

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Lactobacillus sakei BİYOKORUYUCU KÜLTÜRÜN VAKUM AMBALAJLI
SIĞIR ETİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNE ETKİSİ

İbrahim YILMAZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2021

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Lactobacillus sakei BİYOKORUYUCU KÜLTÜRÜN VAKUM AMBALAJLI SIĞIR ETİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNE ETKİSİ

İbrahim YILMAZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Çalışmanın amacı, *L.sakei* biyokoruyucu kültür uygulamasının vakum ambalajlı sığır etinin mikrobiyolojik (toplam aerob mezofilik bakteri (TAMB), laktik asit bakterisi (LAB), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *Brochothrix thermosphacta*), fizikokimyasal (pH ve L^* (açıklık), a^* (kırmızılık), b^* (sarılık) ve duyuşsal (koku ve renk) özelliklerine etkisini $4\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 35 gün depolama sırasında belirlemektir. Depolama boyunca ortama laktik asit bakterileri hâkim olmuştur. *L.sakei* inoküle edilen etler inokülasyon yapılmayan kontrol etlerden daha düşük bozulma yapan mikroorganizma sayılarına sahip olmuşturlardır. *L.sakei* inokülasyonunun inhibitör etkisi *Enterobacteriaceae* ve *B. thermosphacta* üzerine 7. günden, *Pseudomonas* spp. üzerine 14. günden itibaren görülmüştür ($P<0.01$). Depolama sonunda kontrol ve *L.sakei* inoküle edilen örneklerde *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla 7.55 ve 5.89 log kob/g, *Pseudomonas* spp. sayısı 7.54 ve 5.59 log kob/g, *B. thermosphacta* sayısı 6.55 ve 3.36 log kob/g bulunmuştur. En fazla inhibisyon etkisi yaklaşık 3 logaritmik birim düzeyinde azalma ile *B. thermosphacta* üzerine olmuştur. *L. sakei* inokülasyonunun depolama süresince renk değerleri üzerine olumlu etkisi olmuş, L^* değeri artarken a^* değeri korunmuştur. Biyokoruyucu kültür inokülasyonu bozulma yapan mikroorganizmaları inhibe etmede ve bu şekilde raf ömrünü iyileştirmede etkilidir.

Haziran 2021, 74 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyokoruma, *Lactobacillus sakei*, sığır eti, vakum ambalaj, depolama

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF *Lactobacillus sakei* AS A BIOPROTECTIVE CULTURE ON THE MICROBIAL QUALITY OF VACUUM-PACKED BEEF MEAT

İbrahim YILMAZ

Ankara University
Graduate school of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

The aim of the study is to investigate the effect of *Lactobacillus sakei* as a protective culture on microbiological (total viable (TV), lactic acid bacteria (LAB), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. and *Brochothrix thermosphacta*), physicochemical (pH and L^* (lightness), a^* (redness), b^* (yellowness)) and sensory (odour and colour) parameters during a 35-days refrigerated storage of vacuum-packed beef meat. Lactic acid bacteria were dominant flora during refrigerated storage. *L.sakei* inoculated samples had significantly ($P<0.01$) lower spoilage microbial counts than non-inoculated samples. The inhibitory effect of *L.sakei* inoculation was seen from 7 days for *Enterobacteriaceae* and *B.thermosphacta* and from 14 days for *Pseudomonas* spp. At the end of storage, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. and *B. thermosphacta* counts for non-inoculated and inoculated samples were 7.55 and 5.89 log cfu/g, 7.54 and 5.59 log cfu/g and 6.55 and 3.36 log cfu/g, respectively. The most inhibitory effect was on *B. thermosphacta* counts with 3 logarithmic unit level. Colour values of inoculated samples were improved which L^* values increased and a^* values did not change during storage. Inoculation with bio-protective culture has a potential to inhibit growth of spoilage bacteria and improve shelf life of vacuum-packed raw meat.

June 2021, 74 pages

Key Words: Bio-preservation, *Lactobacillus sakei*, beef meat, vacuum packaging, storage

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında, hoşgörüsü, zaman yönetimi ve çalışma disiplini ile her zaman kendisini hayranlık ile takip ettiğim değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayla SOYER'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), laboratuvar imkanlarından faydalandığım Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) ve Sayın Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), deney aşamasında bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen aynı zamanda istatistik çalışmamda bana yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Betül ARSLAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) ve analiz aşamasında yardımlarını eksik etmeyen Sayın Arş. Gör. Fatmagül HAMZAOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), analizlerde kullanılan ham maddeyi temin ettiğim ve işletme imkanlarından yararlandığım Sincan Et ve Süt Kombinası çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tahsil hayatım boyunca desteklerini hep hissettiğim değerli annem Gülten YILMAZ ve babam Ahmet YILMAZ'a kardeşlerim Büşra YILMAZ ve Furkan YILMAZ' a çalışma sürecimde birçok fedakârlık gösteren sevgili eşim Betül YILMAZ' a en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

İbrahim YILMAZ
Ankara, Haziran 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1 Etin Bozulma Nedenleri.....	4
2.1.1 Ette mikrobiyolojik bozulma.....	7
2.2 Etin Muhafazası	9
2.2.1 Gıdalarda ambalajlama ve vakum ambalajlama.....	11
2.2.2 Vakum ambalajlı etlerde bozulma.....	12
2.3 Biyokoruyucu Kültürler.....	15
2.3.1 Bakteriyosinler.....	17
2.4 Biyokoruyucu Kültürlerin Çiğ Ette Kullanılmaları.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Materyal	29
3.1.1 Et materyeli ve hazırlanması.....	29
3.1.2 Biyokoruyucu kültür (<i>Lactobacillus sakei</i>)	29
3.2 Yöntem.....	29
3.2.1 Etlere biyokoruyucu kültür inokülasyonu	29
3.3 Kimyasal Analizler.....	30
3.3.1 Nem miktarı tayini.....	30
3.3.2 Kül miktarı tayini.....	30
3.3.3 Yağ miktarı tayini	30
3.3.4 Protein miktarı tayini.....	31
3.3.5 pH Analizi	31

3.3.6 Renk ölçümü (L^* , a^* ve b^* değerleri)	31
3.4 Mikrobiyolojik Analizler.....	31
3.4.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayımı.....	32
3.4.2 Laktik asit bakteri sayımı.....	32
3.4.3 <i>Enterobacteriaceae</i> sayımı.....	32
3.4.4 <i>Pseudomonas</i> spp. sayımı.....	33
3.4.5 <i>Brochothrix thermosphacta</i> sayımı.....	33
3.4.6 Duyusal değerlendirme.....	34
3.4.7 İstatistik analiz.....	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
4.1 Et Bileşimi.....	35
4.2 pH Değeri Sonuçları.....	35
4.3 Renk Değeri Sonuçları	37
4.4 Toplam Aerob Mezofil Bakteri Sayım Sonuçları.....	41
4.5 Laktik Asit Bakteri Sayım Sonuçları.....	45
4.6 <i>Enterobacteriaceae</i> Sayım Sonuçları.....	47
4.7 <i>Pseudomonas</i> spp. Sayım Sonuçları.....	49
4.8 <i>Brochothrix thermosphacta</i> Sayım Sonuçları	50
4.9 Duyusal Değerlendirme Sonuçları.....	52
5. SONUÇ.....	56
KAYNAKLAR.....	58
EKLER.....	70
EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu.....	71
EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	74

SİMGELER DİZİNİ

CO ₂	Karbondioksit
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
°C	Santigrat
Fe ⁺²	Demir
kob /g	Koloni oluşturan birim/gram
mL	Mililitre

Kısaltmalar

GRAS	Generally Regarded As Safe
TAMB	Toplam Aerob Mezofil Bakteri
VRBD	Violet Red Bile Dextrose Agar
LAB	Laktik Asit Bakteri
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe Agar
PCA	Plate Count Agar
CFC	Cetrimid Fusidin Cephaloridin
STAA	Streptomisin Sülfat/Talyum Asetat/Aktidion Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Etin yapısı ve rengi.....	6
Şekil 4.1 Vakum ambalajlı ette depolama sırasında L^* , a^* ve b^* değerlerindeki değişimler.....	41
Şekil 4.2 <i>L.sakei</i> biyokoruyucu kültürün vakum ambalajlı ette mikrobiyal yüke ve pH değişimine etkisi.....	44
Şekil 4.3 <i>L.sakei</i> inoküle edilen ve edilmeyen vakum ambalajlı sığır etinde depolama sırasında duyuşal koku ve renk özelliğindeki değişim	54



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Etin raf ömrünü etkileyen faktörler	7
Çizelge 2.2 Etin bozulmasına neden olan mikroorganizmalar.....	10
Çizelge 2.3 GRAS bakteriyosinler ve üretici mikroorganizmaları.....	18
Çizelge 2.4 Bakteriyosinlerin gıda ürünlerindeki uygulamaları.....	20
Çizelge 2.5 Gıdalarda bakteriyosinlerin etkinliğini sınırlayıcı faktörler.....	22
Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan sığır etlerinin bileşimi.....	35
Çizelge 4.2 Biyokoruyucu kültür ilavesi ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin pH değişimine etkisi.....	36
Çizelge 4.3 Biyokoruyucu kültür ilavesi ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin L^* değerine etkisi	38
Çizelge 4.4 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin a^* (kırmızılık) değerindeki değişime etkisi.....	39
Çizelge 4.5 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin b^* (sarılık) değerindeki değişime etkisi.....	40
Çizelge 4.6 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin TAMB sayısına (log kob/g) etkisi.....	42
Çizelge 4.7 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin LAB sayısına (log kob/g) etkisi.....	46
Çizelge 4.8 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin <i>Enterobacteriaceae</i> sayısına (log kob/g) etkisi.....	48
Çizelge 4.9 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin <i>Pseudomonas spp.</i> sayısına (log kob/g) etkisi.....	49
Çizelge 4.10 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin <i>Brochothrix thermosphacta</i> sayısına (log kob/g) etkisi	51
Çizelge 4.11 <i>L. sakei</i> koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin koku ve rengine etkisi	53

1. GİRİŞ

Et, insanın sağlıklı beslenmesi ve kaliteli bir hayat sürebilmesi için vazgeçilmez bir besin kaynağıdır. Et sahip olduğu elzem amino asitler (metiyonin, arjinin, triptofan vb.) ve yağ asitleri (linoleik asit vb.) gibi temel besin öğeleri yönünden benzersiz bir gıdadır. Bu özelliklerinin yanında sahip olduğu mineral ve vitamin yönünden de bitkisel besin maddelerinde olmayan hem kaynaklı demir (Fe^{+2}) ve B_{12} vitamini bünyesinde bulunduran et sağlık açısından son derece önemli bir gıdadır (Öztaş 2015). Ancak etin zengin besin matrisine sahip olması onu gıda kaynaklı patojenler ve ette bozulmaya sebep olan mikroorganizmaların çoğalması ve yayılması için ideal bir ortam yapmaktadır. Et zararlı mikroorganizmalar için ideal bir ortam olması nedeniyle kalite ve güvenliğin sürdürülebilirliğini sağlamak için ete yeterli koruma teknolojileri uygulamak elzemdir (Aymerich vd. 2008). Kalite ve güvenliğin sağlanması için birçok yöntem kullanılmakla birlikte bunlar üç grupta kategorize edilir. Sıcaklık kontrolünü temel alan yöntemler (dondurma, soğutma, pastörizasyon ve sterilizasyon), etin su içeriğini kontrol eden yöntemler (kurutma, kürlenme, dondurarak kurutma) ve mikrobiyal bozulmayı engelleyen yöntemler (antibiyotik, kimyasal koruyucular, ambalajlama). Ayrıca bu yöntemlerin bir arada kullanılması hem mikrobiyal hem de duyu kaliteyi güçlendirir (Lawrie ve Ledward 2006).

Butün bu yöntemler ile birlikte günümüzde araştırmalar daha çok yeni ambalajlama sistemleri (vakum ambalajlama, modifiye atmosferde ambalajlama, aktif ambalajlama gibi), doğal antimikrobiyal bileşikler ve biyokoruyucular gibi ısı olmayan yeni sistemlere odaklanmıştır. Bu yöntemlerin avantajları ise daha az enerji gereksinimleri olması, çevreye duyarlı olmaları ve etin doğal görünümünden taviz vermeden patojen mikroorganizmalardan koruyucu olmasıdır (Zhou vd. 2010).

Ambalajlama sistemleri ürünleri yabancı koku etkileşimine, besin kaybına, tekstür değişikliğine ve patojenler gibi zararlı mikroorganizmalara karşı korur (McMillin 2008). Vakum ambalajlama, et ortamından oksijenin uzaklaştırılması ile yapılan ve taze etin raf ömrünü önemli düzeyde artıran bir koruma yöntemidir. Oksijen varlığı, et ve et ürünlerinin bozulmasına neden olan *Pseudomonas* spp., *Moraxella*, *Psychrobacter* ve

Acinetobacter gibi aerobik bakterilerin çoğalması için ortam oluşturmakta ve et renginin ve görünüşünün değişmesine, oksidatif acılaşmaya ve etin aromasının değişmesine neden olmaktadır (Macedo vd. 2011). Modifiye atmosferde ambalajlama (MAP) ise et ürününün bulunduğu ortamdaki havanın değiştirilmesi ve farklı yeni bir gaz atmosferinin oluşturulmasıdır. Bu yöntemde genelde CO₂, N₂, O₂ ve CO gibi gazlar biri, ikisi ya da üçü bir arada farklı konsantrasyonlarda kullanılarak, arzu edilen ürün niteliğini koruyacak atmosfer oluşturulur (McMillin vd. 2008).

