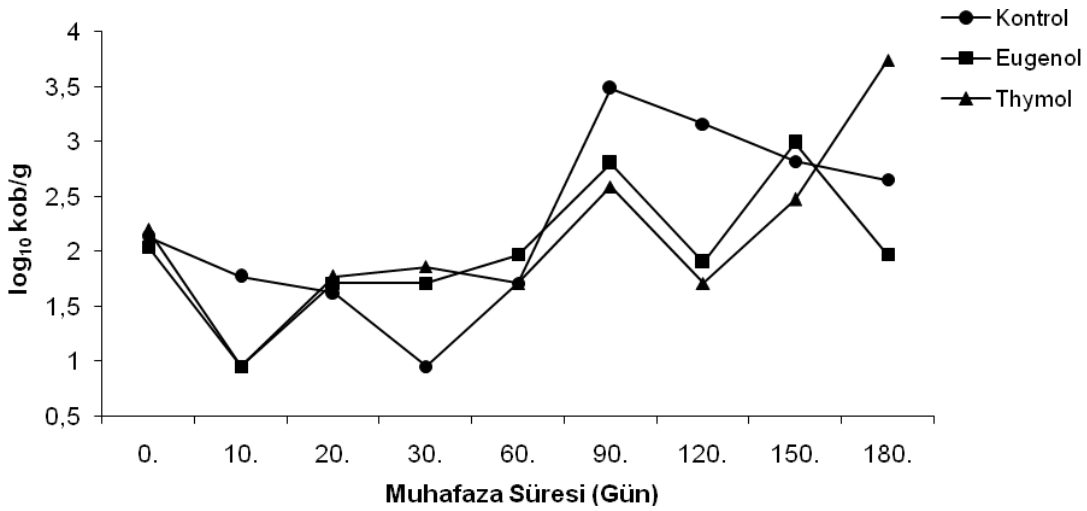
Eugenol grubu tereyağı örneklerinde, muhafazanın başlangıcında küf sayısı 2,04 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Bu grup örneklerde muhafaza süresince (4 ^{o}C ve -20 ^{o}C) önemli bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). Bu grupta en yüksek değer (2,89 $\log_{10}$ kob/g) 150. günde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen tereyağı örneklerinde saptandı.

Thymol grubunda, muhafaza öncesinde 2,20 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlenen küf sayısı, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen tereyağı örneklerinde 10. günde 0,95 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunurken, 180. günde 3,74 $\log_{10}$ kob/g değerine ulaştı. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise, aynı günde (150. gün) için bu değer 1,53 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Küf sayısı bakımından muhafaza süresince her 3 grup (kontrol, eugenol ve thymol) örnekte belirlenen değişimlerin önem arzetmediği bulundu ($p>0,05$).

Deneysel örneklerde, muhafaza süresince gruplar arasında da istatistiki olarak bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 9. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Küf Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	2,13	1,77	1,62	< 1	1,71	3,48	3,16	2,82	2,65
	-20 °C		< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,49
EUGENOL	4 °C	2,04	< 1	1,71	1,71	1,97	2,80	1,90	2,99	1,97
	-20 °C		1,12	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,12
THYMOL	4 °C	2,20	< 1	1,77	1,86	1,71	2,59	1,71	2,47	3,74
	-20 °C		< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	<1	< 1	1,53



Şekil 14. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

Şekil 15. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.4. Koliform Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinin muhafaza öncesi ve muhafaza süresince içerdiği koliform sayılarına ait değişim Tablo 10 ile Şekil 16 ve 17'de verilmektedir.

Yapılan istatistiki analizler neticesinde, örneklerde koliform sayısı üzerine uygulanan üretim tekniğinin ve sürenin ana etkisi önemli bulunurken ($p<0,05$), muhafaza sıcaklığının ana etkisi önemsiz bulundu ($p>0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tereyağı örneklerindeki koliform sayıları muhafazanın başlangıcında (0. gün) 38,30 – 74,10 EMS/g olarak tespit edildi. Muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen tüm gruplarda (kontrol, eugenol, thymol) koliform sayısı 37,13 EMS/g olarak belirlendi. Bu günde -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise koliform sayısı <0,3 – 37,13 EMS/g değerlerinde tespit edildi.

Kontrol grubu tereyağı örneklerinde, muhafazanın başlangıcında 38,30 EMS/g olarak saptanan koliform sayısı 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 30. günden itibaren (150. gün hariç) >110 EMS/g olarak saptandı. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu örneklerinde ise 10. muhafaza gününde <0,3 EMS/g düzeyinde bulunan koliform sayısı, 20 – 180. günlerde 74,06 - >110 EMS/g değerlerinde tespit edildi. Her iki sıcaklık derecesinde muhafaza edilen örneklerde kaydedilen değişiklikler istatistiki açıdan önemli görülmedi ($p>0,05$).

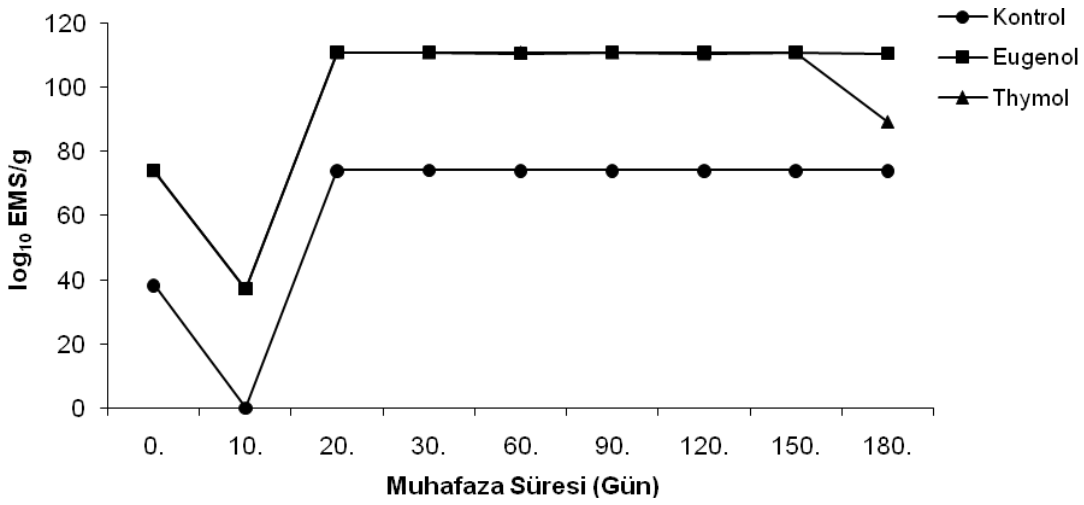
Eugenol ve thymol grubu tereyağlarının 4 ^{o}C'de muhafazasında muhafaza öncesinde 74,10 EMS/g düzeyinde belirlenen koliform sayısı, muhafazanın 30. gününden itibaren 180. muhafaza gününe kadar >110 EMS/g değerinde saptandı. Muhafazanın 180. gününde ise koliform sayısı, eugenol grubu için 110,66 EMS/g, thymol grubu için de 89,33 EMS/g olarak saptandı.

Her iki grubun -20 ^{o}C'deki muhafazasında, muhafaza süresince elde edilen değişimlerin önemli olmadığı belirlendi ($p>0,05$). Yine yapılan istatistiki analizlerde, gruplar arasında fark bulunamadı ($p>0,05$).

Tablo 10. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Koliform Bakteri Sayıları (EMS/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120. Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	38,30	37,13	74,06	>110	>110	>110	>110	>110	>110
	-20 °C		<0,3	74,06	74,12	74,06	74,06	74,06	74,06	74,06
EUGENOL	4 °C	74,10	37,13	74,06	>110	>110	>110	>110	>110	>110
	-20 °C		37,13	>110	>110	110,66	>110	>110	>110	110,66
THYMOL	4 °C	74,10	37,13	82	>110	>110	>110	>110	>110	>110
	-20 °C		37,13	>110	>110	>110	>110	110,66	>110	89,33

Şekil 16. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 17. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinin, muhafaza sırasında içermiş oldukları *Lactobacillus* spp. sayıları Tablo 11 ile Şekil 18 ve 19'da verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin muhafazası sırasında *Lactobacillus* spp. sayısı üzerine uygulanan üretim tekniğinin, muhafaza sıcaklığının ve süresinin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Bu 3 değişkenin 3'lü interaksiyonunda ise istatistiki bir fark elde edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 11 incelendiğinde, muhafazanın başlangıcında 6,0 – 6,52 $\log_{10}$ kob/g arasında olan *Lactobacillus* spp. sayısı, muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 6,47 – 6,72 $\log_{10}$ kob/g seviyesinde, -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise 4,5 – 4,82 $\log_{10}$ kob/g arasında bulundu.

Lactobacillus spp. sayısı, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu tereyağlarında 10. günde 6,66 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunurken, muhafazanın 180. gününe kadar bir azalma göstererek en düşük değer 180. günde (5,88 $\log_{10}$ kob/g) tespit edildi. Fakat bu azalma istatistiki olarak önemli görülmedi ($p>0,05$). Yine bu grupta -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde en düşük değer 4,82 $\log_{10}$ kob/g ile 10. günde elde edildi.

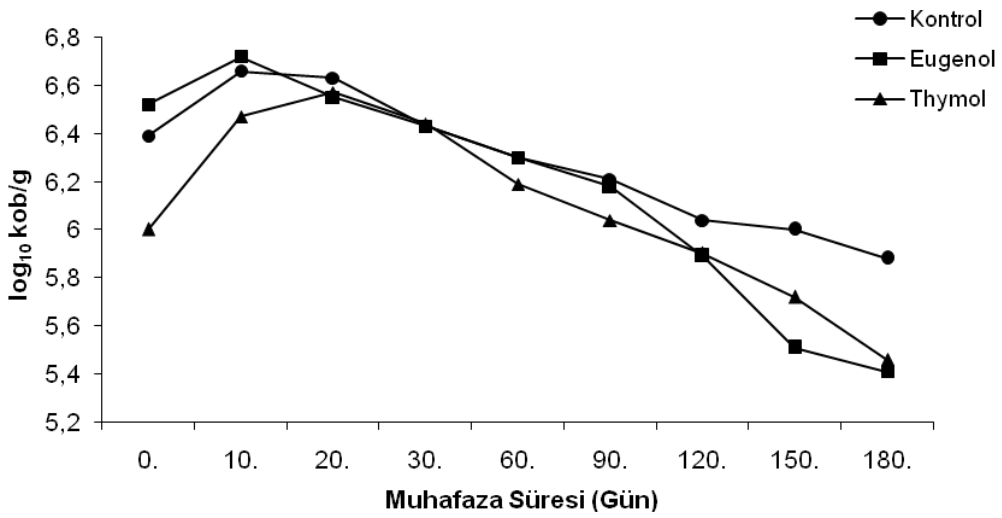
Eugenol grubu örneklerde, *Lactobacillus* spp. sayısı muhafaza öncesinde 6,52 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de 6,72 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunan *Lactobacillus* spp. sayısı sonraki muhafaza günlerinde azaldı ($p>0,05$). En düşük *Lactobacillus* spp. sayısı 180. günde (5,41 $\log_{10}$ kob/g) tespit edildi. -20 ^{o}C'de ise en düşük değer 60. günde (3,81 $\log_{10}$ kob/g) elde edildi. *Lactobacillus* spp. sayısı bakımından -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde istatistiki olarak önemli bir farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Thymol grubu örneklerde muhafaza öncesi *Lactobacillus* spp. sayısı 6,00 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C olan deneysel tereyağı örneklerinde, *Lactobacillus* spp. sayısı 30. güne kadar artış gösterdi. Bu günden sonra ise azalarak 180. günde 5,46 $\log_{10}$ kob/g değerine düştü ($p>0,05$). Muhafaza sıcaklığı -20 ^{o}C olan örneklerde ise bakteri sayısı bakımından muhafaza süresince dalgalı bir görünüm sergiledi. Muhafaza boyunca, en düşük değer 3,55 $\log_{10}$ kob/g ile 120. günde belirlendi.