Diğer koruma yöntemlerinden birisi olan biyokoruma, doğal ve kontrol edilebilir mikroorganizmalar ve bunların antimikrobiyal metabolitleri kullanılarak gıdaların korunması şeklinde tanımlanır (Stiles 1996). Biyokorumanın amacı gıda güvenliği ile beraber depolama süresinin yani raf ömrünün artırılmasıdır. Laktik asit bakterileri (LAB) biyokoruyucu mikroorganizmalar olarak büyük potansiyele sahiptir. Çünkü tüketimi güvenli ve depolama boyunca birçok gıda için doğal olarak baskın mikroorganizma grubunu oluştururlar. LAB fermantatif rolü nedeniyle genel olarak güvenli (Generally Recognised As Safe: GRAS) olarak tanımlanır. Ayrıca LAB tarafından üretilen antimikrobiyal peptitler, sindirimi kolaylaştıran proteazlar tarafından kolaylıkla yıkıldığından bağırsak mikrobiotasında zararlı etki oluşturmazlar. Laktik asit bakterileri bakteriyosin, enzim, hidrojen peroksit ve organik asit gibi bileşikler ürettiği ve ortamdaki besinleri tükettiği için diğer mikroorganizmalara karşı inhibe edici etkiye sahiptir (Castellano vd. 2008).

LAB çok çeşitli antimikrobiyal metabolitler üretir ki bunlardan biri de bakteriyosinlerdir (Zhang vd. 2018). Bakteriyosinler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen küçük peptitler veya biyoaktif proteinlerdir. Bu moleküller zararlı ve patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Beshkova ve Frengova 2012). Raf ömrünü uzatmanın yanısıra bakteriyosinler aynı zamanda patojenik mikroorganizmaların bulaşma riskini ve sentetik koruyucuların kullanımını azaltır (Castellano vd. 2008, Gálvez vd. 2007). Ancak bakteriyosinler nispeten dar bir spektrumuna sahiptirler ve sadece üretici suşla yakından ilişkili bakteriler için toksiktirler. (Riley ve Wertz 2002). Önceki çalışmalar, *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. animalis*, ve *L. curvatus* dahil olmak üzere birçok LAB suşunun et ve et ürünlerinde etkili

biyokoruma ajanları olarak başarılı bir şekilde uygulandığını göstermiştir (Zhang vd. 2018).

Lactobacillus sakei, düşük sıcaklıkta uzun süre taze et depolamada tercih edilen bir laktik asit bakteri suşudur (Chaillou vd. 2014). Bu bakteri bitkisel ve hayvansal kökenli çeşitli fermente gıda ürünlerinden izole edilir. Ayrıca fermente edilmemiş et ürünleri için mikrobiyal güvenliği arttırmak için de önerilmektedir. *L. sakei* taze etin başlıca florasını oluşturur ve et vakum altında depolandığında baskın flora haline gelir. *L. sakei*'nin taze etin korunmasındaki kritik rolü, bozulmaya sebep olan ve patojenik etki gösteren bakterilere karşı inhibitör bileşikler sentezlemesi ve laktik asit üretebilmesidir (Vergès vd. 2001).

Yapılan bu açıklamalar doğrultusunda bileşimi nedeniyle kolay bozulabilen bir gıda olan etin raf ömrünün artırılması önemli bir husustur. Bu amaçla etin raf ömrünün kimyasallar yerine, tüketiminde herhangi bir sakınca olmayan ve FDA tarafından GRAS kabul edilen laktik asit bakterilerinden biri olan *Lactobacillus sakei* tarafından artırılmasının iyi bir çözüm olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, *L. sakei* biyokoruyucu kültürünün vakum ambalajlı sığır etinin mikrobiyal kalitesine, rengine ve duyuşal özelliklerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Et, protein kaynaklarının en önemlilerinden biridir. Ayrıca vücut için gerekli amino asitleri içeren değerli proteinleri zengin bir oranda bulunduran, demir, çinko gibi minerallerin ve farklı tip vitaminlerin en iyi oranda düzenlenmiş olduğu mükemmel bir gıdadır. Bu değerli beslenme ortamı aynı zamanda bakterilerin çoğalması için de elverişli bir ortam oluşturur. Bu uygun ortam ve diğer bozulma faktörleri etin dayanıklılığının azalmasının sebeplerindendir (Amani vd. 2015). Et ayrıca kimyasal ve enzimatik faaliyetler nedeniyle bozulmaya karşı çok hassastır. Etin yağ, protein ve karbonhidratlarının parçalanması, kötü kokuların oluşmasına, etin lezzetinin ve renginin bozulmasına neden olur (Dave ve Ghaly 2011).

Etin rengi, satın alınması sırasında en önemli kalite-faktörüdür. Kasta bulunan başlıca miyogloblin ve sitokromlar, katalaz, flavinler gibi pigmentler etin rengini oluşturur (Amani vd. 2015). Bahsedilen pigmentler arasında miyogloblin en önemli renk maddesi olup et rengini bu pigment belirler. Kasta bulunan miyogloblin düzeyi hayvanın hareketlilik durumu, yaş ve tür gibi değişik faktörlere bağlıdır. Etin depolanması nedeniyle oluşan renk değişimi ambalajlama şekline, depolama koşullarına ve çiğ ette bulunan miyoglobline bağlıdır (Kerry vd. 2002). Taze ette miyogloblin, üç kimyasal formda bulunabilir. Bunlardan biri deoksimiyoglobindir. Mor olan deoksimiyogloblin, oksijene maruz kaldığında hızla kiraz kırmızısı olan oksimiyoglobine oksijenlenir (Kerry vd. 2006). Zaman geçtikçe atmosferik ortamda oksimiyogloblin metmyoglobine dönüşür. Bu da etin renginin kahverengiye dönmesine sebep olur. Metmyogloblin oluşum oranı etin mikrobiyolojik durumu, pH ve depolama sıcaklığı gibi farklı faktörlere bağlıdır. (Kerry vd. 2002).

2.1 Etin Bozulma Nedenleri

Ette bozulma, tüketici için kabul edilemez hale gelen duyuşal değişiklikler olarak tanımlanır. Bu değişiklikler; renk ve yapıdaki bozulma, kötü tat ve kokunun oluşması ya da etin üzerinde sümüksü bir yapının oluşması şeklinde gerçekleşir (Erkmen ve Bozoglu 2016). *Pseudomonas*, *Lactobacillus* ve *Enterococcus* sümüksü yapıyı oluşturan

bakterilere örnek olarak verilebilir. Bu örneklere ek olarak *Enterococcus* ' un hidrojen peroksit ve *Clostridium spp.* ' in hidrojen sülfid üretimi sonucu et yeşilimsi bir renge dönüşür (Anonymous 2016). Hayvanların kesilmesinden sonra rigor mortisin tamamen sonlanması ve etin gevrek/yumuşak bir yapıya sahip olabilmesi için belirli bir zamanın geçmesi gerekmektedir. Bu süreçte karkasta birtakım olaylar gerçekleşir. İlk olarak ATP sentez kabiliyeti kaybolur. Enerji yetersizliği sebebiyle kasta bulunan aktin ve miyosin proteinleri hareket edemez ve kaslar sertleşir. Kasa giren oksijen miktarı düştüğünden indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları azalır. Vitamin ve antioksidan kaybı yavaş yavaş oksidasyonun artmasına neden olur. Sinirsel ve hormonal denge kaybolur ve bunun sonucunda karkasın sıcaklığı düşer ve yağları katılaşır. Kesim ile birlikte solunumun sona ermesi ile kasta glikoliz başlar. Glikoliz aşamasında glikojen laktik aside dönüştürülür ve bunun sonucu kas pH'sı 7.2'den 5.7' ye kadar düşer. Proteinler bu pH' da denature olurlar ve rigor mortis sonlanır (Lawrie 2006, Erkmen ve Bozoglu 2016). Kesim öncesi ve kesim sonrası işlemler etin kalitesinin bozulmasında önemli rol oynamaktadır. Kesim öncesi hayvanın maruz kaldığı stres kaslardaki glikojen miktarını azaltmakta, bu durum da kesim sonrası kaslarda laktik asit üretimini etkilemektedir. Laktik asit üretimi anaerobik glikolitik yol üzerinden hayvan kasının glikojen içeriği yıkılarak gerçekleşmektedir. Stres ile ilgili olarak kesim öncesi uzun süre strese maruz kalan hayvanların kesimi sonucu oluşan etlerin pH'sı yüksek olmakta bu da koyu, sert ve kuru anlamına gelen DFD (Dark, Firm and Dry) et olarak tanımlanan raf ömrü kısa etin oluşmasına neden olur. Buna benzer olarak kısa süreli strese maruz kalan hayvanların etleri ise soluk, yumuşak ve terli anlamına gelen PSE (Pale, Soft and Exudative) olarak tanımlanan ete neden olmaktadır. PSE etler düşük pH değerine sahiptirler, bu düşük pH değeri mikroorganizma çoğalmasını engeller, ayrıca bu düşük pH ortamı bazı proteinlerin denatürasyonuna neden olmaktadır (Dave ve Ghaly 2011). Şekil 2.1 de DFD, PSE ve normal etin yapısı ve rengi gösterilmektedir.

Et ve et ürünlerinin raf ömrüne etki eden faktörler çizelge 2.1 de özetlenmiştir. Bu faktörler içsel ve dışsal faktörler olarak ayrılabilir. İçsel faktörler hayvanın türü, cinsi ve beslenme şekli, yaşı, kesim sonrası ilk mikroflora ve etin kimyasal özellikleri oluştururken, dışsal faktörleri sıcaklık, ambalajlama ve depolama şekli gibi faktörler oluşturmaktadır. Kesimden sonra, işleme aşamasında ya da depolama sürecinde et ve et

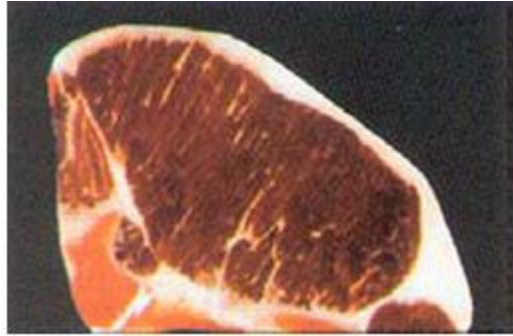
ürünlerinin bozulmasına neden olan üç mekanizma vardır. Bunlar mikrobiyolojik bozulma, yağ oksidasyonu ve otolitik enzimatik bozulma olarak ifade edilir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 2.1 Etin yapısı ve rengi (Dave ve Ghaly 2011) (a) Normal et (b) Pale, Soft and Exudative (PSE) et (c) Dark, Firm and Dry (DFD) et

Çizelge 2.1 Etin raf ömrünü etkileyen faktörler (Rahman 1999)

Etken	Faktörler
İçsel etkenler	Hayvanın türü (Sığır, koyun)
İçsel etkenler	Hayvanın cinsi ve beslenme rejimi
İçsel etkenler	Hayvanın yaşı
İçsel etkenler	Etin ilk mikroflorası
İçsel etkenler	Etin kimyasal özellikleri (peroksit değeri, pH, asitlik, redoks potansiyeli)
İçsel etkenler	Oksijen varlığı
İçsel etkenler	Personel ve ekipman hijyeni
Dışsal Etkenler	Kalite yönetim sistemleri
Dışsal Etkenler	Sıcaklık kontrolü
Dışsal Etkenler	Ambalajlama sistemi (materyal, ekipman ve kullanılan gazlar)
Dışsal Etkenler	Depolama tipi

2.1.1 Ette Mikrobiyolojik Bozulma

Et ve et ürünleri, bazıları patojen olmak üzere farklı mikroflora (bakteri, maya ve küf) için mükemmel çoğalma ortamı sağlar (Jay vd. 2005). Hayvanların derisi ve bağırsakları bu mikroorganizmaların ana kaynağıdır. Etteki mikrofloranın çeşitliliği birçok faktöre bağlıdır. Bunlar; kesim öncesi hayvanın yetiştiği ortam (ahır ya da mera), hayvanın yaşı, kesim aşaması iç organların ayrılması ve etin işlenmesi aşamasındaki temaslar, kesim aşaması etin işlenmesi aşaması ve dağıtım aşamalarında sıcaklık kontrolü, koruma yöntemleri, ambalajlama şekli, tüketiciler tarafından depolama ve işleme olarak sıralanabilir (Cervený vd. 2009).

Et, karbonhidrat içeriği düşük yarı-katı bir ortamdır. Rigor mortis tamamlandıktan sonra ette protein olmayan azotlu bileşikler, amino asitler, kreatin, peptit ve protein içeriği artar. Karbonhidrat konsantrasyonu hala düşüktür, pH 5.5'e yakındır ve su aktivitesi >0.97'dir (Ray ve Bhunia 2008). *Post mortem* kasın ete dönüşümü olarak ifade edilmektedir. Bunu

takip eden depolama ve ete uygulanan işlemler etin bozulmasına neden olan değişmelere yol açar. Bu değişmelere mikroorganizmalar, ekzojen enzimler, kastaki endojen enzimler, oksidatif acılaşma gibi enzimatik olmayan reaksiyonlar, damlama kaybı ve renk bozukluğu gibi fiziksel etkiler neden olur. Ette yukarıdaki değişmelerin meydana gelmesi etin kabul edilebilirliğini azaltsa da, etin bozulmasına neden olan ve ürün güvenliğini tehlikeye düşüren en önemli faktör mikrobiyolojik faaliyettir (Nychas vd. 2008).

Aerobik ortamda *Pseudomonas* spp. ette hızla çoğalmakta ve bozulma nedeni olabilmektedir. *P. fragi*, *P. fluorescens* ve *P. putrefaciens* soğukta depolanan etlerden en çok izole edilen mikroorganizmalardır (Lebert vd. 1998). Bunlar dışında *Brochothrix thermosphacta*, *Moraxella*, *Psychrobacter* ve *Acinetobacter* soğutulmuş etlerin bozulmasına neden olan diğer mikroorganizmalardır (Ellis ve Goodacre 2001).

Kesimden sonra et üzerindeki bozulma yapan mikroorganizma yükü raf ömrünün belirlenmesinde kritik bir faktördür. Karkas yüzeyinin herhangi bir kısmı 10^1 ' den 10^7 kob/cm² değişen sayıda çoğu psikrotrofik bakteri içerebilir. Etlerin doğranması veya kıyma haline getirilmesi daha fazla yüzey alanı ortaya çıkardığı, daha fazla su ve besini kullanılabilir hale getirdiği için mikrobiyal yükü arttırmaktadır. Taze ette yaygın olarak farklı tür ve sayıda bakteri bulunur. Ancak çevre şartlarına etin pH değerine, sıcaklığa, etin yapısına göre bunlardan bazıları baskın mikrobiyotayı oluştururlar. (Ercolini vd. 2006, Li vd. 2006, Samelis 2006). *Pseudomonas* spp. aerobik olarak depolanan çiğ et ve kümes hayvanlarında baskın olan bakteri grubunu oluşturur (Balamatsia vd. 2006). Başlangıçtaki düşük glukoz seviyesi çeşitli bakteriler tarafından tüketildiğinde, *Pseudomonas* avantajlı bir durumdadır. Çünkü glikonatları ve amino asitleri diğer mikroorganizmalardan daha kolay katabolize edebilirler. Bu bileşiklerin parçalanması, biyojenik aminler, putresin ve kadaverin dahil olmak üzere kötü kokulu sülfidler, amonyak ve aminlerin üretimiyle sonuçlanır. pH' sı nispeten 6.0 dan yüksek olan DFD etler çok çabuk bozulurlar çünkü bu etlerin yapısındaki amino asitlerin deaminasyonu çok erken başlar. *Shewanella putrefaciens* pH' nın 6.0'dan düşük olduğu ette gelişemez, ancak ette glukoz hala bulunmakta ise sülfür ve amonyak üretebilir. Bu sülfidler sadece kötü kokmakla kalmaz, aynı zamanda ette renk değişikliklerine neden olur ve bu nedenle *Shewanella* taze eti bozma potansiyeli yüksek olan bir mikroorganizma olarak tanımlanır.

Ancak *Shewanella*, düşük pH ve aerobik ortamda baskın mikroorganizma olamaz (Doyle 2007). *Brochothrix thermosphacta*, soğuk ve aerobik ortamda muhafaza edilen taze ette bozulmaya neden olan önemli bir mikroorganizmadır (Russo vd. 2006). *Enterobacteriaceae*, özellikle *Serratia*, *Enterobacter* ve *Hafnia* türleri, vakum ambalajlanmış, yüksek pH değerli taze etlerin bozulmasının başlıca nedenleridir. Bu organizmalar organik asitler, hidrojen sülfid ve etlerin yeşillenmesini sağlayan fakültatif anaeroblardır. Laktik asit bakterileri (LAB), vakum ve modifiye atmosferde ambalajlanmış et ve kümes hayvanlarında çoğalır ve fermantasyon yoluyla glukozdan organik asitler üretirler. Bu gaz, sümüksü yapı ve etin yeşillenmesiyle beraber asidik kötü kokunun oluşmasına neden olur. Ancak LAB zayıf proteolitik özelliktedirler. Bu nedenle fazla miktarlarda amin ve sülfid üretemezler. Bunun sonucu olarak LAB tarafından bozulmuş etler aşırı kötü kokulu değildir. Psikrofilik, anaerobik *Clostridium* spp. vakum ambalajlanmış etlerin bozulmasına neden olur. Vakum ambalajlı etlerin aşırı derecede kötü kokulu gaz oluşumu sonucu bozulması şişik ambalaj anlamına gelen "Blown pack" olarak tanımlanır. Bu gazlar bütirik asit, bütanol ve sülfür bileşiklerinden oluşur. Mayalar ve küfler, taze ette nispeten yavaş çoğalır ve bu nedenle bakterilerle rekabet edemezler. Bundan dolayı, mikrobiyolojik bozulma florasının önemsiz organizmalarıdır (Doyle 2007). Bozulmaya neden olan mikroflorada psikrotrofik Gram-negatif çubuk şeklinde aerobik, fakültatif ve zorunlu anaerobik bakterilerin hâkim olduğu görülmektedir. Bu mikroorganizmalardan bazıları çizelge 2.2 de verilmiştir.

2.2 Etin Muhafazası

Süpermarketlerin gelişmesi ve hızlı büyümesinden sonra, doku, renk ve besin değeri bozulmadan uzun mesafeler boyunca et taşınması için et muhafazası çok daha önemli hale gelmiştir (Nychas vd. 2008). Etin muhafazasındaki amaç; ilk olarak mikroorganizmaya dayalı bozulmayı inhibe etmek, ikinci olarak da oksidasyonu ve enzimatik bozulmayı minimum seviyeye çekmektir. Geleneksel muhafaza yöntemlerinden olan kurutma, tütsüleme, fermantasyon, sıcaklık kontrolü vb. yerini yeni muhafaza yöntemlerinden olan kimyasal, biyokoruyucu ve termal enerji üretmeyen yöntemlere bırakmaktadır. Mevcut et muhafaza yöntemleri günümüzde genel olarak 3

başlık altında incelenir bunlar; sıcaklık kontrolü, su aktivitesi kontrolü, kimyasal ve biyokoruyuculardır (Zhou vd. 2010).

Çizelge 2.2 Etin bozulmasına neden olan mikroorganizmalar (Comi 2017)

<i>Aeromonas</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Proteus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Psycrobacter</i>
<i>Brochothrix</i>	<i>Salmonella</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Shewanella</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Enterobacter/Pantoea</i>	<i>Penicillium</i>
<i>E. coli</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Candida</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Micrococcus/Staphylococcus</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Moraxella</i>	<i>Geotrichum</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Thamnidium</i>
<i>Proteus</i>	<i>Mucor</i>
<i>Psycrobacter</i>	<i>Sporotrichum</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Rhizopus</i>
<i>Shewanella</i>	

Bunlarla birlikte, bu koruyucu yöntemleri güçlendiren, böylece daha uzun depolama süreleri boyunca etkilerini en üst düzeye çıkaran, taze et gibi gıda ürünlerinin, günümüzdeki perakendeciliğinin bir gereği olan, uygun ambalajlama malzemelerinin ve sistemlerinin kullanılması elzemdir. Özellikle, çeşitli vakumlu ambalajlama (VP) yaklaşımları ve modifiye atmosfer ambalajlama (MAP) kullanımı mikrobiyal bozulmanın daha güçlü ve daha başarılı bir şekilde kontrol edilmesine neden olmakta ve oksidatif bozulmaya ekstra bir engel oluşturmaktadır (Kerry ve Tyuftin 2017).

Modifiye atmosfer ambalajlama (MAP), kaptan havanın çıkarılmasını ve tek bir gaz veya gaz karışımı ile değiştirilmesini içeren bir ambalajlama sistemidir. Ambalaj içerisinde ürünün bulunduğu atmosferden gaz alışverişi yapması, biyokimyasal değişiklikler ve ambalajlama materyalinden gaz geçişi oluşması nedeniyle depolama sırasında ambalaj içerisindeki atmosfer sürekli değişir (Parry 1993). Vakum ambalajlama da (VP) bir tür

MAP sistemidir, çünkü etin bulunduğu poşet içerisindeki hava çıkarılır ve değiştirilmez. Et, düşük oksijen geçirgenliğine sahip bir pakete yerleştirilir, hava boşaltılır ve ambalaj kapatılır (Church 1998).

2.2.1 Gıdalarda Ambalajlama ve Vakum Ambalajlama

Gıdaların ambalajlanmasının amacı hem kaliteyi korumak hem de üretimden tüketime kadar gıdaların raf ömrünü arttırmaktır. Ambalajlama sistemleri ürünü fiziksel, kimyasal ve biyolojik zararlara karşı koruyucu bir faktör olarak kullanılmaktadır (Cutter 2006). Taze etin ambalajlanmasında ise üretici ve tüketiciler açısından en önemli avantajlar; mikrobiyal kontaminasyonu önlemesi, bozulmanın ve etin aşırı yumuşamasına neden olan bazı enzimlerin aktivitesinin geciktirilmesi, kütle kaybının önlenmesi ve aynı zamanda kırmızı ette istenilen kırmızı rengi ortaya çıkaran oksimiyoglobin pigmentinin oluşmasıdır. Etin ambalajlanmasında eğer et ambalaj içerisinde oksijen ile temas ederse etteki yağların okside olma riski artar ve bu durum taze et için önemli bir kriter olan renk ve kokunun değişmesine neden olabilir (Kerry vd. 2006). Günümüzde, vakum ambalajlama taze etin korunmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Kerry vd. 2002). Vakum ambalajlama sisteminin en önemli özelliği ambalajlama işleminde oksijen miktarının sınırlandırılması, bunun sonucunda ette bakteri üremesinin ve bozulma faktörlerinin azaltılmasıdır. Vakum ambalajlama, paketten havanın uzaklaştırıldığı ve yerine farklı atmosferin kullanılmadığı modifiye atmosfer ambalajlama türüdür (İbrahim vd. 2008).

Oksijen et ürünlerinin kokusunu, rengini ve görünümünü değiştirebilen, yağların oksidatif acılaşmasına neden olan, et pigmentlerini değiştirebilen, vitamin ve tatları yok edebilen aerobik mikroorganizmaların çoğalmasını kolaylaştıran bir etkendir (Hernández-Macedo vd. 2011).

Vakum ambalajlanmış etler genellikle düşük sıcaklıklarda uzun bir raf ömrüne sahiptir (Labadie 1999). Oksijen geçirgenliği yüksek filmlerle ambalajlanan etin raf ömrü yaklaşık bir hafta iken, vakum ambalajlı etin raf ömrü 0°C' de saklandığında yaklaşık 3 ila 12 haftadır. Düşük sıcaklıklar etin saklama süresini uzatır; ancak ürünün donmadan

muhafaza edilebileceği en düşük sıcaklık -1.5 °C dir. Artan raf ömrüne rağmen, vakum ambalajlı etler de bir süre sonra bozulmaktadır (Hernández-Macedo vd. 2011).

Vakum ambalajlı ve soğutulmuş ette bulunan bazı mikroorganizmalar; *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Carnobacterium spp.* ve *B. thermosphacta* *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Rahnella*, *Clostridium*, *C. estertheticum*, *C. laramiense* *C. frigidicarnis*, *C. gasigenes* ve *C. algidixylanolyticum* olarak sayılabilir (Brightwell vd. 2007, Spring vd. 2003).

B. thermosphacta, soğutulmuş etlerin bozulmasında önemli rol oynar. Substrat olarak glikozu tercih eder (Gill ve Newton 1977). Anaerobik koşullarda, glikoz bu mikroorganizma tarafından esas olarak laktik aside metabolize edilir. Oksijen varlığında ana ürünler, bazı peynirlerde de bulunan ve ter kokusuna benzer kokuya neden olan asetoin ve diasetildir. Bu nedenle, bu bakterinin aerobik metabolizması genelde laktik asit ve etanol ile sonuçlanan anaerobik metabolizmadan daha önemlidir (Pin vd. 2002).

Vakum ambalajlamadan hemen sonra, laktik asit bakteri popülasyonu genellikle tespit sınırının (10 kob/g) altındadır, ancak depolama sırasında artar (Jones 2004). Laktik asit bakterileri, ette bulunan glikoz ve diğer substratları fermente eder. Bu substratlar tükendiğinde, büyüme genellikle durur ve popülasyon 8 log kob/cm²' ye ulaşır. Laktik asit bakterilerinin çoğunun metabolik ürünleri ette kalır ve ürüne hafif asidik tat verir (Hernández-Macedo vd. 2011). Ancak genelde *L. curvatus* ve *L. sakei* gibi türlerin oluşturduğu metabolitlerin ürünü bozduğu düşünülmez, çünkü bu mikroorganizmalar tarafından üretilen uçucu yağ asitlerinin kokusu, ambalajı açtıktan sonra kaybolur (Ray 2002).

2.2.2 Vakum ambalajlı etlerde bozulma

Vakum ambalajlı etlerde, psikrotrofik fakültatif anaerobik ve anaerobik bakteriler çoğalabilir ve farklı türde bozulmalara neden olabilir (Ray 2002). Vakum ambalajlı etlerin başlangıç mikrobiotasını genellikle mezofilik bakteriler oluşturur (Brightwell vd.

2009). Saklama koşulları genellikle vakum ambalajlı ürünlerde laktik asit bakterilerinin çoğalması için elverişlidir. Bununla birlikte, *B. thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, ve *Shewanella putrefaciens* gibi psikrotrofik bakteriler de önemli ölçüde çoğalır ve etin bozulmasına neden olur (Dainty ve Mackey 1992).

B. thermosphacta, gıda kaynaklı önemli bir patojen olan *Listeria monocytogenes* ile akrabadır ve *Brochothrix*, *Listeria* familyasının ikinci önemli cinsidir (Stanborough vd. 2017). Bu bakteri, düşük O₂ ve vakum ambalajlı soğutulmuş et ve balıkta çoğalabilen Gram-pozitif, fermantatif ve fakültatif anaerobdur (Borch vd. 1996, Ercoliniet vd. 2006). Ayrıca, yüksek tuz konsantrasyonuna ve düşük pH değerine tolerans gösterir ve ürettiği metabolitler ürünün organoleptik özelliklerini olumsuz etkileyen kötü koku oluşumuna neden olur. Bu nedenle *B. thermosphacta* gıda endüstrisinde ciddi ekonomik kayıplara yol açar. Bu bakteri substrat olarak glukozu tercih eder. Anaerobik şartlarda glukoz bu organizma tarafından başlıca laktik aside ve etanole metabolize olur. Oksijen varlığında ise başlıca oluşturduğu ürün asetoin ve diasetildir. Bu bileşikler ette ter kokusu oluşturur (Holley vd. 2004, Pin vd. 2002). Örneğin sığır etinde, 3-hidroksi-2-butanon (asetoin), 2,3-butanedion (diasetil) ve 3-metil 1-butano üretimi ile ilişkili peynirimsi kötü kokuları ürettiği gösterilmiştir. (Casaburi vd. 2014, Dainty ve Mackey 1992). *B. thermosphacta* vakum ambalajda gaz oluşumuna bağlı şişmeye neden olmaz (Hernandez-Macedo vd. 2011).