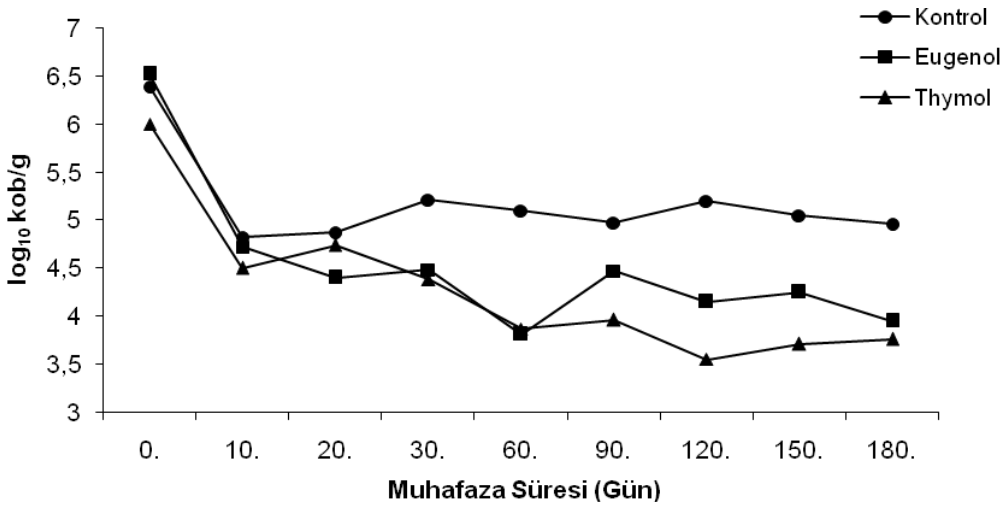
Deneysel tereyağı örneklerinde, *Lactobacillus* spp. sayısı bakımından tüm muhafaza süresince gruplar arasındaki farklılıklar önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Tablo 11. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen *Lactobacillus* spp. Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	6,39	6,66	6,63	6,43	6,30	6,21	6,04	6,00	5,88
	-20 °C		4,82	4,87	5,21	5,10	4,97	5,20	5,05	4,96
EUGENOL	4 °C	6,52	6,72	6,55	6,43	6,30	6,18	5,89	5,51	5,41
	-20 °C		4,72	4,40	4,48	3,81	4,47	4,15	4,25	3,95
THYMOL	4 °C	6,00	6,47	6,57	6,44	6,19	6,04	5,90	5,72	5,46
	-20 °C		4,50	4,74	4,38	3,87	3,96	3,55	3,71	3,76



Şekil 18. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında *Lactobacillus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 19. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında *Lactobacillus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.6. Laktik *Streptococcus* spp. Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinin, 180 gün muhafazası sırasında içermiş oldukları laktik *Streptococcus* spp. sayıları Tablo 12 ile meydana gelen değişimler Şekil 20 ve 21'de verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin laktik *Streptococcus* spp. sayıları üzerine uygulanan üretim tekniği, muhafaza sıcaklığı ve sürenin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$).

Tereyağı örneklerinde muhafaza öncesi tespit edilen laktik *Streptococcus* spp. sayıları 7,58 – 7,64 $\log_{10}$ kob/g arasında bulundu. Muhafazanın 10. gününde ise 4 ^{o}C'de bu değerler 7,75 – 8,04 $\log_{10}$ kob/g arasında saptandı.

Kontrol grubu örneklerin 4 ^{o}C'de muhafazası sırasında, laktik *Streptococcus* spp. sayılarında istatistiki olarak önemli bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Bu grupta muhafaza öncesinde 7,58 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlenen laktik *Streptococcus* spp. sayısı en yüksek değere 10. ve 30. günlerde 7,87 $\log_{10}$ kob/g ile ulaştı. Aynı grubun -20 ^{o}C'de muhafazasında ise 0. gündeki değer (7,58 $\log_{10}$ kob/g) ile 10. (6,05 $\log_{10}$ kob/g), 120. (6,17 $\log_{10}$ kob/g) ve 180. (5,99 $\log_{10}$ kob/g) gündeki değerler arasında önemli farklılıklar tespit edildi ($p<0,05$).

Eugenol grubu tereyağı örneklerinde, laktik *Streptococcus* spp. sayısı bakımından 4 ^{o}C'de muhafaza edilenlerde en yüksek değer 8,04 $\log_{10}$ kob/g ile 10. günde tespit edildi. Muhafaza süresince, laktik *Streptococcus* spp. sayısı bakımından elde edilen farklılıkların önemsiz olduğu görüldü ($p>0,05$). Aynı grubun -20 ^{o}C'deki örneklerinde ise, 0. gündeki değer ile diğer muhafaza günlerindeki değerler karşılaştırıldığında önemli farklılıkların olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Bu grupta en düşük değer ise 180. günde (4,92 $\log_{10}$ kob/g) saptandı.

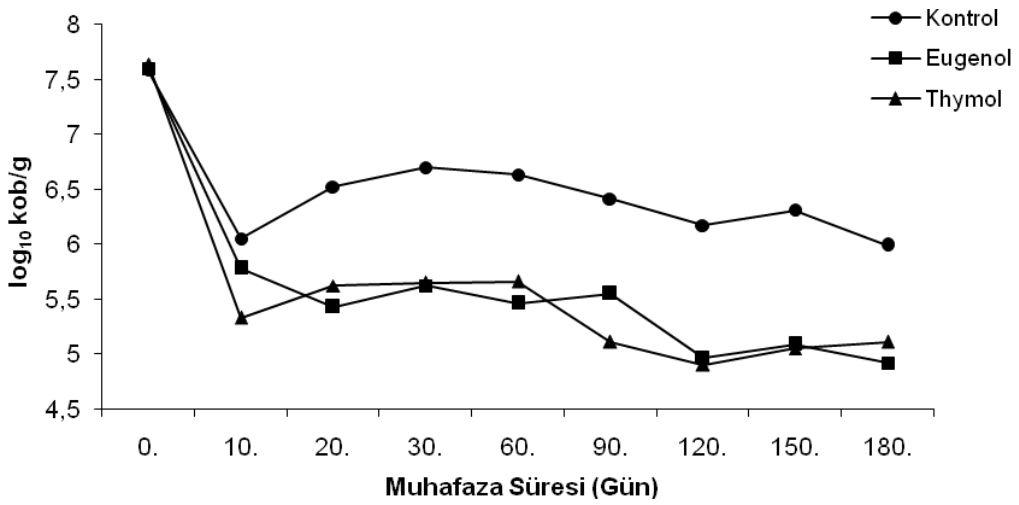
Thymol grubu tereyağı örneklerinde muhafaza öncesinde laktik *Streptococcus* spp. sayısı 7,64 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Bu grupta *Streptococcus* spp. sayısı bakımından 4 ^{o}C'de 180 gün boyunca önemli bir fark ortaya koyulamadı ($p>0,05$). Grubun en yüksek değeri 7,88 $\log_{10}$ kob/g ile 30. günde tespit edildi. Bu grupta -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise, muhafazanın başlangıcındaki (0.gün) bakteri sayısı ile ileri muhafaza günleri arasında önemli farklılıklar bulundu ($p<0,05$). Deneysel tereyağı örneklerinin, laktik *Streptococcus* spp. sayılarında gruplar arası farklılıklar önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Tablo 12. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Laktik *Streptococcus* spp. Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150. Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	7,58^{x}	7,87^{a,x}	7,75^{a,x}	7,87^{a,x}	7,79^{a,x}	7,76^{a,x}	7,85^{a,x}	7,76^{a,x}	7,81^{a,x}
	-20 °C		6,05^{b,y}	6,52^{ab,xy}	6,70^{ab,xy}	6,63^{ab,xy}	6,41^{b,xy}	6,17^{b,y}	6,31^{b,xy}	5,99^{b,y}
EUGENOL	4 °C	7,60^{x}	8,04^{a,x}	8,03^{a,x}	7,93^{a,x}	7,95^{a,x}	7,79^{a,x}	7,86^{a,x}	7,89^{a,x}	7,84^{a,x}
	-20 °C		5,78^{b,y}	5,43^{b,y}	5,62^{b,y}	5,46^{b,y}	5,55^{b,y}	4,97^{b,y}	5,09^{b,y}	4,92^{b,y}
THYMOL	4 °C	7,64^{x}	7,75^{a,x}	7,85^{a,x}	7,88^{a,x}	7,76^{a,x}	7,65^{a,x}	7,50^{a,x}	7,62^{a,x}	7,64^{a,x}
	-20 °C		5,33^{b,y}	5,62^{b,y}	5,65^{b,y}	5,66^{b,y}	5,11^{b,y}	4,90^{b,y}	5,05^{b,y}	5,11^{b,y}

a,b: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)
x,y: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)

Şekil 20. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Laktik *Streptococcus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 21. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Laktik *Streptococcus* spp. Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.2.7. Lipolitik Bakteri Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinin, muhafazası sırasında içermiş oldukları lipolitik bakteri sayıları Tablo 13 ile Şekil 22 ve 23'te verilmektedir.

Tereyağı örneklerinin muhafaza süresince lipolitik bakteri sayısı üzerine uygulanan üretim tekniğinin, muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi istatistiki olarak önemli bulundu ($p<0,05$).

Tablo 13 incelendiğinde, muhafazanın başlangıcında 7,46 – 7,59 $\log_{10}$ kob/g olan lipolitik bakteri sayısı, muhafazanın 10. gününde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 7,51 – 7,80 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulundu. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde ise 5,69 – 6,05 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi.

Lipolitik bakteri sayısı, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu tereyağlarında 10. günde 7,68 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Bundan sonraki muhafaza günlerinde dalgalanmalar gösterip 180. günde 7,67 $\log_{10}$ kob/g olarak saptandı. Bu dalgalanmalar istatistiki olarak önemsiz görüldü ($p>0.05$). Aynı grubun -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerinde ise, 0. gündeki bakteri sayısı (7,58 $\log_{10}$ kob/g) ile, 10. gündeki bakteri sayısı (5,84 $\log_{10}$ kob/g) arasında istatistiki farklılıklar tespit edildi ($p<0,05$). Gruba ait en düşük değer 150. günde 5,48 $\log_{10}$ kob/g ile elde edildi.

Eugenol grubu örneklerde, lipolitik bakteri sayısı muhafaza öncesinde 7,59 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Bu grupta, muhafaza edilen örneklerde en yüksek değer 4 ^{o}C'de 7,75 $\log_{10}$ kob/g ile 150. günde tespit edildi. Grubun 180 günlük 4 ^{o}C'de muhafazası sırasında belirlenen lipolitik bakteri sayıları arasında önemli bir değişim saptanamadı ($p>0,05$). Ancak, aynı gruba ait -20 ^{o}C'deki örneklerde muhafazanın başlangıcındaki bakteri sayısı ile diğer muhafaza günlerindeki

bakteri sayıları arasında farklılıklar tespit edildi ($p<0,05$). Bu grupta, en düşük değer 120. günde (4,39 $\log_{10}$ kob/g) elde edildi.

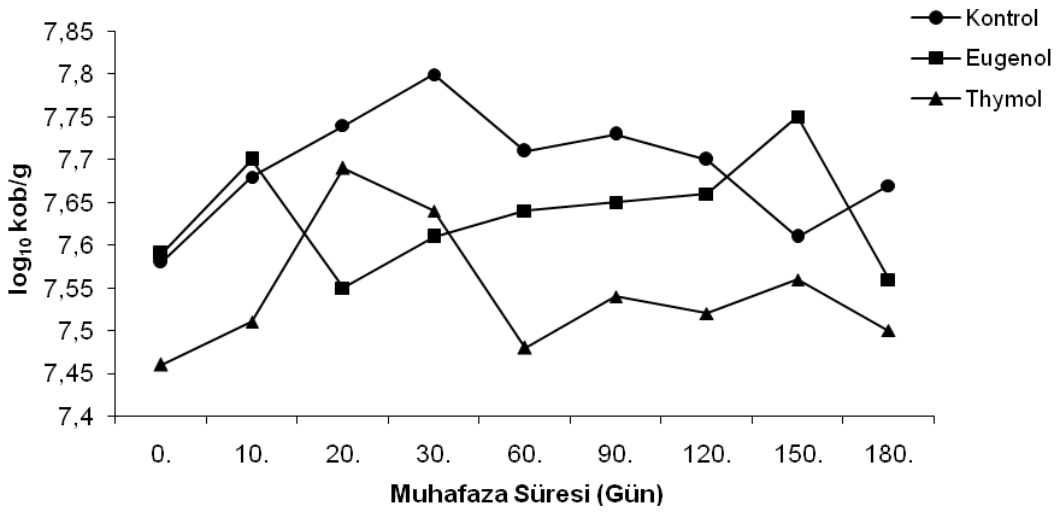
Thymol grubu tereyağlarında, muhafaza öncesinde lipolitik bakteri sayısı 7,46 $\log_{10}$ kob/g olarak belirlendi. Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C olan örneklerde tespit edilen bakteri sayıları arasında önemli bir fark görülmezken ($p>0,05$), grubun en yüksek değeri 7,69 $\log_{10}$ kob/g ile 20. günde tespit edildi. -20 ^{o}C'de tutulan thymol grubu tereyağı örneklerinde ise, muhafaza öncesindeki lipolitik bakteri sayısı ile diğer muhafaza günlerinde belirlenen sayı karşılaştırıldığında, istatistiki açıdan bakteri sayısında önemli bir azalma görüldü ($p<0,05$). Grupta en düşük lipolitik bakteri sayısı 4,14 $\log_{10}$ kob/g ile 180. günde saptandı.