Enterobacteriaceae familyası vakum ambalajlı etlerde bozulma nedeni bakterileri içermektedir. Bu bakteriler, Gram-negatif fakültatif anaerobdurlar (Doyle 2007). Bu familyada yer alan özellikle *Serratia*, *Enterobacter* ve *Hafnia* yüksek pH'ya sahip, vakum ambalajlı taze etlerde başlıca bozulma nedenidirler. Bu organizmalar organik asitler, hidrojen sülfür üretirler; ette kötü koku gelişmesinden ve etin yeşillenmesinden sorumludurlar, ancak gaz üretmezler (Brightwell vd. 2007). Vakum ambalajlanmış ette bu bakterinin çoğalması genellikle pH değeri 5.8'den yüksek olan ürünlerle sınırlıdır ve 6°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda daha fazla çoğalırlar (Gill 2004, Hernández-Macedo vd. 2011). Vakum ambalajlı ette çoğalan *Enterobacteriaceae* türleri (*Serratia liquefaciens*, *Hafnia* spp.) 0 ile 10°C arasındaki sıcaklıklarda çoğalabilir. (Labadie 1999). *Enterobacteriaceae*, 6°C' nin üzerindeki sıcaklıklarda, amino asitleri dekarboksile ederek

organik aminler oluşturular. Bu bileşikler kokuşmuş tat ve kokunun nedenidirler. Hidrojen sülfid ve organik sülfidler üretmek için tercihen sistein kullanan *S. putrefaciens*, bu koşullarda çoğalabilir ve bozulmaya katkıda bulunur. Sülfürlerin hoş olmayan bir kokusu vardır ve miyoglobini ile reaksiyona girerek etin yeşillenmesine neden olurlar (Hernández-Macedo vd. 2011).

Vakum ambalajlı, soğukta depolanan ette *Enterobacteriaceae*'nin varlığı hem yüksek bozulma potansiyeli hem de bazı türleri patojen olduğu için gıda güvenliği tehdidi oluşturması nedeniyle önemlidir. *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* ve *Hafnia* gibi fakültatif anaerobik bakteriler amino asitleri metabolize ederek aminler, amonyak, dimetilsülfid üretir ve etin çürümesine neden olur. Amin ve amonyak üretimi nedeniyle et pH' sını alkali hale gelir ve pembeden kırmızımsı bir renge neden olur (Ray 2000).

Vakum ambalajlı etler LAB için de elverişli bir ortamdır. LAB, hem çubuk, hem kok şeklinde, Gram-pozitif, fakültatif anaerobdurlar. Tipik LAB cinsleri *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*'dur. Düşük pH'lara diğer bozulma yapan bakterilerden daha dayanıklıdır. Aerob bozulma yapan mikroorganizmaların çoğalması engellendiğinde (vakum ya da MAP ile) ette LAB dominant hale gelir (Walker 2003). Vakum ambalajlı ve soğukta depolanan taze etlerde psikrotrofik LAB'nin varlığı genellikle raf ömrünü iyileştirir. Bu organizmaların eti bozması tatta ekşime ile olur, ancak diğer bazı spesifik bozulma şekilleri de vardır. Bazı LAB türleri yüzeyde sümüksü yapı oluşturur ve kürlenmiş etlerde yeşil renk oluşumundan sorumludurlar. Bazı türler ise hidrojen peroksit oluşturur (Egan 1983).

Laktik asit bakterileri, sisteinden hidrojen sülfür (H_2S) ürettiklerinde hoş olmayan bir koku ve renk üretirler. Hidrojen sülfür (H_2S), miyoglobini metmiyoglobine oksitleyerek ete yeşil bir renk verir. Bununla birlikte LAB'nin zayıf proteolitik özellik göstermesi nedeniyle fazla miktarda aminleri ve sülfidleri üretmezler, bu nedenle vakum ambalajlı ette çok kötü bir etki yapmazlar. Laktik asit bakterilerinin heterofermentatif türleri laktik asit ve CO_2 üretirler, bu da poşette gaz ve sıvı birikmesine yol açar (Ray ve Bhunia 2008). Vakum ambalajlı ette 1 ile 5 °C arasında CO_2 birikmesine neden olan laktik asit bakterilerine bir örnek *Leuconostoc carnosum*'dur (Balow 1992). Bazı laktik asit

bakterileri et kalitesine diğerlerine göre daha fazla zarar verirler. Modifiye edilmiş atmosferde uzun süreli depolama sırasında, bazı heterofermentatif suşlar, ürünün raf ömrünü azaltan butirik asit ve etanol gibi fermantasyon ürünleri üretir (Hernández-Macedo vd. 2011).

Bununla birlikte, *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* gibi bakteriler, vakum ambalajlı ette çoğalabildiği ve soğutma sıcaklıklarında bozulmaya ve ambalajın gerilmesine (gaz oluşumu) neden olduğu bilinmektedir (Brightwell vd. 2007). Bu mikroorganizmalar birçok çalışmaya konu olmuştur. Soğutma sıcaklıklarında çoğalabilen *Clostridium* türleri, ambalaj içerisinde gaz oluşturarak vakum ambalajların şişmesine neden olan etkenler olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda, bazı *Enterobacteriaceae* türlerinin de aynı soruna neden olduğu gösterilmiştir (Brightwell vd. 2007, Broda vd. 1996). Psikrofilik *Clostridium*' un neden olduğu bozulma, proteoliz, doku kaybı, ambalajlarda sıvı birikmesi ve başta hidrojen sülfür (H₂S) gazı olmak üzere hoş olmayan koku oluşumu ile sonuçlanır (Ray ve Bhunia 2008).

2.3 Biyokoruyucu Kültürler

Dünyanın hızla artan nüfusu, gıda üretimini artırmak için gıda endüstrisi üzerinde büyük bir baskı oluşturmaktadır. Bu, maalesef halk sağlığı, ticaret ve ekonomik büyüme üzerinde olumsuz etkileri olacak gıda güvenliği sorunlarına yol açmaktadır. Bu nedenle, gıda güvenliğini sağlamanın önemi her geçen gün artmaktadır. Bu doğrultuda, gıda endüstrilerinde patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek, gıda raf ömrünü uzatmak ve ekonomik kayıpları önlemek için gıdalarda kimyasal koruyucuların yaygın kullanımı gibi çeşitli önlemler alınmıştır. Bununla birlikte, birkaç çalışma, bu kimyasal gıda koruyucularının toksikolojik problemler ve hastalıklarla (alerjik reaksiyonlar, kalp hastalığı, nörolojik problemler ve kanserler) bağlantılı olduğunu göstermiştir (Ben Braiek vd. 2020). Bu nedenle, kimyasal koruyucuların tüketiciler ve çevre için daha güvenli olan doğal alternatiflerle değiştirilmesine olan ilgi son on yılda artmıştır (Sharma 2015). Nitekim, günümüzde dünya çapında tüketici sağlık konusunda daha bilinçli ve yapay koruyucu içermeyen, biyokoruyucuların kullanıldığı gıdaların tüketimi tercih edilmektedir (Ben Braiek vd., 2020).

Biyokoruma, biyolojik ajanların kullanımıyla gıdanın korunması ya da mikroorganizmalar ve metabolitleri kullanılarak gıdaların raf ömrünün uzatılması ve gıda güvenliğinin iyileştirilmesi olarak ifade edilir (Ross vd. 2002). Gıda üretiminde, minimum seviyede işlem uygulanması buna ek olarak da doğal katkı maddelerinin tercih edilmesi gıda güvenliğinin sağlanması için önemlidir. Bu amaçla antagonistik mikroorganizmaların ve bunların antimikrobiyal metabolitlerinin kullanılması ile gıdalarda bozulmaya sebep olan bakterilerin inhibisyonuna neden olan biyolojik kontrol sistemlerinin kullanılması önerilmektedir. Antimikrobiyal bileşikler, gıda ürünlerinde istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini geciktirme kabiliyetleri nedeniyle gıdalarda kullanılmaktadır (Barman vd. 2018, Elayaraja vd. 2014). Bu bileşikleri üreten Gram-pozitif ve Gram -negatif bakterilerin sayısı oldukça yüksek olmasına rağmen gıdaların biyokontrolü için LAB' nin ayrı bir önemi vardır (Kurt ve Zorba 2005).

Gıdaların duyuşal özelliklerini mümkün olduğunca az değiştirirken patojenlerin çoğalmasını engellemek ve / veya raf ömrünü uzatmak için gıdalara eklenen antagonistik kùltürlere koruyucu kùltürler denir (Lücke 2000). Biyokoruyucu kùltür ise gıdaların bozulmasına neden olan, gıdaların raf ömrünü azaltan patojenlerin çoğalmasını engelleyen ve bu işlemleri gıdaların organoleptik özelliklerinde değişiklik olmadan gerçekleştiren mikroorganizmalar olarak ifade edilir (Kuleşan 2002).

Bu mikroorganizmaların en bilinenleri ise LAB'lar olup Gram -pozitif bakterilerdir. Beslenme sonucu son üründe laktik asit ürettikleri için bu ad ile anılırlar. Bu mikroorganizmalar kok ya da çubuk şekline sahip olup, spor oluşumu olmayan hareketsiz canlılardır. Canlılığını devam ettirmek için amonyum, glikoz ve bunlara ek olarak vitamin, amino asit tüketen bu mikroorganizmalar nitratı indirgeyemezler. Asidik ortamlara dayanıklı olan bu canlılar katalaz negatif ya da mikroaerofilik anaerobdurlar (Lahtinen vd. 2011, Öksüztepe vd. 2005).

Biyokoruyucu etkisi olan birçok türde mikroorganizma olmasına rağmen bunların neredeyse tamamı LAB'dir (Ross vd. 2002). Biyokoruyucu kùltür olarak bilinen ve en çok kullanılan laktik asit bakterileri; *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*,

Melisococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Streptococcus ve *Weisella'* dır (Öksüztepe vd. 2005).

LAB' leri etkili bir biyokoruma potansiyeline ve inhibe edici etkiye sahiptir. Bunun sebebi ise depolama sırasında doğal olarak birçok gıdanın mikrobiyotasına hâkim olmasıdır. Ayrıca besin tüketiminde patojen mikroorganizmalara karşı rakabetçi bir özelliğe sahip olması ve bakteriyosin, organik asit, hidrojen peroksit, enzimler gibi bileşikler üretebilme kabiliyetinin olmasıdır. Bunlara ek olarak LAB tarafından üretilen antimikrobiyal peptitler, sindirim proteazları tarafından kolayca parçalanabilir ve bu nedenle bağırsak mikrobiyota rahatsızlığı oluşturmazlar (Castellano vd. 2008).

Gıda işletmecileri, uzun raf ömrüne sahip güvenli yiyecekler talep eden, ancak aynı zamanda ısı ve donma nedeniyle daha az zarar görmüş ve kimyasal koruyucu içermeyen minimum düzeyde işlenmiş ürünleri tercih eden tüketicilerle karşı karşıyadır. Bu nedenle, biyokoruyucu olan ve LAB' leri tarafından üretilen bakteriyosinler, çözümün en azından bir kısmını sağlamak için alternatif bir seçenek olarak görünmektedir (Castellano vd. 2008).

2.3.1 Bakteriyosinler

Bakteriyosinler, bazı LAB'nin ribozomlarında sentezlenen amino asitlerden oluşan, geleneksel antimikrobiyallere dirençli patojenik mikroorganizmaların büyümesini engellemek için hücre dışı olarak salınan antibakteriyal peptitler ya da proteinlerdir (Radaic vd. 2020, Wang vd. 2019). Ayrıca bakteriyosinler, biyokoruyucu olarak kullanılması, sindirim sistemine ve sağlığa faydalı olan çok yönlü antimikrobiyallerdir (O'Connor vd. 2020). Bakteriyosinler resmi olarak ilk defa 1951 yılında gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılmış olsalar da insanlar tarafından 8000 yıldır (fermente gıdaların üretilmesi ve peynirin kullanılmasından beri) bilinmeden bakteriyosinlerden yararlanılmıştır. Bazı laktokok türlerinin diğer laktik asit bakterileri inhibe ettikleri 1928 yılında tespit edilmiştir. Yeni Zelanda'da protein yapısında bir madde 1933 yılında tanımlanmış ve bu madde nisin olarak 1947 yılında isimlendirilmiştir. Nisin ticari olarak ilk defa İngiltere'de 1953 yılında satışı sunulmuş ve günümüzde yaklaşık olarak 50

ülkede kullanılmaktadır. Nisin, E234 olarak Avrupa gıda katkıları listesine 1983 yılında eklenmiştir (Cotter vd. 2005).

Nisin ve Natamisin (Pimarisin), GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) bakteriyosinlerdendir (Zou vd. 2018). Nisin biyokimyasal ve genetik yönden gıda endüstrisinde çalışılan bakteriyosinler içerisinde en çok araştırma yapılanıdır. Nisin, antimikrobial bir madde olup, polipeptit yapıda, modifiye edilmiş sütün fermantasyonu ile oluşan ve asidik özellik gösteren bir bakteriyosindir. Sıcaklığa pH 3- 7 arasında daha fazla dayanıklılık gösterir. Gram -pozitif bakterilerin ve bazı spor üreten bakterilerin bir kısmına karşı etkili olmasına rağmen küf, maya ve Gram -negatif bakterilere karşı etkili değildir. Nisinin etkili olduğu bakterilere örnek olarak, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* ve sporlu bakterilerden *Bacillus* ve *Clostridium* cinsleri örnek verilebilir (Ünlütürk ve Turantaş 1998).

Bakteriyosinler dünya çapında koruma amaçlı gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Bu bakteriyosinlerden bir kısmı Çizelge 2.3 de görülmektedir (Zou vd. 2018).

Çizelge 2.3 GRAS bakteriyosinler ve üretici mikroorganizmaları (Strack vd. 2020)

Bakteriyosin	Mikroorganizma	Referans
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i> 6F3	Kaletta ve Entian, (1989)
Nisin F	<i>Lactococcus lactis</i> F10	Kwaadsteniet vd. (2008)
Nisin H	<i>Streptococcus hyointestinalis</i> DPC6484	O' Connor vd. (2015a)
NisinQ	<i>Lactococcus lactis</i> 61-14	Zendo vd. (2003)
Nisin U	<i>Streptococcus uberis</i> 42	Wirawan vd. (2006)
Nisin U2	<i>Streptococcus agalactiae</i> D536	Piper vd. (2011)
Nisin Z	<i>Lactococcus lactis</i> NIZO 22186	Mulders vd. (1991)
Natamycin/Pimaricin	<i>Streptomyces natalensis</i>	Struyk vd. (1958)

Antibiyotiklerin dirençli suşlara olan etkinliğinin azalmasıyla ve antimikrobiyal peptitler nispeten basit sentez ve modifikasyon yöntemlerinden dolayı benzersiz etki mekanizmalarına sahip olduğundan, bu peptitler üzerine yapılan araştırmalar alternatif uygulamalar olarak önem kazanmıştır. Ayrıca geleneksel antibiyotikler gibi yaygın kullanılmadıkları için bu mikroorganizmalara direnç henüz oluşmamıştır (Hancock ve Sahl 2006).

Geleneksel antibiyotiklere dirençli suşlara karşı yapılan çalışmalara göre; *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* gibi suşlara karşı antimikrobiyal peptitler etkili olarak karakterize edilmiştir (Menousek vd. 2012, Vila-Farres vd. 2012, Wu vd. 2011). LAB tarafından üretilen bakteriyosinler gıda koruyucu özelliği yüksek olması sebebiyle en iyi incelenmiş bakteriyosin grubudur. *Lactobacillus* ise LAB arasında bakteriyosin konusunda en çok çalışılan cinstir ve bazı suşları birden fazla bakteriyosin üretebilir (Mills vd. 2017, Uroić vd. 2016).

LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin gıda muhafazası için uygun hale getiren bazı özellikleri vardır. Bunlar; genellikle güvenli olarak kabul edilmeleri, ökaryotik hücreler üzerinde aktif ve toksik olmaması, bağırsak mikrobiyotası üzerinde çok az etkiye sahip olan sindirim proteazları tarafından inaktive edilmeleri, genellikle pH ve ısıya toleranslı olmaları, gıda kaynaklı birçok patojenik ve bozulmaya neden olan bakteriye karşı nispeten geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olmaları, bakteriyel sitoplazmik membrana etki eden bakterisidal bir etki modu göstermeleri, antibiyotiklerle çapraz dirençlerinin olmaması olarak sıralanabilir (Gálvez vd. 2007). Çizelge 2.4 de, LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin farklı gıda türlerinde uygulanmasını içeren bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlar özetlemektedir (Strack vd. 2020).

Bakteriyosinler farklı etki mekanizmalarına sahiptirler. Bazıları gözenek oluşumu yoluyla hedef mikroorganizmanın hücre zarının geçirgenliğini artırma yeteneğine sahiptir, aynı zamanda hücre duvarı sentezini de önleyebilirler. Bazıları bakterinin sitoplazmasına nüfuz etmeyi ve DNA veya RNA'yı ayırmayı başarırlar. Bazı

bakteriyosinler ise hücre zarına nüfuz edebilir ve hücre ölümüne neden olan peptidoglikan öncüllerini sindirebilirler (Radaic vd. 2020, Sun vd. 2018).

Çizelge 2.4 Bakteriyosinlerin gıda ürünlerindeki uygulamaları (Strack vd. 2020).

Bakteriyosin Kaynağı	Gıda	Sonuç	Kaynak
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Çiğ Sığır Eti	Etin raf ömründe artış	Trabelsi vd. (2019)
<i>Lactococcus lactis</i>	Kurutulmuş sığır eti	Bozulmanın azaltılması	Biscola vd. (2014)
<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Lactobacillus sakei</i> <i>Staphylococcus xylosum</i>	Domuz sosisi	Kimyasal koruyuculardan daha iyi koruma	Wang vd. (2016)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Pişmiş domuz eti	<i>Listeria monocytogenes</i> ' in inhibisyonu	Rivas (2014)
<i>Lactobacillus sakei</i>	Salam	<i>Listeria monocytogenes</i> ' in inhibisyonu	Barbosa vd. (2018)
<i>Weissella hellenica</i>	Balık fileto	Bazı bakterilerin inhibisyonu	Woraprayote vd. 2018
<i>Enterococcus mundtii</i>	Balık	Gram -pozitif bakterilerin inhibisyonu	Schelegueda vd. (2015)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	Balık	<i>Listeria</i> , koliform ve mezofilik bakterilerin inhibisyonu	Gomez-Sala vd. (2016)
<i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	Balık	Balığın raf ömrünü artırır	Sudalayandi (2011)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Balık fileto	Bazı bakterilerin inhibisyonu	Angiolillo vd. (2018)

Bakteriyosinlerin inhibe edici aktivite aralığı dardır ve yalnızca üretici organizma ile yakından ilişkili suşları inhibe edebilir ya da geniş bir Gram-pozitif mikroorganizma yelpazesini inhibe edebilir (Field vd. 2018). Amfibilik özelliklerinin ve hidrofobik amino asitleri fazla miktarda içermelerinin bir sonucu olarak, bakteriyosinlerin biyosentezi ve antimikrobiyal işlevselliği, gıda matrisinin bileşenlerinden etkilenebilir (Barbosa vd.

2015). Genel kabul ise, bir patojenin kontrolüne en iyi uyum sağlayan bakteriyosinin genellikle aynı ortamda bulunacağı yönündedir (O'Connor vd. 2015b).

Biyokoruma için kullanılan bakteriyosinler gıdaya üç şekilde dahil edilebilir. Birincisi bakterilerin gıdaya inoküle edilmesi, ikincisi gıdaya saflaştırılmış veya kısmen saflaştırılmış bakteriyosinlerin eklenmesi, üçüncüsü ise bakteriyosin üretici suşlar tarafından fermente edilmiş bir bileşenin eklenmesidir (Ahmad vd. 2017, Barbosa vd. 2018, Chikindas vd. 2018).

Gıdaya eklenme şekline bakılmaksızın, bakteriyosinlerin biyokoruyucu olarak etkinliği, optimal biyosenteze, antimikrobiyal aktivitenin düzeyine, özgünlüğüne ve gıda matrisindeki bileşenlerle etkileşime bağlıdır (Barbosa vd. 2018). Antimikrobiyal bileşiklerin gıda sistemlerine doğrudan uygulanması, suda çözünürlük, fiziksel ve kimyasal bozulma ve gıdanın organoleptik özellikleri olumsuz etkileme gibi istenmeyen etkilere neden olur (Fu vd. 2016). Gıdalara eklenen bakteriyosinlerin, aynı zamanda test edilen, işlevselliğini ve tüketilmeden önce muhafaza edildikleri sıcaklık koşullarını değerlendirmek gerekir (Strack vd. 2020).

Kültür ortamında elde edilen verilerin gıda sistemlerinde elde edilenlerle karşılaştırılması, bakteriyosinlerin etkinliğinin genellikle daha sonra çok daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır (Schillinger vd. 1996). Eşdeğer bir engelleyici etki elde etmek için bazen gıdalara kültür ortamındaki konsantrasyonun en az on katı daha yüksek bakteriyosin konsantrasyonları eklenmelidir. Bakteriyosinlerin gıdalardaki etkinliği büyük ölçüde gıda bileşenleri ile etkileşimi veya gıda matrisindeki bakteriyosin moleküllerinin eşit olmayan dağılımını içeren bir dizi gıda ile ilgili faktöre bağlıdır (Aasen vd. 2003, Henning vd. 1986, Jung vd. 1992). Bu faktörler Çizelge 2.5 de sıralanmıştır.

Çizelge 2.5 Gıdalarda bakteriyosinlerin etkinliğini sınırlayıcı faktörler (Gálvez vd. 2007)

1-Gıda ile ilgili faktörler
-Gıda işleme koşulları -Gıda depolama sıcaklığı -Gıdanın pH'ı ve bakteriyosinin pH değişikliklerine karşı stabilitesi -Bakteriyosinlerin gıda enzimleri tarafından inaktive edilmesi -Gıda katkı maddeleri / bileşenleri ile etkileşim -Bakteriyosin gıda bileşenlerine adsorpsiyonu -Gıda matrisinde düşük çözünürlük ve eşit olmayan dağılım -Gıda depolama süresi boyunca sınırlı bakteriyosin stabilitesi
2-Gıda mikrobiyotası
-Mikrobiyal yük -Mikrobiyal çeşitlilik -Bakteriyosin duyarlılığı -Gıda sistemindeki mikrobiyal etkileşimler
3-Hedef bakteri
- Mikrobiyal yük -Bakteriyosin duyarlılığı (Gram tipi, cins, türler, suşlar) -Fizyolojik evre -Fizikokimyasal bariyerler ile koruma (mikrokoloniler, biyofilmler, sümüksü madde)

Engel teknolojisi kavramı, mikroorganizmaların birden çok antimikrobiyal faktörle karşılaştıklarında hayatta kalmalarının büyük ölçüde azaldığı gözleminde sonra rasyonel bir şekilde gıda endüstrisinde uygulanmaya başlanmıştır (Leistner 2000, Leistner ve Gorris 1995). Bir bakteri popülasyonunun tek bir antimikrobiyal faktöre maruz kalmasından sonra, antimikrobiyal faktör yoğunluğuna ve diğer birçok faktöre bağlı olarak genellikle heterojen bir etkilenme oluşur. Popülasyonun bir kısmı, ölümcül bir antimikrobiyal faktör dozu alabilir ve bu da hücre ölümüne yol açar. Ancak kalan kısım birkaç nedenden dolayı hayatta kalabilir. Bu nedenler; ölümcül olmayan bir doz almak, fizyolojik durum nedeniyle direnç gösterme (örneğin, stasyonier faz hücreleri veya diğer olumsuz çevresel koşullara yanıt olarak zaten stresli hücreler), antimikrobiyal maddeye doğal olarak dirençli hücreler olarak sıralanabilir. Ölümcül olmayan etkide hasar görmüş hücreler ve aynı zamanda direnci artan hücreler, antimikrobiyal ajanın neden olduğu hasarı onarabilir ve hayatta kalabilir. Bu da onları belirli antimikrobiyal faktörlere karşı bağışıklık kazandıracak direnç veya adaptasyon mekanizmaları geliştirmek için iyi bir fırsattır.

Bunun tersine, hücreler antimikrobiyal faktörlerin bir kombinasyonuna maruz bırakıldığında, bazı antimikrobiyal faktörler aynı hücresel hedefe etki edebileceğinden hasar yoğunluğu daha yüksek olur. Birden fazla hasarın onarımı çok daha yüksek enerji gerektirir ve bu da enerji tükenmesine ve hücre ölümüne yol açar. Bu nedenle, birden fazla engelle karşılaşılan hücrelerin hayatta kalma ve çoğalma olasılıkları çok düşüktür. Ayrıca, farklı antimikrobiyal faktörler arasındaki sinerji, bireysel uygulamalarına kıyasla daha düşük dozların kullanılmasına neden olur (Gálvez vd. 2007).

Sakasin grubu bakteriyosinler (sınıf II bakteriyosinler) belirli *L.sakei* suşları tarafından üretilen bakteriyosinler grubudur. İlk tanımlanan sakasin, çiğ etten izole edilen *L.sakei* L 706 tarafından üretilen sakasin A'dır. O zamandan beri birçoğu çiğ etten izole edilen çeşitli *L.sakei* suşlarından özellikleri ortaya konulan birçok sakasin tanımlanmıştır. Bunlara örnek sakasin M, sakasin P, sakasin 674, sakasin B ve sakasin K verilebilir. Fakat henüz ticari olarak kullanılan bir ürün yoktur (Strack vd. 2020).

Sakasin nisin ve pediosin gibi, Gram-pozitif bakterilerin ve belirli koşullar altında Gram-negatif bakterilerin sitoplazmik membranlarına doğrudan etki eder. Nisin ve pediosin ile karşılaştırıldığında sakasin, nisbeten dar bir antibakteriyal spektruma sahiptir. Özellikle *Lactobacillus* spp. suşlarına ve önemli düzeyde *Listeria* spp. organizmalarına karşı etkilidir. Yasal olarak sakasinin saflaştırılmış preparatlarının kullanımı onaylanmamıştır. Bu nedenle sakasin üretme kabiliyetine sahip koruyucu kültürlerin kullanımı ilgi çekmektedir (Baines ve Seal 2012).

2.4 Biyokoruyucu Kültürlerin Çiğ Ette Kullanılmaları

Soğutulmuş ortamda aerobik olarak depolanan çiğ et, Gram-negatif bakteriler tarafından ağırlıklı olarak da psödomonaslar tarafından bozulurlar. Bu koşullar altında laktik asit bakterileri de zayıf bir şekilde rekabet eder. Bu nedenle, bu tür etlerin raf ömrü üzerinde bir etki gözlemlemek için yüksek düzeyde LAB inokülasyonu gereklidir. (Lücke ve Earnshaw 1991)

Bakteriyosinogenik *L. sakei* suşu çiğ ete inoküle edildiğinde *L. monocytogenes* miktarında 1-2 log azalma olduğu tespit edilmiştir (Hugas vd. 1998). Psikrotrofik laktik asit bakterileri, pH 5.6 – 5.8 olan ette *L. monocytogenes*'in kontrolüne katkıda bulunabilir. (Gouet vd. 1978, Lücke 2000).

Vakum ambalajlanmış ve soğutulmuş et üzerindeki mikroflorada Gram -pozitif psikrotrofik bakteriler hakimdir. Bu bakteriler, psikrotrofik laktik asit bakteri suşlarının inokülasyonundan etkilenebilir (Lücke, 2000). Bu yöntemle, amino asitleri sülfidler veya biyogenik aminler gibi istenmeyen bileşiklere indirgeyen diğer laktik asit bakterilerini baskılamak mümkündür (Leisner vd. 1996). *Leuconostoc gelidum*' un bakteriyosin oluşturan bir suşu, etin duyuşal özellikleri üzerinde çok az etkisi olduğu için aerobik koşullar altında bile bu amaç için özellikle uygun olduğu kanıtlanmıştır (Leisner vd. 1996, Leisner vd. 1995). Vakum ambalajlanmış kıymanın depolanması sırasında *L. sakei* “FloraCarn L-2” tarafından *L. monocytogenes* sayısında yaklaşık 2 log azalma gözlemlenmiştir (Juven vd. 1998).

Biyokoruyucu kültür olarak *L. curvatus* ve beraberinde lactocin 705, lactocin AL705' in 2 °C' de inkübe edilen taze et dilimlerinde *Listeria innocua*, *B. thermosphacta* ve ette doğal olarak bulunan LAB'nin gelişiminin kontrol edildiği çalışmada, düşük sıcaklık ve vakum ambalajlama ile temsil edilen engele ek olarak, biyokoruyucu kültür *L. curvatus* CRL705'in yanı sıra bakteriyosin 705 ve AL705'in taze ette kullanılmasının mikrobiyolojik güvenilirliği sağlayacağı sonucuna varılmıştır. Dahası, *L. curvatus* CRL705'in canlı hücrelerinin kullanımı, saflaştırılmış bakteriyosinlerin eklenmesine kıyasla ekonomik açıdan ve yasal kısıtlamalar olmaksızın daha uygun olacağı bildirilmiştir (Castellano ve Vignolo 2006).