Tablo 13'te gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde istatistiki olarak fark görülmezken, -20 ^{o}C'deki örneklerde sadece 120. günde gruplar arasında fark görüldü ($p<0,05$).

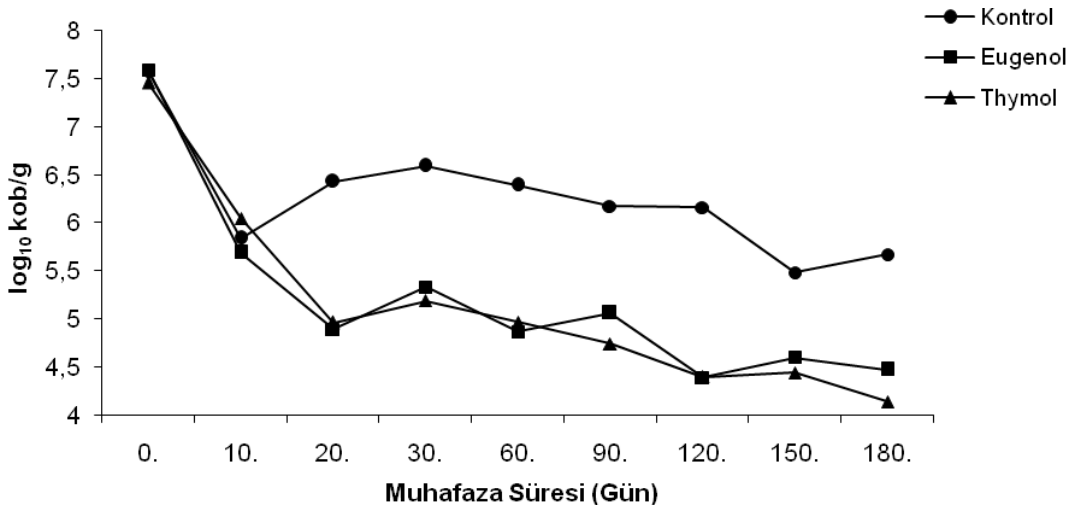
Tablo 13. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Lipolitik Bakteri Sayıları (log_{10} kob/g)

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	$7,58^{x}$	$7,68^{a,x}$	$7,74^{a,x}$	$7,80^{a,x}$	$7,71^{a,x}$	$7,73^{a,x}$	$7,70^{a,x}$	$7,61^{a,x}$	$7,67^{a,x}$
	-20 °C		$5,84^{b,y}$	$6,43^{ab,xy}$	$6,59^{ab,xy}$	$6,39^{ab,xy}$	$6,17^{b,xy}$	$6,16^{a,xy}$	$5,48^{b,y}$	$5,67^{b,y}$
EUGENOL	4 °C	$7,59^{x}$	$7,70^{a,x}$	$7,55^{a,x}$	$7,61^{a,x}$	$7,64^{a,x}$	$7,65^{a,x}$	$7,66^{a,x}$	$7,75^{a,x}$	$7,56^{a,x}$
	-20 °C		$5,69^{b,y}$	$4,89^{b,y}$	$5,33^{b,y}$	$4,87^{b,y}$	$5,06^{b,y}$	$4,39^{bc,y}$	$4,60^{b,y}$	$4,47^{b,y}$
THYMOL	4 °C	$7,46^{x}$	$7,51^{ab,x}$	$7,69^{a,x}$	$7,64^{a,x}$	$7,48^{a,x}$	$7,54^{a,x}$	$7,52^{a,x}$	$7,56^{a,x}$	$7,50^{a,x}$
	-20 °C		$6,05^{b,xy}$	$4,96^{b,y}$	$5,19^{b,y}$	$4,97^{b,y}$	$4,74^{b,y}$	$4,40^{c,y}$	$4,44^{b,y}$	$4,14^{b,y}$

a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)
x,y: Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$)



Şekil 22. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Lipolitik Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 23. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Lipolitik Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.3. Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

5.1.3.1. Görünüm

Deneysel tereyağı örneklerinde, gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önem arzetmediği tespit edildi ($p>0,05$).

5.1.3.2. Kıvam

Kıvam puanları açısından yapılan istatistiksel değerlendirmede, deneysel tereyağı örneklerinin hiçbir grubunda fark tespit edilemedi ($p>0,05$).

5.1.3.3. Lezzet

Deneysel tereyağı örneklerinde tespit edilen lezzet puanları Tablo 14 ile Şekil 24 ve 25'te verilmektedir.

Muhafaza süresince örneklerin lezzet puanları üzerine uygulanan üretim tekniğinin ana etkisi önemli ($p<0,05$), muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi önemsiz bulundu ($p>0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark elde edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 14 incelendiğinde, muhafaza öncesi (0. gün) lezzet puanları 14,20 ile 15,00 arasında değişim gösterirken, bu değer 10. muhafaza gününde 4 ^{o}C'de 14,40 ile 15,00 olarak bulundu.

Kontrol grubu örneklerde muhafaza öncesi lezzet puanları 15,00 olarak tespit edildi. 4 ^{o}C'de muhafaza süresince, 180. gün hariç diğer muhafaza günlerinde tam puanlı değerlendirme saptandı. -20 ^{o}C'deki kontrol grubu örneklerde ise muhafaza süresince lezzet puanları değişken bir tablo izledi. Gruba ait en düşük değer 14,65 ile 10. günde elde edildi. Her iki sıcaklık derecesinde muhafaza edilen kontrol grubu örneklerin, muhafaza günleri bakımından istatistiksel değerlendirmesinde önemli farklılıklar bulunamadı ($p>0,05$).

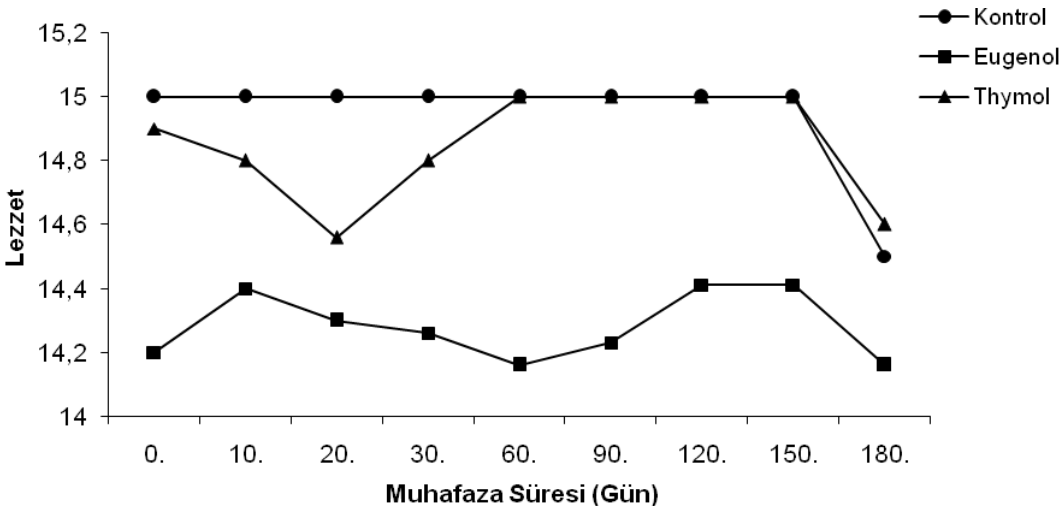
Eugenol grubu tereyağı örneklerinde muhafaza öncesinde 14,20 olarak saptanan lezzet puanları, 4 ^{o}C'de muhafazada değişken bir tablo sergileyerek 180. günde 14,16 seviyesine geriledi. Ancak bu düşüş istatistiki olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$). Muhafaza sıcaklığı -20 ^{o}C olan örneklerde ise 180. muhafaza günündeki lezzet puanı 14,83 olarak kaydedildi. Grubun en yüksek lezzet puanı 14,90 ile 20. günde belirlendi.

Thymol grubu örneklerde, muhafaza öncesi 4 ^{o}C'de 14,90 olarak saptanan lezzet puanları zamana bağlı olarak artış ve azalışlar göstererek 180. günde 14,60 seviyesine düştü. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen thymol grubu tereyağı örneklerinin en düşük değeri 14,46 lezzet puanı ile 20. günde kaydedildi. Grubun her iki sıcaklık derecesinde muhafaza edilen örneklerdeki lezzet puanları karşılaştırıldığında istatistiki bir fark kaydedilemedi ($p>0,05$).

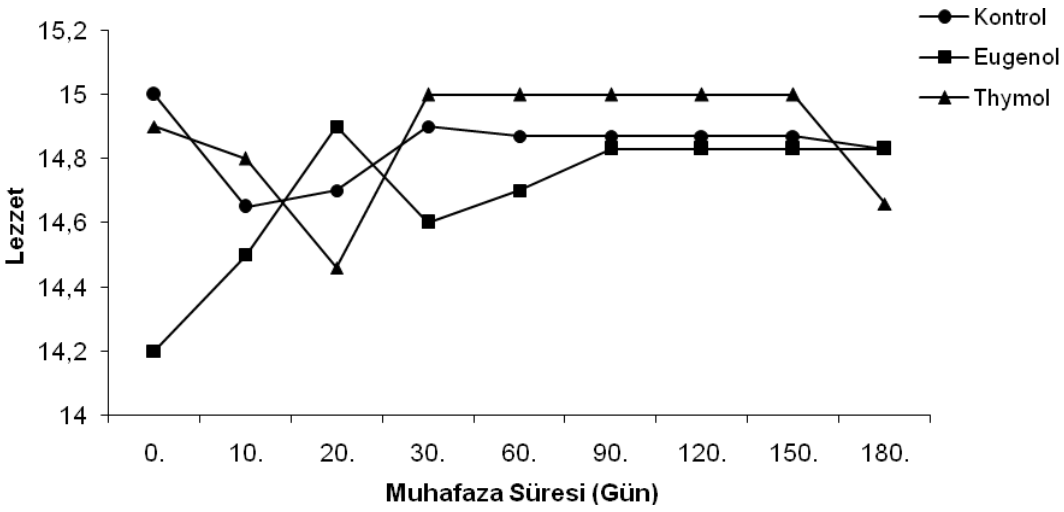
Örneklerin lezzet puanlarında, gruplar arasında farklılık saptanamadı ($p>0,05$). Gruplar arasında 14,16 lezzet puanı ile en düşük değeri 60. ve 180. günlerde eugenol uygulanan grup aldı.

Tablo 14. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Lezzet Puanları

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	14,50
	-20 °C		14,65	14,70	14,90	14,87	14,87	14,87	14,87	14,83
EUGENOL	4 °C	14,20	14,40	14,30	14,26	14,16	14,23	14,41	14,41	14,16
	-20 °C		14,50	14,90	14,60	14,70	14,83	14,83	14,83	14,83
THYMOL	4 °C	14,90	14,80	14,56	14,80	15,00	15,00	15,00	15,00	14,60
	-20 °C		14,80	14,46	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	14,66



Şekil 24. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Lezzet Puanlarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 25. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Lezzet Puanlarında Meydana Gelen Değişimler

5.1.3.4. Koku

Deneysel tereyağı örneklerinde tespit edilen koku puanları Tablo 15 ile Şekil 26 ve 27'de gösterilmektedir.

Muhafaza süresince örneklerin koku puanları üzerine uygulanan üretim tekniğinin, muhafaza sıcaklığının ve sürenin ana etkisi önemli bulundu ($p<0,05$). 3'lü interaksiyonda ise istatistiki bir fark elde edilemedi ($p>0,05$).

Deneysel tereyağı örneklerinin koku puanları, muhafazanın başlangıcında 4,9 ile 5 arasında tespit edildi.

Tablo 15 incelendiğinde, muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C olan kontrol grubu örneklerde180.gün hariç tutulursa, diğer tüm muhafaza günlerinde 5 tam puan verildiği görülmektedir. -20 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu örneklerinde ise tüm muhafaza günleri için 5 tam puan verilmiştir. Grubun her iki sıcaklık derecesi için de, tam puan alan ve alamayan muhafaza günleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Eugenol grubu örneklerde ise muhafaza öncesinde 4,90 olan koku puanı 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresince istatistiksel olarak önemli olmayan artış ve azalışlar görüldü ($p>0,05$). -20 ^{o}C'deki örneklerde ise 10. muhafaza gününden sonra koku bakımından tam puan elde edildi.

Thymol grubu tereyağı örneklerinin koku puanları muhafaza öncesinde 5 tam puan olarak kaydedilirken, 4 ^{o}C'de muhafaza sonunda 180. gündeki koku puanı 4,83 olarak saptandı. Yine, -20 ^{o}C'deki thymol grubu örneklerinde saptanan en düşük koku puanı 4,83 ile 180. günde kaydedildi. Her iki sıcaklık derecesi içinde muhafaza günleri açısından istatistiksel farklılık bulunamadı ($p>0,05$).

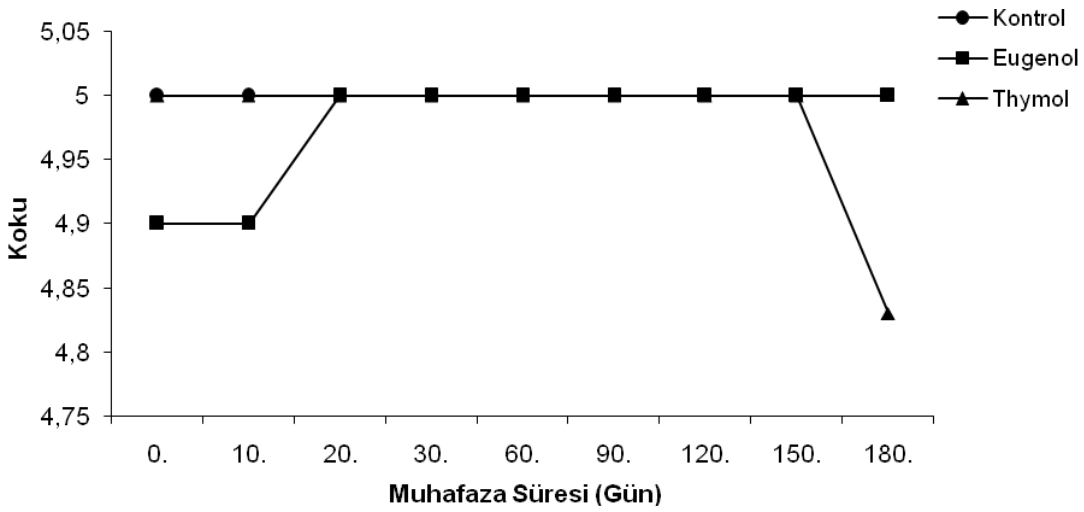
Çalışmada kullanılan tereyağı örneklerinde, koku açısından, gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, istatistiksel bir farklılık kaydedilmedi

($p>0,05$). En düşük koku puanı 4,46 ile 20. günde 4 ^{o}C'de muhafaza edilen eugenol grubunda saptandı.

Tablo 15. Tereyağı Örneklerinin Muhafazası Sırasında Tespit Edilen Koku Puanları

GRUPLAR	MUHAFAZA SICAKLIĞI	MUHAFAZA SÜRESİ								
		Muhafaza Öncesi	10. Gün	20. Gün	30. Gün	60. Gün	90.Gün	120.Gün	150.Gün	180.Gün
KONTROL	4 °C	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,49
	-20 °C		5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
EUGENOL	4 °C	4,90	4,80	4,46	4,50	4,77	4,90	4,87	4,63	4,73
	-20 °C		4,90	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
THYMOL	4 °C	5,00	4,90	4,83	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,83
	-20 °C		5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,83

Şekil 26. Tereyağı Örneklerinin 4 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Koku Puanlarında Meydana Gelen Değişimler



Şekil 27. Tereyağı Örneklerinin -20 ^{o}C'de Muhafazası Sırasında Koku Puanlarında Meydana Gelen Değişimler

6. TARTIŞMA

Bu araştırmada, kontrol grubu ile birlikte eugenol ve thymol ilavesiyle deneysel olarak üretilen ve farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen tereyağlarının, muhafaza süresince kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal niteliklerinde meydana gelen değişimler incelendi.

Üretilen tereyağı örnekleri muhafaza öncesi (0. gün) ve muhafaza süresince kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal açıdan analize tabi tutuldu.

6.1. Deneysel Tereyağı Örneklerinin Muhafaza Öncesi ve Muhafazası Sırasında Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

6.1.1. Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

6.1.1.1. pH Değerleri

Tereyağı gruplarının pH değerleri muhafaza öncesi 6,44 – 6,49 arasında değişim gösterdi. Muhafaza sıcaklığı 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C olan tereyağı örneklerinde gruplar arasında pH değerlerindeki farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 3 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 (7, 63). pH alt sınıra (4,7) yaklaştıkça oksidasyon olaylarının, üst sınıra (5,0) yaklaştıkça proteolitik olayların hız kazandığı bildirilmektedir (63). Dolayısıyla, 180 günlük muhafaza süresinde deneysel tereyağı örneklerinde proteolitik parçalanmanın meydana geldiği söylenebilir (74). -20 ^{o}C'deki muhafazada pH değerlerinde önemli

derecede bir azalmanın olmadığı ve örneklerin pH değerlerinin birbirine çok yakın olduğu bildirilmektedir.

Bazı araştırmacılar, -15 ^{o}C'de 20 ay muhafaza ettikleri tereyağlarında, başlangıç pH'sı 4,7'den düşük olan örneklerin, başlangıç pH'sı yüksek olan tereyağı örneklerine göre daha hızlı bozulduklarını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar pH'sı 4,85 – 5,05 arasında olan tereyağlarını ise, 14 ay süreyle daha iyi kalitede olduklarını bildirmişlerdir (74).

Bu çalışmada, eugenol ve thymol grupları ile kontrol grupları 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 (74), da pH değerleri açısından gruplar arasında fark tespit edilemediği bildirilmektedir.

Muhafaza sıcaklığı göz önüne alındığında, -20 ^{o}C'deki muhafaza edilen örneklerin pH değerleri, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklere göre biraz daha yüksek bulunmuştur.

Konu ile ilgili olarak çeşitli baharat ekstraktlarının tereyağına katıldığı bir çalışmada (15), baharat ekstraktlarının pH değerlerinde önemli değişmelere neden olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada ise, ilave edilen ekstraktların bir kısmı tereyağında pH'nın azalmasına neden olurken, bir kısmı etkisiz bulundu. Genel olarak baharat ekstraktı ilaveli tereyağlarında belirlenen pH değerleri, kontrol grubundan daha düşük çıktı. Bu farklılığın, tereyağına ilave edilen maddelerin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Bir diğer çalışmada (71), 3 farklı konsantrasyonda (%0,5, %1, %2) *Satureja cilicica* ilave edilerek üretilen tereyağı örnekleri ve 4 ^{o}C ile 20 ^{o}C'de 60

gün muhafaza edilmiştir. Buna göre, muhafazanın başında pH 6,37 değerinde ölçülürken, ilerleyen muhafaza günlerinde doza bağlı olarak 20 ^{o}C'deki örneklerdeki pH değerlerinin (4,49, 4,51 ve 4,72), 4 ^{o}C'dekilere (4,83, 4,90 ve 4,98) göre daha fazla düştüğü görülmüştür. Bu düşüşün nedeni, yüksek muhafaza sıcaklığına bağlanabilir.

Mahalli köy pazarlarından toplanan yayık tereyağlarında, serum pH'larının (yağ fazı ayrıldıktan sonra kalan serum fazından ölçüm) incelendiği bir çalışmada (13), pH değeri 3,63 – 4,71 arasında tespit edilmiştir. Bu sonuç, pH değerleri ile ilgili elde ettiğimiz değerlerden oldukça düşüktür. Bu farklılık adı geçen çalışmanın piyasa taraması şeklinde olmasıyla açıklanabilir.

Yapılan çalışmalarda analiz edilen tereyağı örneklerindeki pH değerleri arasındaki farklılıklar; hammaddenin kalitesi, kremanın olgunlaşma durumu, uygulanan teknolojik işlemler ve muhafaza şartları gibi pek çok faktöre bağlıdır. Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) ise, kahvaltılık tereyağları için pH değerleri ile ilgili bir sınırlama bulunmamaktadır (74).

6.1.1.2. Serbest Yağ Asitleri Değeri

Deneysel tereyağı örneklerinde muhafaza öncesi asit değerleri 1,26 – 1,52 mg KOH/g değerinde saptandı.

Çalışmada kullanılan tereyağı örneklerinde, serbest yağ asitliği değeri açısından, gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde muhafazanın ilk günlerinde farklılık tespit edilmezken ($p>0,05$), 150. ve 180. günlerde farklılıklar saptandı ($p<0,05$). -20 ^{o}C'de muhafaza edilenlerde ise istatistiki bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

-20 ^{o}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 4). Bu durum, -20 ^{o}C'nin birçok mikroorganizmanın gelişimini durdurucu ve kimyasal reaksiyonları yavaşlatıcı etkisiyle açıklanabilir.

Atamer ve Kaptan (10), süt yağı asit değerinin 1,38 – 1,40 mg KOH/g' a ulaştığında ransit tadın hissedildiğini belirtmişlerdir. Konuyla ilgili olarak yapılan diğer bazı çalışmalarda (7,11), 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. (13), asit değerinin 1,91 mg KOH/g yağ seviyesine ulaştığı örneklerde, herhangi bir tat-aroma bozukluğunun panelistlerce algılanmadığını açıklamışlardır. Bu sonuçların ışığında, -20 ^{o}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, acılaşma sınırına gelmemiştir.

Tablo 4 incelendiğinde, 150. muhafaza gününde sadece kontrol grubu tereyağlarında sıcaklıklar arası (4 ^{o}C ve -20^{o}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, %0,5, %1 ve %2 oranında esansiyel yağ ilave edilmiş tereyağlarının raf ömrünün incelendiği bir çalışmada (71), muhafaza süresince

esansiyel yağ ilave edilen örneklerde titre edilebilir asidite miktarları kontrol grubuna göre daha az bulunmuştur. Araştırmada, kontrol grubu örneklerin titre edilebilir asidite değeri, muhafaza süresince artış göstermiştir. Benzer şekilde % laktik asit değeri 20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde 5 ^{o}C'de muhafaza edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Yine, konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (15), tereyağlarının sahip oldukları serbest yağ asitleri miktarları üzerine, ilave edilen baharat ekstraktlarının önemli etkileri olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak 5 ^{o}C'de muhafaza edilen ekstrakt ilaveli örneklerde serbest yağ asitleri miktarları kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Araştırmada, % 0,5 mercanköşk, tarçın, sumak, kekik, kimyon ve biberiye esktraktı ilaveli tereyağlarında belirlenen serbest yağ asitleri miktarları, sorbik asit ilaveli örneklerden daha düşük saptanmıştır. Ayrıca, 25 ^{o}C'de ekstrakt ilaveli örneklerde serbest yağ asitleri değerleri daha yüksek çıkmıştır. Yani 25 ^{o}C'de baharat ekstraktları mikroorganizma ve enzim aktivitesini engellemede 5 ^{o}C'deki kadar etkili olamamıştır.

Yapılan bir çalışmada (17), tereyağının kültür çeşidi, kültür düzeyi ve muhafaza süresi bakımından titrasyon asitliği (%laktik asit) ve serbest yağ asitleri miktarı (mg KOH/g) incelenmiştir. Sonuçta kullanılan kültür kombinasyonlarının titrasyon asitliği ve serbest yağ asitleri miktarlarını $p<0,05$ düzeyinde etkilediği buna karşın, kültür düzeylerinin sadece titrasyon asitliği üzerinde $p<0,05$ oranında etkili olduğu saptanmıştır. Yine yapılan analizler sonucunda muhafaza süresinin hem titrasyon asitliği, hem de serbest yağ asitleri miktarlarını $p<0,01$ düzeyinde etkilediği tespit edilmiştir. Bu sonuç, çalışmamızda, tereyağı örneklerinin

kültürsüz olarak üretilmesi nedeniyle sadece muhafaza süresiyle ilgili bulduğumuz verilere benzer olduğu söylenebilir.

Atamer (7), tereyağı örneklerinin serbest yağ asitleri miktarını 0,76 – 13,92 mg KOH/g yağ arasında bulmuştur. Hayaloğlu ve Konar (47) 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 çözünebilen düşük moleküllü yağ asitlerinin miktarı üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (13).

Farklı üretim parametrelerinin (yayıklama pH'sı ve yağ oranı) bazı kalite özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (86), 60 günlük muhafaza süresince ortalama asit değeri yayık tereyağlarında 1,07 mg KOH/g yağ, krema tereyağlarında ise 1,44 mg KOH/g yağ olarak belirlenmiştir.

Tereyağı Standardı'nda, serbest yağ asidi değeri ile ilgili bir sınırlandırma getirilmemiştir.