Yapılan başka bir çalışmada, sığır eti bifteklerine, bakteriyosinogenik *L. sakei* CTC 372 ve karakterize edilmemiş *Lactobacillus* CTC 711 inoküle edilmiş ve modifiye atmosfer ambalajlama (MAP) yapılarak depolanmıştır. Etin LAB ile inokülasyonu sonucu bozulmaya sebep olan bakterilerinin çoğalmasını inhibe ettiği tespit edilmiştir. CO₂ atmosferi altındaki sığır bifteğinin *L. Sakei* CTC 372 ile inokülasyonu *Pseudomonas* spp. ve *B.thermosphacta* sayılarında azalmaya sebep olmuştur. 28 gün boyunca CO₂

atmosferde depolama sonucu, inokülasyon yapılmamış biftek ile kıyaslandığında mikrobiyal gelişmeyi yaklaşık 10 gün geciktirdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Pseudomonas* spp. LAB' nin her iki koruyucu suşuna karşı en savunmasız grup olarak görünmüştür. Ayrıca MAP, koruyucu suşlarla inokülasyonu veya her ikisinin kombinasyonu şeklinde inokülasyonu metmiyogloblin ve kötü koku oluşumuna etki edemediği tespit edilmiştir (Djenane vd. 2005).

L. sakei ve *L. curvatus* 'un ayrı ayrı biyokoruyucu kültürler olarak vakum ambalajlanmış sığır etine inoküle edilmesi ve bu inoküle edilen ve inoküle edilmeyen (kontrol) örneklerin mikrobiyal çeşitliliğindeki dinamik değişiklikleri incelemek için yapılan bir araştırmada, ürünler 4 °C de 38 gün boyunca gözlemlenmiştir. Araştırma sonuçları kontrol örnekler ile karşılaştırıldığında, *L. sakei* veya *L. curvatus*'un inokülasyonu sonucu, mikrobiyal çeşitliliğin karmaşıklığının önemli ölçüde azaldığı ve bozulmaya sebep olan bakterilerin çoğalmasını engellediği tespit edilmiştir. Dahası *L. curvatus*'un baskın pozisyonunun *L. curvatus* ile aşılanmış örnekler için 13 gün sonra yerli *L. sakei* ile değiştirildiğini tespit edilmiştir. Sığır etinin *L. sakei* veya *L. curvatus* ile inokülasyonu; *Enterbacteraceae*, *Pseudomonas* spp. ve *B. thermosphacta*, gibi bozulmaya sebep olan bakterilerin canlı sayılarında belirgin azalmaya sebep olduğu ve depolamanın devam etmesiyle *L. sakei*'nin daha büyük bir önleyici etki oluşturduğu ifade edilmiştir. Dahası *L. sakei* inokülasyonu, sığır eti kalite niteliğinde olumlu etki göstermiştir. Bütün bunlara ek olarak ise her iki biyokoruyucu kültür ile inokülasyonun, depolanan etlerin toplam uçucu bazik nitrojen değerlerini de önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Zhang vd. 2018).

L. sakei suşlarının (27, 44 ve 63) depolanmış etin mikroflorasına hakim olduğu, *L. monocytogenes*, *C. jejuni* ve *Clostridium estertheticum*'un gelişimini inhibe ettiği bilinmektedir. Bu tür suşların biyolojik koruma yönteminde kullanılabilmesi için, ürünün genel yeme kalitesinden ödün vermeden depolanan et üzerinde de gelişebilmesi gerekmektedir (Stiles 1996). Yapılan bir çalışmada, üç *L. sakei* suşunun bir kokteyli ile muameleden sonra vakum ambalajlanmış ve soğukta depolanmış kuzu etlerinin mikrobiyolojik profili ve duyuşal değerlendirilmesi incelenmiştir. Çalışma sonucu, 1.2 log kob/g kadar düşük seviyelerde kuzu üzerine inoküle edildiğinde, inhibe edici *L. sakei* suşlarının, pişirilmiş ürünün duyuşal kabulünü azaltmadan, standart ticari soğutulmuş

saklama koşulları altında depolanmış etin dominant bakteri florasını oluşturabildiği gösterilmiştir (Jones vd. 2010).

Bakteriyosin üreten *L. curvatus* CRL705 ve *L. lactis* CRL1109'un Na₂EDTA ile kombine edilerek *Escherichia coli* O157: H7 ile kontamine olmuş dondurulmuş köfte üzerindeki etkinliği, sıcaklığın uygun olmadığı koşullar altında (5 °C, 9 gün boyunca) araştırılmıştır. Bu çalışmada biyokoruyucu kültürlerin (yaklaşık 10⁷ kob /g) ve şelatörün varlığı, 0. günde kontrole kıyasla *E. coli* suşu için (1 log kob/g) azalması ile sonuçlanmıştır (Castellano vd. 2011).

Biyokoruyucu olarak LAB nin kullanıldığı başka bir çalışmada (Castellano vd. 2010); *L. curvatus* CRL705 ile inoküle edilerek, vakum ambalajlanan ve 2 °C' de 60 gün depolanan taze sığır etinin mikrobiyal yükündeki değişim incelenmiştir. Bu amaçla et yüzeyine lactocin 705 and lactocin AL705 üreticisi olan *L. curvatus* CRL705 10⁶ kob/g düzeyinde inoküle edilmiştir. Bu mikroorganizma depolama süreci boyunca doğal olarak ette bulunan ve etin bozulmasına sebep olan LAB ve *B. thermosphacta*'nın çoğalmasını ortamdaki dominant mikroorganizma olarak engellemiştir. Etin mikroyapısal durumu optik mikroskop altında incelenmiş, biyokoruyucu kültür ile inoküle edilen sığır eti örneklerinde, doku degradasyonu 10 günlük bir gecikme ile ortaya çıkmıştır. Ayrıca araştırmada yapılan duyu analizi sonucunda 60 gün 2°C'de depolandıktan sonra istenmeyen tat oluştuğu ancak kötü koku oluşmadığı tespit edilmiştir. Bütün bu sonuçlardan, bakteriyosinli suşla inokülasyon, duyu ve yapısal özelliklerini etkilemeden soğutulmuş vakum ambalajlanmış sığır etinin depolama ömrünü iyileştirmek için ek bir engel sağladığı tespit edilmiştir (Castellano vd. 2010).

Nisin ve *L. acidophilus*'un tek tek ve kombinasyon halinde taze kıyılmış sığır etinin duyu, kimyasal ve bakteriyolojik kalite özellikleri üzerindeki etkisi 4 °C'de soğuk depolama sırasında incelenmiştir. Duyu analizi sonuçları, nisin ve kombinasyon denemesinin kullanımında önemli farklılıklar göstermiştir. Deney sonuçları, ayrı kullanıldıklarında, *Enterobacteriaceae* sayısını ve koliform sayısını, kontrol numuneleri ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalttığını, ancak koruyucu aktivitenin birlikte kullanıldıklarında oldukça arttığını göstermiştir. Nisin ve *L. acidophilus*'un

kombinasyonunun gıdalarda bozulmaya sebep olan yaygın bakterilerin çoğalmasını inhibe etme potansiyelinin, et ürünlerinin biyoprezervasyonu için yeni perspektifler açtığı sonucuna varılmıştır (Amin 2012).

Sparo vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, sığır kıymasına kontamine edilen *E. coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus*, *C. perfringens* ve *L. monocytogenes* gibi farklı patojenlere karşı probiyotik *Enterococcus faecalis* CECT7121'in bakterisit etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, sığır kıymasına eklenen patojenlerin inhibisyonuna *E. faecalis* CECT7121' in etkisinin belirlenmesi için 3 çalışma yapılmıştır. Çalışma 1 de; 100 gr ete 10^3 kob/g patojen ve 10^4 kob/g *E. faecalis* CECT7121 eşzamanlı olarak ilave edilmiştir. Çalışma 2 de; et örneklerine patojenlerden 24 saat önce *E. faecalis* CECT7121 ile inoküle edilmiştir. Çalışma 3 te ise; *E. faecalis* CECT7121, patojenlerden 24 saat sonra inoküle edilmiştir. Canlı sayımlar, inokülasyon sonrası 0, 24, 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir. 1. çalışma, *E. faecalis* CECT7121 ve *E. coli* O157: H7' nin eş zamanlı inokülasyon işleminden 72 saat sonra canlı bakteri sayısını tamamen inhibe etmiştir. Bununla birlikte, *E. faecalis* CECT7121 patojen *E. coli* O157: H7'den 24 saat önce ve 24 saat sonra eklendiğinde, canlı hücreler sırasıyla uygulamadan 24 saat ve 48 saat sonra tespit edilmemiştir. Tutarlı bir şekilde, *E. faecalis* CECT7121 ile inoküle edildiğinde, tüm testlerde 48 saatte ne *S. aureus* ne de *C. perfringens* canlı bakteri sayısı tespit edilmemiştir. *L. monocytogenes* için denenen 3 model uygulandıktan sonra daha önce tarif edilenle aynı eğilim elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *E. faecalis* CECT7121 suşunun, sığır kıymasındaki bakteriyel patojenler üzerindeki bakterisit aktivitesini göstermiştir (Sparo vd. 2013).

Literatür ışığında, özellikle sakasin üretme kabiliyetine sahip *L.sakei* biyokoruyucu kültürler, vakum ambalajlı etlerde bozulma yapan ve patojen mikroorganizmaları inhibe ederek raf ömrünü uzatmak amacıyla giderek önem kazanmaktadırlar (Baines ve Seal 2012).

Üreticiler açısından etin raf ömrünün artırılması ve bunun doğal yollardan sağlanması, hem güvenilir gıdaya ulaşımı kolaylaştırır hem de ekonomik kazancın artmasını sağlar. Vakum ambalajlama etin kontaminasyonunu önleyerek, oluşturduğu sınırlı oksijenli

ortam nedeniyle raf ömrünü artıran etkin bir koruma yöntemidir. Ancak burada vakum ambalaj için kullanılan film seçimi önemlidir. Oksijen geçirgenliği düşük, darbelere dayanıklı, esnek filmler tercih edildiğinde ve uygun sıcaklıklarda depolandığında vakum ambalajlı etlerde raf ömrü artmaktadır. Bu etkinin daha da artırılması amacıyla son yıllarda etin biyokoruyucu kültür ile inoküle edilerek vakum ambalajlanmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Ülkemizde taze ette biyokoruyucu kültür inoküle edilerek, vakum ambalajlı halde soğukta depolama ömrünün iyileştirilmesine yönelik yapılan çalışmaların sınırlı olması nedeniyle mevcut çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada, biyokoruyucu kültür *L.sakei*'nin, vakum ambalajlı sığır etinin mikrobiyolojik kalitesine etkileri, etin renk, pH ve duyuşsal özellikleri de göz önünde bulundurularak 4±1 °C'de 35 gün depolama sırasında incelenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Et materyali ve hazırlanması

Araştırmada 2 yaşında 3 farklı Holstein siyah alaca ırkı erkek sığırlardan elde edilen sağ ve sol sırt kasları (*Longissimus dorsi*) kullanılmıştır. Et ve Süt Kurumu Sincan İşletmesi'nde hijyenik şartlarda kesimi yapılan karkaslar soğuk depoda 48 saat bekletildikten sonra sırt kasları hijyenik şartlarda elde edilmiş, aseptik koşullarda görünür fazla yağlarından ve bağ dokulardan temizlenmiştir. Etlere, sıcak su ile dezenfekte edilmiş bıçak kullanılarak 1 cm kalınlığında ve 50 ± 2 g ağırlığında dilimlenmiştir. Bir karkasa ait sağ ve sol *L. dorsi* kasından 72 parça et dilimi elde edilmiştir.

3.1.2 Biyokoruyucu kültür (*Lactobacillus sakei*)

Biyokoruyucu kültür olarak bakteriyosin üretme kabiliyetine sahip, *Lactobacillus sakei* (B2 SafePro[®], Chr. Hansen, Pohlheim, Almanya) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Etlere biyokoruyucu kültür inokülasyonu

Dilimlenmiş etler iki gruba ayrılmıştır. Gruplardan biri inokülasyon yapılmayan kontrol grubu olarak ayrılmış, diğer grup ise *L.sakei* inokülasyonu yapılmak üzere ayrılmıştır. Kontrol grubundaki dilimler (36 adet dilim), poşetlere yerleştirilmiş ve vakum ambalajlanmıştır. Diğer 36 adet dilim, koruyucu kültür inoküle edilmek üzere ayrılmıştır. Biyokoruyucu kültür etlere 10^6 - 10^7 kob/g içecek şekilde inoküle edilmiştir. Kültür, steril destile suya gerekli miktarda tartılmış ve üretici firmanın talimatına uygun olarak kullanımdan önce oda sıcaklığında yarım saat bekletilmiştir. Et dilimleri aseptik koşullarda, steril 5 litrelik poşete aktarılan kültür çözeltisine 30 saniye süre ile daldırılmış

ve 1 dakika suyun drene olması için beklendikten sonra vakum ambalajlanmıştır. Vakum poşetler, 20x26cm boyutlarında, oksijen geçirgenliği 23°C de 20 cm³/m²/atm 24 h, %75 bağıl nemde, kalınlığı 80 µm olan filmde oluşmuştur (Flexo-Pack, Yunanistan) Her bir vakum poşetine 3 dilim et yerleştirilmiş ve 101.28 kPa vakum (Multivac P600, A.B.D.) uygulanmıştır.

3.3 Kimyasal Analizler

3.3.1 Nem miktarı tayini

Kuru madde kapları, 105 °C' deki etüvde en az iki saat bekletilerek sabit tartım ağırlığına getirilmiştir. Daha sonra desikatörde oda sıcaklığına soğutulmuş ve hassas terazide (0.0001g) darası alınmıştır. Darası alınan kuru madde kaplarına, homojen yaklaşık 5 g örnek 0.0001g hassasiyetle tartılmıştır. Örnekler 105 °C' deki etüvde yaklaşık 18 saat sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Bu işlemde sonra kuru madde kapları tekrar desikatörde oda sıcaklığına soğutulmuş ve hassas terazide (0.0001g) tartılmıştır. Meydana gelen ağırlık kaybından nem miktarı, % olarak hesaplanmıştır (Anonymous 2010).