Çeşitli tereyağı örneklerinin asit değerlerindeki bu farklılıklar, tereyağının elde edildiği hammaddenin nitelikleri başta olmak üzere, kremanın pastörize edilip edilmediği, tereyağı üretim tekniği, kültür ilave edilip edilmediği, tereyağının bileşimi, serbest yağ asidi içeriği, tuz miktarı, muhafaza şartları vb. pek çok sebepten kaynaklanmış olabilir.

6.1.1.3. Peroksit Sayısı

Genelde tereyağlarında lipit oksidasyonun derecesini belirlemede, peroksit değeri ve tiyobarbitürik asit testinden (TBA) yararlanılmaktadır. Ancak, oksidatif bozulmanın başlangıç aşamasında oluşan hidroperoksitlerin miktarını veren peroksit değeri daha yaygın kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalarda (12), gerek krema gerekse yayık tereyağlarında belirlenen peroksit değerleri, hammadde olarak yararlanılan krema ve yoğurtlardan daha düşük bulunmuştur. Bu durum, lipit oksidasyonu sonucu oluşan parçalanma ürünlerinin (hidroperoksitler, karboniller, aldehitler, ketonlar) suda çözünebilme özelliğine sahip olduklarından dolayı, tereyağı üretiminde yayık altının ayrılmasıyla anılan ürünlerin bir bölümü ortamdan uzaklaşmış olabilir şeklinde yorumlanabilir.

Bu araştırmada, deneysel tereyağı örneklerinin hiçbir grubunda peroksit sayısı tespit edilememiştir. Bu durumda, incelenen örneklerde yeterli düzeyde hidroperoksitlerin oluşmadığı sonucuna varılabilir. Benzer olarak piyasa taraması şeklinde yapılan bir çalışmada (78), 20 adet yayık tereyağı örneğinde peroksit sayısı tespit edilememiştir. Yine, Sağdıç ve ark. (79)'da inek, koyun ve keçi sütlerinden elde edilen yayık tereyağlarında peroksit değerini tespit edilebilir limitin altında bulmuşlardır.

6.1.1.4. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı

Tiyobarbitürik asit testi, lipit oksidasyonunu belirlemek için sıklıkla kullanılan testlerden biridir. Test, iki molekül tiyobarbitürik asit (TBA) ile malonaldehitin reaksiyona girip, iki molekül su ve TBA kromojen denilen kırmızı

pigmentli bir maddenin oluşumuna ve bu maddenin de kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (68).

Konu ile ilgili olarak tereyağlarına α- tokoferol, BHA ve BHT katılarak raf ömrünün incelendiği bir çalışmada (74), TBA değerleri başlangıçta 0,125 – 0,127 mg malonaldehit/kg olarak belirlenirken, 180 günlük muhafaza süresi sonunda antioksidan katkılı örneklerde en yüksek 0,480 mg malonaldehit/kg, kontrol grubu örneklerde ise 0,540 mg malonaldehit/kg bulunmuştur. Çalışmada, en düşük TBA sayısı 0,212 mg malonaldehit/kg ile -20 ^{o}C'de muhafaza edilen ve 100 ppm BHA katkılı olan örnekte, en yüksek TBA sayısı ise 0,540 mg malonaldehit/kg ile 4 ^{o}C'de muhafaza edilen kontrol grubu tereyağı örneğinde tespit edilmiştir. Aynı araştırmada, muhafaza sıcaklığının etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Adı geçen araştırmada elde edilen veriler (0,125 – 0,540 mg malonaldehit/kg), bizim bulduğumuz verilerden (0,046 – 0,270 mg malonaldehit/kg) oldukça farklıdır. Bu durum, farklı hammadde ile ilave edilen maddelerin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Antioksidan kullanılmadan yapılan bir çalışmada, TBA sayısı bakımından en iyi sonucun pastörize edilmiş kremadan yapılan ve tuzlanmayan tereyağında elde edildiği bildirilmiştir. Adı geçen çalışmada -20 ^{o}C'de muhafaza edilen tereyağı örneklerinde TBA sayısı 0,303 – 0,622 mg malonaldehit/kg, 5 ^{o}C'de muhafaza edilenlerde ise 0,303 – 0,676 mg malonaldehit/kg arasında tespit edilmiştir (74).

Yapılan bir diğer çalışmada (15), baharat ekstraktlarıyla üretilen tereyağı örneklerinde, TBA değerlerinin muhafaza sıcaklığı, kullanılan baharat ekstraktı çeşidine ve miktarına göre önemli farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Genel

olarak 25 ^{o}C'de muhafaza edilen tereyağlarının TBA değerleri daha yüksek çıkmıştır. Baharat katkılı örneklerde en düşük TBA değeri kimyon, zencefil ve adaçayı ekstraktı ilaveli örneklerde tespit edilmiştir. Bu örneklerde belirlenen TBA değerleri BHA ilaveli kontrol örneği ile benzerlik göstermiştir. Ancak, kontrole göre, değerler önemli oranda düşük çıkmıştır. Adaçayı 5 ^{o}C'de yüksek etki gösterirken, bu etki 25 ^{o}C'de görülmemiştir. Benzer etki kekikde de görülmüştür. Adı geçen araştırma bulguları ile bu araştırmada elde edilen bulgular arasındaki uyumsuzluk, muhtemelen hammadde farklılığı ve ilave edilen maddelerin miktarıyla ilgilidir.

Bir başka çalışmada (72), pastörize edilmemiş sütten yapılan tereyağlarında TBA değeri 60 ^{o}C'de 15 gün muhafaza edilen örneklerde 0,22'den 1,96 mg malonaldehit/kg yağa, pastörize edilenlerde ise 0,13'ten 1,98 mg malonaldehit/kg yağa yükseldiği bildirilmektedir. Adı geçen çalışmadaki TBA değerindeki bu hızlı artışın muhafaza sıcaklığı ile yakından ilişkili olduğu söylenebilir.

Farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktının tereyağına katılıp, örneklerin 5 ^{o}C ve 25 ^{o}C'de muhafaza edilerek TBA değerinin 8, 10 ve 12. haftada ölçüldüğü bir çalışmada (70), esktrakt ilaveli örneklerin TBA sayıları kontrol grubu örneklerden, 5 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerin TBA sayıları 25 ^{o}C'de muhafaza edilenlerden daha düşük bulunmuştur. Araştırmada % 0,05 konsantrasyonundaki propolisin, % 0,02 konsantrasyondaki BHA kadar etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, bizim bulgularımızla uyuşmamaktadır. Bulguların uyumsuzluğu, farklı muhafaza sıcaklığına ve ilave edilen farklı maddelere bağlı olabilir.

Çeşitli araştırmacılar, biberiye esktraktı katılan örneklerdeki TBA sayısının, kontrol grubu örneklere göre daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Farag ve ark. (43), tarafından da çeşitli esansiyel yağların antioksidatif etkilerinin bulunduğu doğrulanmıştır. Ayrıca, Shahidi ve ark. (82)'de biberiye, karanfil, adaçayı ve kekiğin TBA değeri üzerinde inhibitör etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Değişik tereyağlarında, TBA sayıları ile ilgili olarak elde edilen bu farklılık, hammadde ve uygulanan farklı teknolojik işlemlere bağlı olabileceği gibi, kullanılan antioksidanların TBA değerini yükseltmeme etkisinden de kaynaklanmış olabilir (74).

6.1.1.5. Diasetil Değeri

Diasetil, tereyağı ve yayıkaltı ürünlerde tat-aromanın oluşmasında son derece önemli bir maddedir. Bu madde, *L. lactis* spp. *diacetylactis, L. citrovorum* ve *L. dextranicum* gibi kültürler tarafından sitrik asit metabolizması sonucunda oluşturulur. Bazı koşullarda laktozun parçalanması da önemli bir kaynak olabilmektedir. Hem sitrat, hemde laktoz metabolizması sonucunda oluşan pirüvat, diasetil ve asetoin oluşumunda anahtar bir bileşiktir. Bununla birlikte ortamda sitrat bulunmadığında diasetil biyosentezi meydana gelmemektedir. Sitrat, hücre içine sitrat parmeaz enzimi ile girdikten sonra sitrat liyaz enzimi ile pirüvat, asetat ve CO_2'e dönüşür. Pirüvat, pirüvat dekarboksilaz enzimi ile asetaldehit'e o da diasetil sentetaz ile diasetil'e dönüşmektedir. Tereyağında *S. lactis* ssp. *diacetylactis* ve *Leu. cremoris* diasetil üretiminden sorumlu olan kültürlerdir (86). Ancak diasetil redüktazın ortamda bulunması halinde diasetil miktarı azalır. Bu da arzu edilen aromanın azalmasına neden olur. Diasetil

redüktaz starter kültürlerin bünyesinde bulunmakla birlikte en fazla psiktrotrofik bakterilerde görülmektedir (18).

Bu araştırmada, deneysel tereyağı örneklerinde muhafaza öncesi diasetil miktarı 17,07 – 62,41 ppm düzeyinde tespit edildi.

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada (86), farklı düzeyde pH miktarı ve % yağ oranına sahip yoğurtlardan yapılan yayık tereyağı ile kremadan yapılan tereyağı incelenmiş ve 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, diasetil miktarı 22 adet yayık tereyağından 7'sinde 6,90 – 76,47 ppm arasında bulunmuştur. Diğer 15 örnekte ise iz miktarda tespit edilmiştir (86). Bu sonuç, bizim saptadığımız değerlerden düşüktür.

Bakırcı ve ark. (18), krema tereyağlarında karekteristik tat ve aromanın oluşması için diasetil miktarının 1-2 ppm düzeyinde olması gerektiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, farklı starter kültür ve farklı muhafaza sıcaklıklarının diasetil miktarı üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında, kullanılan kültür çeşidinin, muhafaza sıcaklığının ve muhafaza süresinin diasetil miktarı üzerine etkisini istatistiki olarak önemli bulmuşlardır ($p<0,01$). Bu sonuç, deneysel tereyağı örneklerimizde tespit ettiğimiz diasetil miktarlarından farklıdır. Bu durum, üretimde kültür kullanılmasına, farklı krema ve üretim tekniği ile, farklı muhafaza sıcaklıklarına, ayrıca antioksidan madde kullanımı gibi pek çok faktöre bağlıdır.

6.1.2. Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

6.1.2.1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı

Tereyağının mikrobiyel yükü üzerine, birinci derecede tereyağının kalitesi, muhafaza sıcaklığı ile, ambalaj materyali, kullanılan tuz, kültür ve baharat gibi katkıların etkili olduğu bildirilmektedir (15).

Bu araştırmada, deneysel tereyağı örneklerinde, toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı, muhafazanın başlangıcında (0. gün) 7,42 – 7,57 $\log_{10}$ kob/g arasında değişim gösterdi.

Tablo 7 incelendiğinde, terpen ilaveli tereyağı örneklerinin 4 ^{o}C ve -20 ^{o}C'de muhafazası arasında istatistiki açıdan farklılıkların olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Kontrol grubu örneklerde ise, bu farklılık 10., 150. ve 180. günlerde tespit edildi ($p<0,05$).

Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (58), geleneksel tereyağı ile doymamış yağ asitleri ve konjuge linoleik asit yönünden zenginleştirilmiş tereyağlarının 6 ^{o}C'de 6 hafta muhafazasında, toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısının geleneksel yöntemle üretilen tereyağlarında başlangıçta $2,8x10^2$ kob/g olduğu, bu sayının muhafaza sonunda $5,3x10^2$ kob/g'a ulaştığı tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitleri ve konjuge linoleik asit yönünden zenginleştirilmiş tereyağlarında ise, başlangıçta toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı $2,6x10^2$ kob/g iken, 6 hafta sonra $6x10^3$ kob/g olarak sayılmıştır. Adı geçen araştırmada, genel canlı sayısındaki bu artışın, muhafaza süresince doymamış yağ asitleri ile konjuge linoleik asit yönünden zenginleştirilmiş tereyağlarında meydana gelen nem artışından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Aynı araştırmada, geleneksel tereyağının nem miktarında bir miktar

düşüş kaydedilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada (15), % 0,2- 0,5 oranında adaçayı, tarçın, karanfil, kekik, sumak, biberiye, kimyon, zencefil ve yabani mercanköşk baharatları ilave edilerek üretilen tereyağı örnekleri, 5 ^{o}C ve 25 ^{o}C'de muhafaza edilmiş ve örneklerdeki toplam bakteri sayısının 25 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde (% 0,2 için 4,73 – 5,90 $\log_{10}$ kob/g, % 0,5 için 4,41 – 6,25 $\log_{10}$ kob/g) 5 ^{o}C'dekine (% 0,2 için 4,98 – 5,53 $\log_{10}$ kob/g, % 0,5 için 4,00 – 5,13 $\log_{10}$ kob/g) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmada, baharat esktraktları ilave edilen tereyağı örneklerinin, herhangi bir madde ilave edilmemiş kontrol grubu tereyağlarına (5 ^{o}C için 5,28 $\log_{10}$ kob/g, 25 ^{o}C için 5,57 $\log_{10}$ kob/g) göre daha az oranda toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı içerdiği belirlenmiştir. Yani, ilave edilen esktraktlar bakteriler üzerine antimikrobiyel etki göstermiştir. Bu etki, en yüksek biberiye, zencefil, karanfil, kimyon ve sumak ilaveli tereyağlarında görülmüştür. Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı göz önüne alındığında adı geçen araştırmada elde edilen veriler, muhafaza süresinin sonunda (180 gün) tespit ettiğimiz değerlerden (4 ^{o}C'de 7,68 – 7,90 $\log_{10}$ kob/g, -20 ^{o}C'de 5,14 – 6,08 $\log_{10}$ 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. (19), tereyağlarında yaptıkları çalışmalarında toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısını 6,92 – 7,04 $\log_{10}$ kob/g, Sert ve Özdemir

(81), 6,146 $\log_{10}$ kob/g, Yalçın ve ark. (92), 6,919 $\log_{10}$ kob/g arasında tespit etmişlerdir.