3.3.2 Kül miktarı tayini

Darası alınan kül kapsülüne 2-3 g örnek tartılmış ve 105 °C'deki etüvde suyu uzaklaştırılan örnekler kül fırınında sıcaklık kademeli olarak arttırılarak yakılmış ve 550 °C de kül haline getirilmiştir. Sabit ağırlığa gelen kaplar tartılarak ağırlık farkından % kül değeri bulunmuştur. (Anonymous 2010).

3.3.3 Yağ miktarı tayini

Et örneklerinin yağ miktarı Soxhlet yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Kurutulmuş daha sonra kartuşlara alınmış örnekler, 200 ml petrol eteri ile Soxhlet düzeneğinde yaklaşık 4-

6 saat geri destilasyon yaptırılarak örneğin içerdiği yağ ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen yağ miktarı % olarak hesaplanmıştır (Anonymous 2010).

3.3.4 Protein miktarı tayini

Protein miktarı Makro Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir. Örnek içerisinde bulunan toplam azot (N) miktarı belirlenmiş daha sonra sonuç 6.25 katsayısı ile çarpılarak ürünün % protein miktarı hesaplanmıştır (Anonymous 2010).

3.3.5 pH analizi

Kıyılmış örnekten 10 g et numunesi ve 100 ml destile su manyetik balık eşliğinde yaklaşık 10 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılarak, homojen bir karışım elde edilmiştir. Elde edilen çözeltinin pH'sı uygun tampon çözeltilerle (pH 4, 7 ve 9) kalibre edilmiş pH metrede (Seven compact S220 pH metre, Mettler Toledo AG, İsviçre) ölçülmüştür (Gökalp vd. 1993).

3.3.6 Renk ölçümü (L^* , a^* ve b^* değerleri)

Örneklerin yüzey renk değerleri (L^* açıklık/koyuluk, a^* kırmızılık ve b^* sarılık), renk ölçüm cihazı (Minolta CR300 Reflectance Colorimeter, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. İki farklı et dilimi vakum ambalajdan çıkarılarak pigment oksidasyonu için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra renk ölçümü yapılmıştır. Et yüzeyinde 6 farklı noktada yapılan ölçümün aritmetik ortalaması alınmıştır.

3.4 Mikrobiyolojik Analizler

Vakum ambalajlı etlerde Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB), laktik asit bakterisi (LAB) (Tağı 2010), *Enterobacteriaceae* (Anonymous 2004b), *Brochothrix thermosphacta* (Anonymous 1996) ve *Pseudomonas* spp. (Anonymous 1995) sayımları yapılmıştır. Bu amaçla, vakum ambalaj aseptik koşullarda açılmış ve 25 g örnek steril

poşete tartılmıştır. Üzerine 225 mL steril peptonlu tuzlu su (maksimum recovery diluent (MRD), M112535, Merck, Darmstadth, Almanya) eklenerek Stomacher'de (Stomacher 400 Circulator, Seward, İngiltere) 2.5 dakika homojen hâle getirilmiştir. Bu homojenattan, MRD ile mikrobiyolojik ekimlerde kullanılmak üzere ardışık dilüsyonlar hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçları Tağı (2010)'da anlatıldığı üzere hesaplanmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.4.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayımı

Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayımı için, Plate Count Agar (PCA) (M105463, Merck, Darmstadth, Almanya) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinden 17.5 g/L tartılmış ve destile su ile karıştırılarak, 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 1 mL ekim yapılmış plaklara 45-50 °C sıcaklıkta yaklaşık 12-14 mL besiyeri dökülmüştür. Plaklar 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiş ve gelişen tüm koloniler sayılmıştır.

3.4.2 Laktik asit bakteri sayımı

Laktik asit bakteri (LAB) sayımı için, uygun dilüsyonlardan plaklara 1 mL ekim yapılmış ve besiyeri çift kat dökme yöntemiyle eklenmiştir. Besiyeri olarak, de Man Rogosa and Sharpe (MRS) (M110660, Merck, Darmstadth, Almanya) agar kullanılmıştır. Besiyerinden 68.2 g/L olacak şekilde tartılıp, destile su ile ısıtılarak çözülmesi sağlanmış ve 121°C'de otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası 45-50°C'ye soğutulmuş ve plaklara çift kat olmak üzere (14-16 mL) dökülmüştür. Plaklar 30°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve yuvarlak ve mekik şeklindeki bütün koloniler sayılmıştır.

3.4.3 *Enterobacteriaceae* sayımı

Enterobacteriaceae sayımında, plaklara uygun dilüsyonlardan 1 mL ekim yapılmış ve besiyeri dökme yöntemiyle eklenmiştir. Besiyeri olarak Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBDA) (M110275, Merck, Darmstadth, Almanya) kullanılmıştır. Besiyeri 39.5 g/L olacak şekilde tartılmış, steril destile su eklenerek, kaynar su banyosunda çözüldürülerek

hazırlanmıştır. Soğutulan besiyeri, plaklara yaklaşık 45-50 °C sıcaklıkta 12-14 mL dökülmüş, katılaştıktan sonra 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Plaklarda gelişen tipik 1 mm’nin üzerinde olan mor koloniler sayılmıştır.

3.4.4 *Pseudomonas* spp. sayımı

Pseudomonas spp. sayımı için, plaklara yayma tekniği ile uygun dilüsyonlardan 0.1 ml ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak *Pseudomonas* Cetrimid Fusidin Cephaloridin (CFC)/CN Agar (M107620, Merck, Darmstadth, Almanya) ve *Pseudomonas* CFC selektif supplement (M107627, Merck, Darmstadth, Almanya) kullanılmıştır. 500 mL destile su içerisine 24.2 g dehidre besiyeri ve 5 ml gliserol katılmış ve kaynatılarak çözündürülmüştür. Otoklavda 121.1 °C’de 15 dakika sterilize edildikten sonra besiyeri 50°C’ye soğutulmuştur. Selektif katkı, bir şişesine 2 mL eşit hacimde alkol/su eklenerek çözündürüldükten sonra kullanılmıştır. Besiyeri üzerine alkol/su karışımında çözündürülmüş 1 şişe *Pseudomonas* CFC selektif katkı eklenmiş ve karıştırıldıktan sonra plaklara yaklaşık 14 mL olacak şekilde dağıtılmış, katılaştıktan sonra kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlar sürme tekniği ile eklendikten sonra plaklar, 25 °C’de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında bir kez oksidaz testi uygulanmış ve oksidaz pozitif koloniler sayılmıştır.

3.4.5 *Brochothrix thermosphacta* sayımı

Brochothrix thermosphacta sayımı için, plaklara sürme tekniği ile uygun dilüsyonlardan 0.1 mL ekim yapılmıştır. Besiyeri olarak, streptomisin sülfat/talyum asetat/aktidion (STAA) (CM0881, Oxoid, Hampshire, İngiltere) ve STAA selektif katkı (SR0151E, Oxoid, Hampshire, İngiltere) kullanılmıştır. 500 ml destile suya 18.5 g STAA besiyeri eklenmiş ve karıştırılmıştır. Üzerine 7.5 g gliserol eklenerek yine iyice karıştırılmış ve 121.1°C de 15 dakika otoklavlanmıştır. Besiyeri 50 °C ye soğutulmuştur. Selektif katkı, bir vial 2 mL steril destile su eklenerek ve karıştırılarak çözündürülerek hazırlanmıştır. 50 °C’ye soğutulan besiyerine, 1 vial STAA selektif katkı eklenerek, iyice karıştırılmıştır. Steril plaklara 15-20 mL arasında dağıtılmış ve katılaştıktan sonra kullanılmıştır. Uygun

dilüsyonlar sürme tekniği ile eklendikten sonra plaklar, 25 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.4.6 Duyusal değerlendirme

Duyusal analizin amacı, biyokoruyucu kültür olarak kullanılan *Lactobacillus sakei*'nin çiğ etin duyusal özelliğini koku ve renk yönlerinden etkileyip etkilemediğini belirlemektir. Bu amaçla, inokülasyondan hemen sonra, 0., 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde Ek 1'de yer alan duyusal değerlendirme formuna göre et örnekleri koku ve renk bakımından değerlendirilmiştir. Bu amaçla vakum ambalaj açıldıktan sonra et örnekleri kesme tahtasına alınarak yaklaşık 10 dakika hem ideal rengine ulaşması hem de poşet içindeki kokunun gitmesi için bekletilmiştir. Yaklaşık 1 cm kalınlığında (4 cm²) eşit parçalar kesilmiş ve kapaklı örnek kabına yerleştirilmiştir. Duyusal değerlendirme önceden eğitilen 9 panelist tarafından yapılmıştır. Koku özelliği 7 puan üzerinden değerlendirilmiştir (7: çok taze et kokusu, 1: çok yoğun kokuşma kokusu). Renk özelliği 8 puan üzerinden değerlendirilmiştir (1: oldukça parlak kiraz kırmızısı, 8: oldukça koyu kahve). Panelistlere koklama yaparken, örnekler arası kokunun etkisini nötrlenmesi için kahve ve su koklamaları istenmiştir. Panel, havalandırılmış bir ortamda ve sarı ışık altında yapılmıştır (Anonim 2012).

3.4.7 İstatistik analiz

Biyokoruyucu kültür *L.sakei*'nin 4±1°C de 35 gün depolanan sığır etinin mikrobiyal yüküne (TAMB, LAB, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *Brochothrix thermosphacta*), pH, renk (L^* , a^* ve b^*) değerlerine ve duyusal özelliğine (koku ve renk) etkisi SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ve MSTAT-C istatistik paket programları kullanılarak belirlenmiştir. Bu özelliklerde meydana gelen değişim kontrol ve *L. sakei* gruplarında farklı depolama günlerinde (0., 7., 14., 21., 28 ve 35. günler) tesadüf bloklarında faktöriyel deneme tasarımı ile tekrarlanan ölçüm düzeninde Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) uygulanarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara ait farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Çalışma 3 tekerrür ve her tekerrürde analizler iki paralel olmak üzere yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Et Bileşimi

Çalışmada kullanılan aynı ırk ve yaşta üç sığır karkasının sağ ve sol *L.dorsi* etlerinin % nem, protein, yağ ve kül miktarları çizelge 4.1’de verilmiştir. Aynı besi ortamında yetişen ve aynı yaştaki farklı hayvanların bileşimleri birbirlerine benzer bulunmuştur. Etlerin nem miktarları %74.58-75.32, protein miktarları %18.53-20.58, yağ miktarları %2.33-3.14 ve kül miktarları %1.60-1.79 aralığında belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan sığır etlerinin bileşimi

Hayvan no.	Nem	Protein	Yağ	Kül
1	75.32±0.13	18.53±0.55	2.83±0.18	1.70±0.08
2	75.23±0.25	19.47±0.52	2.33±0.43	1.60±0.28
3	74.58±0.11	20.58±0.68	3.14±0.13	1.79±0.17

Sonuçlar her bir hayvanda 4 paralel ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

4.2 pH Değeri Sonuçları

Et ve et ürünlerinde pH değeri raf ömrünü etkileyen önemli faktörlerden birisidir. *L. sakei* inoküle edilen (LS) ve inokülyonsuz (K) vakum ambalajlı sığır etlerinin 4°C’de 35 gün depolanması sırasında pH değerlerindeki değişim çizelge 4.2’ görülmektedir. Ette pH değeri her iki grupta da depolama sırasında düşüş göstermiş ve 35. günde en düşük değerlerine ulaşmıştır. Depolama başlangıcında K ve LS örneklerinin pH değerleri sırasıyla 5.67 ve 5.64, depolama sonunda ise 5.22 ve 5.09 olarak belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu, gerek uygulamanın gerek depolama süresinin birlikte etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğunu göstermiştir. Sürenin etkisi K örneklerde 0., 7. ve 14. günler ile 21., 28. ve 35. günler arasında önemsiz düzeyde ($P>0.01$) düşüş göstermiştir. Diğer yandan LS örneklerde pH değerindeki düşüş 0. ve 7. günler ile 14., 21., 28. ve 35. günler arasındaki değişimin önemsiz olduğu ($P>0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4.2). Etlerin pH değerine sürenin etkisi K örneklerde ilk 15 gün ile son 21 gün arasında, LS örneklerde ise ilk 7 gün ile son 28 gün arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Uygulamanın etkisi, 14.

günden itibaren gözlenmiş ve 21, 28 ve 35. günlerde K örnekler LS örneklerinden önemli düzeyde ($P<0.01$) daha yüksek pH değerlerine sahip olmuştur. LS örneklerde en düşük pH 28. günde 5.08 olarak kaydedilmiş, ancak 14, 21, 28 ve 35. gün pH değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemli olmamıştır ($P>0.01$). LS örneklerde pH değerinde en hızlı düşüş 14. günde (5.18) gözlenmiştir (Şekil 4.2a). K örneklerde ise daha yavaş bir düşüş gözlenmiştir. LAB inokülasyonunun K örneklerden daha düşük pH değerine neden olduğu diğer çalışmalarda da ortaya konulmuştur (Zhang vd. 2018, Jones vd. 2010, Castellano vd. 2010).

Çizelge 4.2 Biyokoruyucu kültür ilavesi ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığıretinin pH değişimine etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	5.67±0.09 ^{Aa}	5.59±0.03 ^{Aa}	5.47±0.07 ^{ABa}	5.32±0.05 ^{BCa}	5.33±0.10 ^{BCa}	5.22±0.04 ^{Ca}
LS	5.64±0.06 ^{Aa}	5.55±0.10 ^{Aa}	5.18±0.06 ^{Bb}	5.15±0.08 ^{Bb}	5.08±0.01 ^{Bb}	5.09±0.07 ^{Bb}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-C: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder ($P<0.01$).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder ($P<0.01$).