Konu ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada (42), 200 ppm oranında kekik ve kimyon esansiyel yağları ile aynı oranda BHT katılarak üretilen tereyağı örneklerinde toplam bakteri sayısı incelenmiştir. Araştırmada, en yüksek bakteri sayısının $2,8x10^6$ kob/g ile kontrol grubunda olduğu görülmüştür. Bunu sırasıyla, 1,805 $x10^6$ kob/g ile BHT ilaveli grup, $1,045x10^6$ kob/g ile kekik ilaveli grup ve 5,7 $x10^5$ kob/g ile kimyon ilaveli grup izlemiştir.

Yine, Özalp (67), Ankara piyasasından sağladığı pastörize tereyağlarında toplam mikroorganizma sayısını $3x10^3$ kob/g – $6,5x10^7$kob/g arasında saptamıştır.

Ayrıca, Patır ve ark. (76), Elazığ'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağı örneğinde, genel koloni sayısını $9,1x10^6$ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Adı geçen bu araştırmalarda (42, 67, 76) bildirilen sonuçlar, bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içerisindedir. Ancak, Malatya yöresinde yoğurttan yapılmış tereyağlarında toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısını $1,3x10^5$ – $3,6x10^6$ kob/g arasında, kremadan yapılmış tereyağlarında ise $6x10^4$ – $7,7x10^6$ kob/g arasında saptayan Hayaloğlu ve Konar (47)'ın bulgularından nispeten yüksektir. Bulguların uyumsuzluğu muhtemelen incelenen farklı materyale bağlanabilir

6.1.2.2. Maya Sayısı

Maya ve küf sayısı, tereyağının mikrobiyolojik kalitesini belirlemede önemli bir faktör olup, kremaya uygulanan pastörizasyon işleminin arzulanan düzeyde olup olmadığı konusunda bir fikir vermektedir (47).

Genelde maya ve küflerin ürünlerde bulunmasının başlıca nedenleri arasında, örneklerin üretimi ve muhafazası sırasında hijyenik koşullara dikkat

edilmemesi (yeterince temizlenmeyen alet- ekipmanlar), hava kaynaklı kontaminasyon ve analiz sırasında bulaşı olması gibi pek çok sebep sayılabilir (13, 47).

Tablo 8 incelendiğinde, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen deneysel tereyağı örnekleri, maya sayısı yönünden ilgili standarda (TS1331) aykırı bulunmuştur. Benzer şekilde, konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada (69), pastörize kahvaltılık tereyağı örneklerinin % 60'ında $1,7x10^{2}$ - $8x10^{8}$ kob/g arasında maya, % 36'sında $1,2x10^{2}$ – $2,1x10^{4}$ kob/g arasında küf saptanmış ve bahsedilen parametreler yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne aykırı bulunmuştur.

Deneysel tereyağı örneklerinde, 180 günlük muhafaza süresince kontrol grubu ile terpen ilaveli gruplar (eugenol ve thymol) arasında maya sayısı yönünden fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Ancak, baharat esktraktı ilave edilerek tereyağının maya ve küf sayısının incelendiği bir çalışmada (15), esktrakt ilaveli tereyağlarında belirlenen maya - küf sayılarının kontrol grubundan daha düşük olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmada en yüksek etkinin ise sırasıyla tarçın, karanfil, biberiye, adaçayı, kekik ve sumak esktraktı katılan tereyağlarında görüldüğü tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda ilave edilen esktraktlar daha yüksek inhibe edici etki göstermiştir. Hatta, 25 ^{o}C'de muhafaza edilen tereyağlarında kullanılan baharat esktraktlarının sorbik asit ilaveli örneklerden daha yüksek inhibe edici etkiye sahip oldukları saptanmıştır. Elde edilen bu sonuç, bizim bulgularımızla bağdaşmamaktadır. Bulguların uyumsuzluğu, ilave edilen maddelerin miktarlarından kaynaklanabilir.

Konuyla ilgili olarak yapılan bir diğer çalışmaya (47) göre, yoğurttan yapılmış tereyağlarında maya ve küf sayıları 0 – 5 $x10^{6}$ kob/g arasında, kremadan

yapılmış olanlarda ise, $1x10^3$ – $7,3x10^6$ kob/g arasında saptanmıştır. Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) maya - küf sayısının, en çok 100 kob/g olabileceği bildirilmektedir. Buna göre, belirtilen araştırmada, kremadan yapılmış tereyağlarının hiç biri standarda uygun bulunmazken, yoğurttan yapılmış tereyağlarının yalnızca % 9,1'inin ilgili standarda uygun olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmada, yapılan istatistiksel analizde, maya ve küf sayısı açısından krema ve yoğurttan üretilen tereyağları arasındaki farkın önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (47). Bu sonuç, bu araştırmada tespit ettiğimiz değerlere benzerlik teşkil etmektedir. Aynı şekilde, tereyağında maya ve küf sayısının 4,81 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde olduğunu bildiren Bali ve ark. (21)'nın bulgularıyla uyum içerisindedir.

6.1.2.3. Küf Sayısı

Tereyağları üzerine yapılan bir çalışmada (13), maya ve küf sayısı 1,81 – 7,08 kob/g arasında bulunmuştur. Aynı araştırmada, tereyağlarından sadece birinde maya ve küf saptanamamıştır.

Yapılan bir diğer çalışmada (25) ise, muhafazanın başlangıcında maya ve küf tespit edilemezken, muhafazanın 120. gününde 2,17 – 3,05 $\log_{10}$ kob/g arasında saptanmıştır. Bu durum, paketleme materyalinden veya muhafaza ortamından bir bulaşmanın olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise, kullanılan deneysel tereyağı örneklerinde, muhafazanın başlangıcındaki maya ve küf sayıları Tereyağı Standardı'na (TS 1331) aykırı bulundu. Bu durum, kontaminasyon ile açıklanabilir.

Tereyağında asitlik artışı, bazı mikroorganizmaların gelişimini engellediği için ürünün raf ömrü de uzamaktadır. Ancak yüksek asitlikte gelişebilen maya ve

küflere engel olamamaktadır. Geleneksel tereyağı üretiminde, hava kaynaklı kontaminasyon büyük sorunlar yaratmaktadır. Özellikle tuzsuz veya çok az tuzlu tereyağlarında tat, aroma ve görünüş kusurlarına neden olmaktadır. Çünkü bu tip tereyağlarında küfler rahatlıkla gelişebilmektedir (15).

6.1.2.4. Koliform Sayısı

Koliform bakteriler, bir hijyen indeksi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, bu durum insan sağlığını koruma açısından önemli olduğu gibi, tereyağlarında görülen bazı mikrobiyolojik bozulmaların önlenmesi açısından da dikkate alınmaktadır (47). Tereyağı Standardı'nda (TS 1331) pastörize edilmemiş tereyağlarında koliform bakteri sayısının en çok 100 kob/g, pastörize edilmiş tereyağlarında ise, en çok 10 kob/g olabileceği belirtilmektedir.

Normal pastörizasyon şartlarında koliform bakteriler ölmektedir. Ancak, 95 ^{o}C'de pastörize edilen kremalardan üretilen tereyağı örneklerinde koliform bakterilere rastlanması, imalat esnasında sekunder kontaminasyonların oluştuğunu göstermektedir. Sekunder kontaminasyonlar yayık, tereyağı taşıma arabası, paketleme makinası, yıkama suyu ve imalatta çalışan personelin ellerinden kaynaklanabilir. Nitekim yapılan çalışmalarda, tereyağı yıkama suyundan koliform bakterilerin bulaşabileceği belirtilmiştir (25).

Ankara'da pastörize kahvaltılık tereyağları üzerine yapılan bir çalışmada (69), koliform bakteriler incelenen örneklerin % 28'inde 9,1 EMS/g ile 240 EMS/g arasında bulunmuştur. Bu sonuç, bizim bulgularımızla benzerdir.

Pastörize tereyağları üzerine yapılan bir çalışmada, 0 - 3,5x10^3 adet/ml arasında koliform bakteri bulunmuştur. Bir diğer çalışmada, 0 - 2,4x10^3 adet/ml arasında koliform sayısı belirlenmiş ve örneklerin % 57,5'inde bu grup

bakterilerin ürediği görülmüştür (47). Bu sonuç, bizim tespit ettiğimiz değerlerden daha düşük olmasıyla farklılık arzetmektedir. Bu durum, muhtemelen kullanılan farklı hammaddeden (krema) ve farklı üretim koşullarından kaynaklanmaktadır.

Yine tereyağlarının kalitesini saptamak için yapılan çalışmalarda (47, 76), incelenen 35 adet örnekte koliform bakteri sayısı ortalama $4,1x10^4$ adet/g, 20 adet örnekte ise 0 – $1,27x10^5$ adet/g arasında ve ortalama $9,61x10^3$ adet/g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim bulgularımızdan düşüktür.

Hayaloğlu ve Konar (47)'ın krema ve yoğurttan elde edilen tereyağlarının mikrobiyolojik kalitesini inceledikleri çalışmalarında, kremadan yapılmış tereyağlarında koliform bakteri bulunmazken, yoğurttan yapılan tereyağlarında 0 – $4x10^3$ kob/g arasında saptanmıştır. Adı geçen araştırmada, kremadan yapılmış tereyağlarının tamamının ilgili standarda (TS1331) uygun olduğu, yoğurttan yapılan tereyağlarının ise ancak % 27,3'ünün standarda uygun olduğu bulunmuştur. Koliform bakterinin krema tereyağlarında bulunmayıp yoğurt tereyağlarında bulunması, yoğurt tereyağlarının daha çok geleneksel yöntemle evlerde yapılması ve bu sırada hijyenik koşullara dikkat edilmemesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Yapılan istatistiki analiz sonucunda, koliform bakteri açısından yoğurt ve kremadan yapılan tereyağları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Konu ile ilgili olarak yapılan diğer bir çalışmada (39), 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.

Konu ile ilgili olarak, farklı orijinli sütler kullanılarak üretilen geleneksel Türk yayık tereyağlarında, koliform bakterilere, incelenen örneklerin hiç birinde rastlanılmamıştır (79). Bu sonuç bizim bulgularımızdan oldukça farklıdır. Bu durum üretimde kullanılan farklı nitelikteki ham maddeden kaynaklanabilir.

Asitlik gelişmesi ve pH düşüşü ile koliform bakterilerin inhibe olmaları arasında doğru bir orantının var olduğu kabul edilmektedir (25). Deneysel tereyağı örneklerinde asitlik artışı ve pH düşüşü yeterince olmadığından, koliform sayısında da önemli sayılabilecek bir azalma tespit edilememiştir.

Tablo 10 incelendiğinde, deneysel tereyağı örneklerinde koliform bakteri sayısının yüksek olduğu görülmektedir. Elde edilen bu değerler, Tereyağı Standardı'nda pastörize tereyağları için bildirilen değerin oldukça üzerindedir. Bu sonuç, sekunder kontaminasyona bağlanabilir.

6.1.2.5. *Lactobacillus* spp. Sayısı

Deneysel tereyağı örneklerinde *Lactobacillus* spp. sayısının muhafaza öncesi 6,0 – 6,52 $\log_{10}$ kob/g arasında olduğu gözlemlendi.

Gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, deneysel tereyağı örneklerinin üretiminde kullanılan eugenol ve thymolün *Lactobacillus* spp. üzerine, kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde etkilerinin olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Tablo 11).

Keçi, koyun ve inek sütleri kullanılarak elde edilen tereyağlarında laktik asit bakteri sayısının tespit edildiği bir çalışmada (79), *L. delbrueckii* spp.

bulgaricus sayısı 5,20 - 5,80 $\log_{10}$ kob/g arasında belirlenmiştir. Bu sonuç, bizim bulduğumuz verilere (3,55 – 6,72 $\log_{10}$ kob/g) benzerdir.

Konu ile ilgili olarak, temel bileşenleri thymol, carvacrol, p- cymene ve γ-terpinene olan *Satureja clicica*, tereyağlarına ilave edilmiş ve 4 ^{o}C ve 20 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir. Araştırmada (71), *Lactobacillus* spp. sayıları muhafazanın ilk 20. gününde nispeten azalmış, sonraki günlerde ise artmıştır. Muhafaza sırasında *Lactobacillus* spp. sayıları 10^5 kob/ml'den 10^6 kob/ml'ye ulaşmıştır. 4 ^{o}C ve 20 ^{o}C'de muhafaza edilen örnekler arasında *Lactobacillus* spp. sayıları bakımından önemli farklılıklar kaydedilememiştir. 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.

Tereyağlarında, kekik, rezene adaçayı, yabani çay ve yabani nanenin LAB sayısı üzerine antimikrobiyel etkilerinin, adı geçen maddelerin tek başlarına kullanılmaları yerine, kombine halde kullanıldıklarında çok daha fazla etkin oldukları ortaya konmuştur (80). Bu çalışmada ise, kontrol grubu ile terpen ilaveli gruplar arasında istatistiki olarak bir fark bulanamamıştır. Bu sonuç, muhtemelen tereyağlarının farklı floraya sahip oluşları ile ilave edilen maddelerin LAB üzerine olan değişik inhibitör etkilerinden kaynaklanmaktadır.

6.1.2.6. Laktik *Streptococcus* spp. Sayısı

Farklı orijinli sütler kullanılarak elde edilen tereyağlarında LAB sayısını belirlemek için yapılan bir çalışmada, *S. thermophilus* sayısı sırasıyla, 5,93, 5,42

ve 6,30 $\log_{10}$ kob/g değerinde bulunmuştur (79). Bu çalışma, bizim elde ettiğimiz verilerle (4,90 – 8,04 $\log_{10}$ kob/g) benzerlik teşkil etmektedir.

Bu araştırmada bulunan sonuçlar göz önüne alındığında, kullanılan terpenlerin (eugenol ve thymol) laktik asit bakterileri üzerine etkisinin olmadığı bulundu ($p>0,05$). Ancak, farklı baharat esktraktlarının % 0,2 ve % 0,5 oranında kullanılmasıyla üretilen tereyağı örneklerinde, ilave edilen esktraktların LAB üzerine önemli inhibisyon etkilerinin olduğu ve bu etkinin en fazla kekik, karanfil, sumak ve zencefilde olduğu ortaya konmuştur (15). Yine, Ilçım ve ark. (48) karanfilin önemli antimikrobiyel özelliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir. Benzer olarak, Ayar ve ark. (15), baharatların tereyağlarında antimikrobiyel etkili olduğunu saptamışlardır. Yapılan bir araştırmada da, kekik ve adaçayının *Lactobacillus*'ların gelişmesini geciktirdiği tespit edilmiştir (15).

Yapılan çalışmalarda, baharat esktraktlarının LAB üzerine olan farklı etkileri, farklı üretim teknikleri ve muhafaza şartları ile ilave edilen katkıların miktarı ile yakından ilgilidir.

6.1.2.7. Lipolitik Bakteri Sayısı

Tereyağlarında en önemli bozulmalardan biri olan ''lipoliz'', kısaca yağları oluşturan trigliseritlerin parçalanması olayıdır. Lipolitik bakteri sayımı, lipoliz olayında etkili olan ve lipolitik aktiviteye sahip mikroorganizmaların varlığını belirlemek amacıyla yapılmaktadır. Buna çoğunlukla, *Pseudomonas flourescens, Penicillium glaucuna, Aspergillus niger* ile *Cladosporium, Geotricum* ve *Micrococcus* mikroorganizmalarının neden olduğu belirtilmektedir (47).

Tablo 13 incelendiğinde, deneysel tereyağı örneklerinin muhafaza süresi sonunda, üç grup için de muhafaza sıcaklıklarına bağlı olarak tespit edilen

lipolitik bakteri sayıları arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar kaydedildi ($p<0,05$). Bu nedenle, tereyağlarının uzun süreli muhafazalarında -20 ^{o}C'de tutulmaları lipolitik bozulma açısından önerilebilir. Gruplar (kontrol, eugenol, thymol) karşılaştırıldığında ise, 4 ^{o}C'de muhafaza edilen örnekler arasında önemli bir fark tespit edilemedi ($p>0,05$).

Tereyağı Standardı'nda (TS1331) 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 sayıları bakımından, incelenen örneklerin tamamının adı geçen standarda uygun olmadığı ortaya kondu.

Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, farklı kültür kombinasyonları ile elde edilen tereyağlarının 120 günlük muhafazası sırasında lipolitik mikroorganizma sayısı 2,6 – 3,8x10^2 adet/g arasında bulunmuştur. Bu sonuç, deneysel tereyağı örneklerinde elde ettiğimiz verilerden (4,14- 7,80 $\log_{10}$ kob/g) daha düşüktür (25). Benzer şekilde, krema ve yoğurttan elde edilen tereyağlarındaki lipolitik bakteri sayısını tespit etmek için yapılan bir çalışmada da (47), yoğurt tereyağlarında bakteri sayısı 0 – 1,5x10^4 kob/g, kremadan yapılanlarda ise 0- 1,4x10^5 kob/g arasında bulunarak yine bizim verilerimizden daha düşük sayı elde edilmiştir.

Baharat esktraktlarıyla ilgili olarak yapılan bir diğer çalışmada (15), kontrol grubuna göre baharat esktraktı ilaveli tereyağlarında lipolitiklerin daha az geliştiği görülmüştür. Bu etki en yüksek sırasıyla, karanfil, tarçın, zencefil, adaçayı ve biberiye esktraktlarında elde edilmiştir. Düşük sıcaklıkta muhafaza edilen ve yüksek baharat konsantrasyonlu tereyağlarında lipolitik

mikroorganizmaların gelişimi daha yavaş olmuştur. Tereyağında kekik, kimyon ve BHT'nin koruyucu amaçlı olarak kullanıldığı bir çalışmada (42) ise, lipolitik bakterilerin inhibisyonu en fazla kimyonda görülmüştür. Bunu sırasıyla kekik ve BHT izlemiştir. En yüksek bakteri sayısının ise kontrol grubunda olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, bu çalışmada elde ettiğimiz lipolitik bakteri sayılarından oldukça farklıdır. Bu durum, tereyağının üretim tekniği, muhafaza sıcaklığı ve kullanılan maddelerin dozuyla yakından ilişkilidir.

6.1.3. Duyusal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler

Eugenol ve thymol ilavesinin tereyağının duyusal kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla, kontrol grubu ile birlikte örnekler, muhafazanın belirli günlerinde duyusal değerlendirmeye tabi tutulmuşlardır. Duyusal analizler, yeni bir ürünün veya ürüne katılan herhangi bir maddenin tüketici tarafından kabul edilip edilmeyeceğini ortaya koyan en önemli parametrelerdir. Bu nedenle, tereyağı üretiminde terpen kullanımının mümkün olup olmadığı, ya da hangi düzeyde kullanılabileceği duyusal analiz neticesinde ortaya konmaktadır.

Tereyağı örneklerine üretim sırasında 100 ppm oranında ilave edilen eugenol ve thymol maddesinin, duyusal değerlendirmede ürünün görünüm ve kıvamında herhangi bir puan düşüklüğüne sebep olmadığı bulundu. Muhafaza süresince lezzet ve koku bakımından meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmadı ($p>0,05$).

Çeşitli literatürlerde otooksidasyon sonucu meydana gelen çeşitli reaksiyon ürünlerinin, yağın kendine has kokusundan farklı hoşa gitmeyen kokulara neden olduğu bildirilmektedir (74).

Duyusal değerlendirme sonucunda gerek gruplar arası gerekse de grup içi muhafaza günlerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$). Bu durum, 180 günlük muhafaza süresince her iki sıcaklık derecesinde de tereyağı örneklerinde kabul edilebilir limitlerin üzerinde bir oksidasyonun gerçekleşmediği söylenebilir. Aynı zamanda 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) duyusal değerlendirme açısından uygunluğunu ortaya koymaktadır.

7. SONUÇ

Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular neticesinde;

1. Kimyasal açıdan 4 ^{o}C'de muhafaza edilen deneysel tereyağı örneklerinde serbest yağ asitleri değeri üzerine ilave edilen terpenlerin (eugenol ve thymol) etkisinin bulunduğu,
2. Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı bakımından muhafaza sıcaklıkları (4 ^{o}C ve -20 ^{o}C) arasında belirlenen farklılıkların önemli olduğu,
3. Maya sayısı bakımından muhafaza süresince grup içi karşılaştırmada sıcaklıklar arasında saptanan farklılıkların ve de gruplar arası karşılaştırmada ise yalnızca 4 ^{o}C'de muhafaza edilen eugenol grubu örneklerde saptanan farklılıkların önemli bulunduğu,
4. Muhafaza süresince Laktik *Streptococcus* spp. sayılarında meydana gelen değişimlerin yalnızca -20 ^{o}C'de muhafaza edilen örneklerde önemli olduğu,
5. Lipolitik bakteri sayıları üzerine farklı muhafaza sıcaklıklarının (4 ^{o}C ve -20 ^{o}C) etkisinin muhafaza süresince önemli olduğu,
6. Lipolitik bakteriler üzerine ilave edilen terpenlerin (eugenol ve thymol) etkisinin yalnızca muhafazanın 120. gününde önemli bulunduğu,
7. 100 ppm oranında ilave edilen eugenol ve thymol'ün ürünün duyusal nitelikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu,
8. Denenen bu esansiyel yağlara ilaveten, farklı esansiyel yağların, daha farklı konsantrasyonlarda tereyağına uygulanarak araştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

8. KAYNAKLAR

1. Akgül A, Ayar A. (1993). Antioxidant effect of Turkish spices . Turk J. Agric. Forestry. 17:1061-1068.

2. Allen JC, Hamilton RJ. (1994). Rancidity in foods. Third Edition Chapman and Hall., 290 s., United Kingdom.

3. Altundağ Ş, Aslım B. (2005). Kekiğin bazı bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyel etkisi. Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi 3(7): 12-14.

4. Anonim (2010). Erişim: www.foodinfonet.com

5. Anonim (2009). Erişim: www.mikrobiyoloji.org

6. AOAC. Enumeration of lactic acid bacteria, colony count techique method. 14.1: 1995.

7. Atamer M. (1993a). Tereyağı teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:1313.

8. Atamer M. (1993b). Tereyağı teknolojisi uygulama kılavuzu. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:1314, 52 s., Ankara.

9. Atamer M. (1983). Ankara'da tereyağına işlenen kremaların özellikleri ve bunlardan elde edilen tereyağlarının niteliklerinin saptanması. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Doktora Tezi.

10. Atamer M, Kaptan N. (1982). Ankara'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağlarının nitelikleri üzerine araştırmalar. Gıda 7(4): 190-197.

11. Atamer M, Sezgin E. (1984). Tereyağlarında lipolitik ve oksidatif bozulmaların saptanmasında yararlanılan asit ve peroksit değerler ile aroma arasındaki ilişki. Gıda Derg. 6: 329-334

12. Atamer M, Şenel E, Öztekin Ş. (2006). Yayık tereyağında asit, peroksit, tirozin değerleri ile titrasyon asitliğine ilişkin sınır değerlerin saptanması. Ankara Üniv. Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu.

13. Atamer M, Şenel E, Öztekin Ş. (2005). Yoğurttan üretilen tereyağlarının bazı niteliklerinin belirlenmesi. Tübitak proje no: TOGTAG-3035.

14. Ayar A, Özcan M, Akgül A, Akın N. (2001). Butter stability as affected by extracts of sage, rosemary and oregano. Journal of Food Lipids 8:15-25.

15. Ayar A, Özcan M, Sert D, Arslan D. (2006). Yayık tereyağının raf ömrünün uzatılmasına bazı baharat uçucu yağ ve eksraktlarının katkısı. Tübitak proje no: 105 O 046.

16. Azaz AD, Demirci F, Satıl F, Kürkçüoğlu M, Canbaşer KH. (2002). Bazı satureja uçucu yağlarının antimikrobiyel aktiviteleri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler.

17. Bakırcı I, Çelik S, Coşkun H. (2004). Mezofilik liyofilize starter kültür kullanarak üretilen tereyağının bazı özellikleri. Gıda Derg. 29(1): 57-62

18. Bakırcı I, Çelik S,Özdemir C. (2002) The effect of commercial starter culture and storage temperature on the oxidative stability and diacetyl production in butter. Original Research. I. Journal of Dairy Techn. 55(4).

19. Bakırcı I, Çelik S,Özdemir C. (2000). Erzurum piyasasında tüketime sunulan mutfak tipi tereyağlarının mikrobiyolojik özellikleri. Atatürk Üniv. Ziraat. Fak. Derg. 31.

20. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology 46: 446-475.

21. Bali OS, Ayadi MA, Attia H. (2009). Traditional tunisian butter: physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. Food Science and Techn. 42: 899-905.

22. Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis PR, Gruzidiene D. (2000). Preliminary screening of antioxidant avtivity of some plant extract in rapeseed oil. Food Res. Int 33: 785-791.

23. Baysal A. (1990). Beslenme. Hacettepe Üniv. Beslenme ve Diyetetik Böl. Yay. No: A/61, 5. Ankara.

24. Berber H. Canlı kimyası. Ünite 18.

25. Bilgin B. (1996). 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. Trakya Üniv. Fen Bilimleri Ens. Doktora tezi.

26. Blaszyk M, Holley R. (1998) Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. I. Journal Food. Microbiol. 39: 175-183.

27. Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. I. Journal of Food Microbiology 94: 223-253.

28. Chizzolini R, Zanardi E, Dorigoni V, Ghidini S. (1999). Calorific value cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. Trends in Food. Techn. 10, 119-128.

29. Coşkun F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. Gıda Teknolojileri Elektronik Derg. 2: 27-33.

30. Crowell PL. (1997). Monoterpenes in breast cancer chemoprevention. Breast Cancer Research and Treatment. 46: 191-197.

31. Crowell PL, Kennan WS, Haag JD. (1992). Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. Carcinogenesis. 13(7): 1281-1284.

32. Çakır İ, Doğan HB, Başpınar E, Keven F, Halkman AK. (2002). The need for confirmation in coliform and *E.coli* enumeration in foods. Turk J. Vet. Anim.Sci. 26: 1049-1053.

33. Çakmakçı S, Çelik İ. (1995). Antioksidanlar. Gıda katkı maddeleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset tesisi ders kitapları no: 164, 249. Erzurum.

34. Çakmakçı S, Gökalp HY. (1992). Gıdalarda kısaca oksidasyon, antioksidanlar ve gıda sanayinde kullanımları. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 23, 2, 174-192.

35. Çelik E, Çelik GY. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyel özellikleri. Orlab On-line Mikrobiyoloji Derg. 5(2): 1-6.

36. Demirci M. (1999). Yağlar ve yağ benzeri maddeler. Gıda kimyası. Trakya Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Böl. 154. Tekirdağ.

37. Demirci M. (1998). Beslenme ilkeleri. Trakya Üniv. Tekirdağ Ziraat Fak. Yay. No: 94. Tekirdağ.

38. Demirci M, Yüksel AN, Soysal Mİ. (1992). Memeden mamül maddeye süt. Hasad Yayıncılık, Hayvancılık Serisi, 1, İstanbul.

39. Doğan HB, Çakır İ, Keven F, Coşansu S, Kıral N, Dağer Tİ, Gürsu G, Halkman AK. (2001). Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *E. coli* varlığı. Gıda Derg. 26(2): 83-90.

40. Dusan F, Marian S, Katarina D, Dobroslava B. (2006). Essential oils- their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. Toxicology in Vitro 20: 1435-1445.

41. Ergin G. (1978). Tereyağının dayanıklığına muhafaza sıcaklığı, krema asitliği ve pastörizasyonu ve tuzlamanın etkileri üzerine bir araştırma. Doçentlik tezi. Erzurum.

42. Farag RS, Ali MN, Taha SH. (1990). Use of some essential oils as natural preservatives for butter. JAOCS. Vol.68 (3).

43. Farag RS, Badel AZMA, Hemedi FM, El- Haroty GSA. (1989). Antioxidant activity of some spices essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. J. Am. Oil Chem. Soc. 6:792-799.

44. Farag RS, Daw ZY, Hewedi FM, EL-Baroty GSA. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal Food. Protect. 52(9): 665-667.

45. Fujisawa S, Atsumi T, Kadoma Y, Sakagami H. (2002). Antioxidant and prooxidant action of eugenol related compound and their cytotoxicity. Toxicology 177: 39-54.

46. Halkman AK. (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları.

47. Hayaloğlu AA, Konar A. (2001). Malatya yöresinde yoğurttan ve kremadan üretilen tereyağlarının mikrobiyolojik kalitesi üzerinde karşılaştırmalı bir araştırma. Gıda Derg. 26(6): 429-435.

48. Ilçım A, Dıgrak M, Bağcı E. (1998). Bazı bitki eksraktlarının antimikrobiyel etkilerinin araştırılması. Tr. J. of Biology 22: 119-125.

49. International Organization for Standardization. 2002. ISO 13559

50. İsmail AA, Pierson MD. (1990). Inhibition of germination, outgrowht and vegetative growht of *C. botulinum* 67 B by spice oils. Journal Food. Protect. 53(9): 755-758.

51. Ito M, Murakami K, Yoshino M. (2005). Antioxidant action of eugenol compounds: Role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. Food and Chemical Toxicology 43: 461- 466.

52. Kalemba D, Kunıcka A. (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.

53. Kaya A. (2000). Properties and stability of butter oil obtained from milk and yoghurt. Nahrung 44 (2): 126-129.

54. Konar A, Yağmur C, Güven M. (1993) Süt ürünleri yönünden tüketici eğilimleri. 5. Türkiye Sütçülük Kongresi. 135-149. Ankara.

55. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology 91: 453-462.

56. Lean LP, Mohamed S. 1999. Antioxidative and antimycotic effects of turmeric, lemon-grass, betel leaves, clove, black papper leaves and garcinia atriviridis on butter cakes. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79:1817-1822.

57. Lee KG, Shibamoto T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds. Food Chemistry 74: 443-448.

58. Mallia S, Piccinali P, Rehberger R, Badertscher R, Escher F, Cerny HS. (2008). Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/ conjugated linoleic acids (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. I. Dairy Journal 18: 983-993.

59. Metin M. (1998). Süt teknolojisi. Ege Üniv. Mühendislik Fak. Yay. No: 33,623. İzmir.

60. Morrissey PA, Brandon S, Buckley DJ, Shehy PJA, Frigg M. (1997). Tissue content of alpha-tocopherol and oxidative stability of broilers receiving dietary alpha-tocopheryl acetate supplement for various periods pre-slaughter. Br. Poult. Sci. 38(1): 84-88.

61. Nostro A, Germano MP, D'angelo V, Marino A, Cannatelli MA. (2000). Extraction methods and bioautography for evalution of medicinal plant antimicrobial activity Lett. Appl. Microbiol. 30(5): 79-84.

62. Official Methods of Analysis of AOAC International. 2000. 17. edition. Volume II.

63. Oysun G. (1999). Tereyağı Teknolojisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yay. Teksir 38/3. İzmir.

64. Oysun G, Gönç S. (1993). Tereyağına işlenecek kremaya uygulanacak işlemler. Gıda Derg.18(5): 333-338.

65. Önenç SS, Açıkgöz Z. (2005). Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri. Hayvansal Üretim 46(1): 50-55.

66. Ötleş S, Akçiçek E, Atlı Y. (1996). Antioksidan karekterli gıda bileşenlerinin sağlık üzerine etkileri. Dünya Gıda Derg., 11,32-34.

67. Özalp E. (1971). Ankara piyasasında satılan katvaltılık tereyağlarının hijyenik kalitesi üzerine araştırmalar. Ank. Üniv. Vet. Fak. Yay. No: 265/167.

68. Özbayram O. (2000). Stability of butter oils. Gaziantep Üniv. Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi.

69. Özcan B. (2004). Ankara'da tüketime sunulan tereyağlarının mikrobiyolojik yönden Türk Gıda Kodeksi'ne uygunluğunun saptanması. Ank. Üniv. Sağ. Bil. Ens. Yüksek Lisans Tezi.

70. Özcan M, Ayar A. (2003). Effect of propolis extracts on butter stability. Journal of Food Quality 26: 65-73.

71. Özkan G, Simsek B, Kuleasan H. (2007). Antioxidant activities of satureja cilicica essential oil in butter and in vitro. Journal of Food Engineering 79: 1391-1396.

72. Özkanlı O, Kaya A. (2005). Storage stability of butter oils produced from sheeps non pasteurized and pasteurized milk. Food Chemistry.

73. Öztürk S, Çakmakçı S. (2006). The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. Eur. Journal Lipid Sci. Technol. 108: 951-959.

74. Öztürk S. (2002). Farklı sıcaklılarda muhafaza edilen tereyağının raf ömrü üzerine çeşitli antioksidanların etkisi. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Ens. Doktora tezi.

75. Parlat SS, Yıldız AÖ, Olgun O, Cufadar Y. (2005). Bıldırcın rasyonlarında büyütme amaçlı antibiyotiklere alternatif olarak kekik uçucu yağı kullanımı. S.Ü. Ziraat Fak. Derg. 19(36): 7-12.

76. Patır B, Güven A, Saltan S. (1995). Elazığ'da tüketime sunulan kahvaltılık tereyağlarının kalitesi üzerinde araştırmalar. Selçuk Üniv. Vet. Bil. Derg. 95(14).

77. Pearson D. (1974). The assessment of rancidity of oil on a common cholorfm extract with special reference to TBA values. J. of the Ass. of Public analysts. 12: 73-76.

78. Sağdıç O, Arıcı M, Şimşek O. (2002). Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt. Food Microbiology 19: 303-312.

79. Sağdıç O, Dönmez M, Demirci M. (2004). Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayik butters produced from goats, ewes or cows milk. Food Control 15: 485-490.

80. Sağdıç O, Yaşar S, Kısıoğlu AN. (2005). Antibacterial effects of single or combined plant extracts. Annals of Microbiology 55(1): 67-71.

81. Sert S, Özdemir S. (1989). Erzurum'da kış aylarında tüketime sunulan taze beyaz peynir ve kahvaltılık tereyağları üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. Doğa TU. Tar. ve Or. Derg. 13: 1142-1153.

82. Shahidi F, Pegg RB, Saleem ZO. (1995). Stabilization of meat lipids with ground spices. J. Food Lipids 2: 145-153.

83. Snedecor GW, Cochran WG. (1980). Statistical method. seventh edition. The Lowa State Univ. Pres, Ames, Iova, U.S.A.

84. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. Meat Science 80: 159-166.

85. Suhaj M. (2006). Spices antioxidants isolation and their antiradical activity. Journal of Food Composition and Analysis 19: 531-537.

86. Şenel E. (2006). Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen yayık tereyağının nitelikleri üzerine etkisi. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Ens. Doktora tezi.

87. Tekinşen C. (2000). Süt ve süt ürünleri teknolojisi. Selçuk Üniv. Basımevi. Konya

88. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Tebliğ No:2001/19.

89. Türk Standardı. TS 1331. 1995.

90. Türk Standardı. TS 6931. 1989.

91. Üner Y, Aksu H, Ergün Ö. Baharatın çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkileri.

92. Yalçın S, Tekinşen OC, Doğruer Y, Gürbüz Ü. (1993). Konya'da tüketime sunulan tereyağlarının kalitesi. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. 9: 20-21.

93. Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, Raneva VG. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry 64: 59-66.

94. Yanishlieva NV, Marinova E. (2001). Stabilisation of edible oil with natural antioxidants. . Eur. Journal Lipid. Sci. Technol. 103: 752-767.

95. Yanishlieva NV, Marinova E, Pokorny J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. Eur. Journal Lipid Sci. 108: 776-793.

96. Yetişmeyen A. (1995). Süt Teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:1420. Ankara.

9. ÖZ GEÇMİŞ

1982 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğretim ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde üniversite öğrenimime başladım. 2003 yılında fakülte birincisi olarak mezun oldum. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Doktora programını kazanarak, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü'nde doktora öğrenimime başladım. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 50/d maddesine göre Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. 2007 yılının Temmuz ayında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı bünyesinde Ankara İl Tarım Müdürlüğü'ne Veteriner Hekim olarak geçiş yaptım. 2008 yılının Eylül ayında Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne tayin yolu ile atandım. Halen bu görevimi sürdürmekteyim. Evliyim.