Katikou vd. (2005), bakteriyosin üretme kabiliyetine sahip *L. sakei* CECT 4808 ve *L. curvatus* CECT904 ile inoküle ederek vakum ambalajladıkları ve $4\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 28 gün depoladıkları sığıretin dilimlerinin pH değerlerinin depolama sırasında 21 gün boyunca düşüş, 28. günde ise hafif bir artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Bakteriyosin üretme kabiliyetine sahip kültür inoküle edilen örnekler çalışmamızda bulunan sonuca benzer şekilde daha düşük pH değerlerine sahip olmuşlardır.

Zhang vd. (2018) tarafından yapılan araştırmada, *longissimus lumborum* kasından elde edilen sığıretine *L. sakei* inoküle edilmiş ve 4°C 'de 38 gün depolanmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda *L. sakei* inoküle edilmiş etin pH' sının 5.55den 5.27' ye düştüğü ifade edilmiştir. Bu çalışmalarla, çalışmamızdaki bulgular benzer bir değişim göstermektedir. Castellano vd. (2010), *L. curvatus* inoküle ederek vakum ambalajladıkları ve 2°C de depoladıkları etlerde pH değerinin K örneklerde depolama

başlangıcında 5.55'ten 60 gün depolama sonunda 5.60'a yükseldiğini, *L. curvatus* inoküle edilen etlerde ise 5.55'ten 5.45'e düştüğünü ve uygulamalar arasındaki farkın önemli olduğunu belirlemişlerdir.

Etin uzun raf ömrü boyunca yaygın mikrobiyal popülasyon haline gelen ve laktik asit üreten mikrofloranın oluşması nedeniyle depolama sırasında kademeli asitleşme meydana gelmektedir (Stella vd. 2013). Laktik asit bakterileri başta laktik asit olmak üzere organik asitler, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler üretme kabiliyetindedir (Katikou vd. 2005). *L. sakei* inoküle edilen örneklerin daha düşük pH değerlerine sahip olmalarının, bu örneklerde asit oluşumunun daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3 Renk Değeri Sonuçları

Vakum ambalajlama et renginde koyulaşmaya neden olmaktadır. Bunun nedeni vakum uygulanarak oksijenin ortamdan uzaklaştırılması ve oluşan anaerobik ortamda oksimiyoglobinden miyoglobine, miyoglobinden metmiyoglobine ve deoksimiyoglobine dönüşüm olmasıdır (Mancini 2009). Ancak poşet açılarak vakum ortadan kalktığında et atmosfer ortamında bekletildiğinde tekrar miyoglobin oluşumu gerçekleşmektedir (Avilés vd. 2014). Açıklık/koyuluk düzeyini gösteren L^* değerlerine ait toplu sonuçlar çizelge 4.3'te verilmiştir. K ve LS örneklerinde depolama başlangıcında L^* değeri ortalamaları sırasıyla 39.59 ve 40.86, depolama sonunda ise sırasıyla 38.42 ve 44.80 olarak belirlenmiştir. Vakum ambalajlı etlerin L^* değerine uygulama ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Uygulamanın etkisi depolama başlangıcında önemli olmazken ($P>0.01$), diğer günlerde önemli bulunmuş ($P<0.01$) ve *L. sakei* inoküle edilen örnekler K örneklerden daha yüksek L^* değerlerine sahip olmuşlardır. K örneklerinde L^* değerinin LS örneklerinin daha düşük olması K örneklerinin daha mat görünmesine neden olmuştur. Sürenin etkisi K örneklerinde önemli bulunmazken ($P>0.01$) (38.42-39.59 aralığında değişim) LS örneklerinde 0.gün L^* değerleri ile 14, 21, 28 ve 35. gün L^* değerleri arasındaki farklar önemli düzeyde ($P<0.01$) olmuş ve L^* değerleri depolama sırasında artış eğilimi göstermiştir.

Vakum ambalajlı etlerde depolama sırasında L^* değerinde benzer değişimler Insausti vd. (1999) ve Zhang vd. (2018) tarafından da bildirilmiştir. Zhang vd. (2018), *L. sakei* ile inoküle edilen vakum ambalajlı sığır etlerinde L^* değerinin depolama başında 43.8'den 38 gün depolama sonunda 46.2'ye değiştiğini kontrol örneklerde ise 43.7'den 43.1'e çok az değiştiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.3 Biyokoruyucu kültür ilavesi ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin L^* (açıklık/koyuluk) değerine etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	39.59±0.79 ^{Aa}	38.74±0.50 ^{Ab}	38.98±0.73 ^{Ab}	38.90±1.32 ^{Ab}	38.88±0.82 ^{Ab}	38.42±0.37 ^{Ab}
LS	40.86±0.10 ^{Aa}	41.74±0.25 ^{Ba}	42.85±0.6 ^{Aa}	43.50±0.45 ^{ABa}	44.08±1.02 ^{Aa}	44.80±0.48 ^{Aa}

Sonuçlar 3 tekrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-B: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Biyokoruyucu kültür inoküle edilerek vakum ambalajlanan ve 4 °C'de depolanan sığır etlerinin kırmızılık (a^*) değeri sonuçlarına ait ortalamalar çizelge 4.4'te yer almaktadır. Depolama başlangıcında a^* değeri K örneklerde 20.52, 7. ve 14. günlerde artarak sırasıyla 21.62 ve 22.57'ye yükselmiş, ancak 21, 28 ve 35. günlerde sırasıyla 21.17, 19.82 ve 17.53'e azalış göstermiştir. Buna karşın, LS örneklerde başlangıçta 20.48 olan a^* değeri ortalaması depolama sonunda 20.13 olarak çok az değişim göstermiştir. Yapılan varyans analizi sonucu, a^* değerine uygulama ile sürenin birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir (P<0.01). LS inokülasyon etkisi, 14. ve 35. günlerde önemli (P<0.01), diğer günlerde önemsiz (P>0.01) bulunmuştur. *L. sakei* inokülasyonu a^* değerini önemli düzeyde (P<0.01) korumuştur. Sürenin etkisi incelendiğinde, K örneklerinde a^* değerindeki değişim 21.güne kadar önemli bulunmazken (P>0.01), 28. ve 35. günlerde a^* değerinde meydana gelen azalma önemli (P<0.01) bulunmuştur. Buna karşın, LS örneklerinin a^* değerlerine sürenin etkisi önemli bulunmamış (P>0.01), yani *L. sakei* inokülasyonunun a^* değerinde bir değişime neden olmadığı görülmüştür.

Benzer şekilde Zhang vd. (2018), *L. sakei* ve *L. curvatus* inoküle edilen vakum ambalajlı et dilimlerinde a^* değerinin 38 gün depolama boyunca korunduğu, kontrol örneklerde ise a^* değerinde düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.4 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin a^* (kırmızılık) değerindeki değişime etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	20.52±1.29 ^{Aa}	21.62±0.77 ^{Aa}	21.57±0.4 ^{Ab}	21.17±0.69 ^{Aa}	19.82±0.68 ^{Ba}	17.53±0.74 ^{Ca}
LS	20.48±1.71 ^{Aa}	19.77±0.92 ^{Aa}	19.94±0.42 ^{Aa}	19.49±0.61 ^{Aa}	20.70±1.11 ^{Aa}	20.13±0.57 ^{Ab}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-C: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Biyokoruyucu kültür inokülasyonu yapılarak depolanan vakum ambalajlı sığır etlerinin b^* değerlerine ait ortalamalar çizelge 4.5'te gösterilmektedir. Depolama başlangıcında, b^* değeri K örneklerde 11.11, LS örneklerde 11.23 olarak belirlenmiştir. Depolama sırasında kontrol örneklerinin b^* değerlerinde 7. günden 35. güne (11.04'ten 7.67'ye) azalma gözlenirken, LS örneklerinde 21 gün boyunca önemli bir değişim gözlenmemiş, 35. günde azalma saptanmıştır. Yapılan varyans analizi uygulama ve sürenin birlikte etkisinin önemli (P<0.01) olduğunu göstermiştir. Uygulamanın etkisi incelendiğinde, 0., 7. ve 14. günlerde K ile LS örneklerinin b^* değerleri arasındaki fark önemli olmazken (P>0.01), 21, 28 ve 35. günlerde K ve LS örneklerinin b^* değerleri arasındaki fark önemli (P<0.01) bulunmuştur. Bu durum, LS örneklerinde b^* değerinin daha iyi korunduğunu göstermiştir. Sürenin etkisi incelendiğinde, K örneklerde b^* değerindeki değişim 0 ve 7. günler arasında önemsiz (P>0.01), 14. günden itibaren önemli (P<0.01) düzeylerde azalma şeklinde belirlenmiştir. LS örneklerde ise b^* değeri, 7. ve 35. günler kıyaslandığında önemli (P<0.01), diğer günler arasında önemsiz (P>0.01) düzeyde değişmiştir.

Çizelge 4.5 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin b^* (sarılık) değerindeki değişime etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	11.11±0.68 ^{Aa}	11.04±0.88 ^{Aa}	9.88±0.88 ^{Ba}	9.49±1.01 ^{BCb}	9.06±0.8 ^{Cb}	7.67±0.54 ^{Db}
LS	11.23±0.77 ^{ABa}	11.98±0.36 ^{Aa}	11.61±0.78 ^{ABa}	11.60±0.4 ^{ABa}	11.08±0.54 ^{Aba}	10.73±0.72 ^{Ba}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-D: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

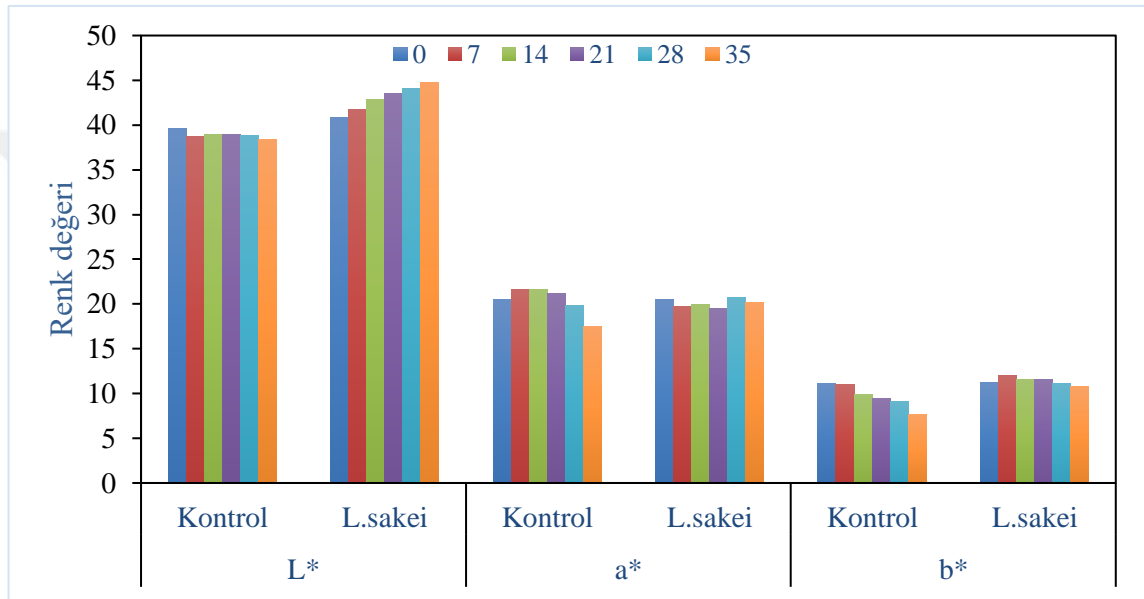
Stella vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada sığır etine *L. sakei* ve *L. curvatus* ayrı ayrı ve birlikte inoküle edilerek vakum ambalajlanmış ve 4 °C de 60 gün depolama süresince a^* değerleri ilk 40 gün çok fazla değişmezken, sonraki 20 gün azalma eğilimi göstermiştir. Et örneklerinin b^* değerleri, çalışmamızla uyumlu olarak başlangıç değerlerine göre azalma göstermiştir.

L. sakei inoküle edilen ve edilmeyen vakum ambalajlı sığır etinde L^* , a^* ve b^* renk değerleri birarada değerlendirildiğinde, K örneklerinin *L. sakei* inoküle edilen örneklerden daha düşük L^* ve b^* değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.1). K örneklerinde kırmızılık değerleri ilk 21 gün iyi bir şekilde korunurken, 28. günden sonra önemli düzeyde düşüş göstermiştir. Buna karşın *L. sakei* inoküle edilen etlerde a^* değerleri depolama boyunca korunmuş, LS örnekler K örneklerden daha yüksek a^* değerlerine sahip olmuşlardır. Taze ette renk bozukluğu, tüketici tercihini etkileyen önemli bir kalite kriteridir ve et rengini miyoglobinin kimyasal durumu belirler (Danijela vd. 2013). Vakum ambalajlama ile O₂ büyük ölçüde uzaklaştırılmakta ve ambalaj içerisinde anaerobik bir ortam oluşmaktadır. Bu ortamda belirli mikroorganizmaların çoğalması ve faaliyeti ile CO₂ oranı artmakta ve pH düşmektedir. Bu koşullarda oluşan pigment formu kahverengi metmiyoglobindir ve et rengi tüketici açısından kabul görmez. Ancak vakum bozulduğunda tekrar O₂ ile temas sonucu yeniden miyoglobin oluşur ve arzu edilir et rengi gözlenir.

Stella vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, vakum ambalajlı sığır etine *L. sakei* ve *L. curvatus*' un ayrı ayrı ve birlikte inokülasyonunun 4 °C de 60 gün depolama süresince yapılan analiz sonuçlarında *L. sakei* inokülasyonlu örneklerde a^* değerleri ilk 40 gün çok

fazla değişmezken sonraki 20 gün azalma eğilimi göstermişlerdir. b^* değerleri ise depolamanın sonuna kadar çok az değişme göstermiştir. Ancak bulgularımızın aksine kontrol örneklerinde de depolama başlangıcı ve sonunda çok fazla değişiklik gözlenmemiştir.

L.sakei inokülasyonu vakum ambalajlı etlerde daha parlak ve daha kırmızı ve daha stabil renge neden olmuş ve et renginde negatif herhangi olumsuz bir görünüş gözlenmemiştir.



Şekil 4.1 Vakum ambalajlı ette depolama sırasında L^* , a^* ve b^* değerlerindeki değişimler

4.4 Toplam Aerob Mezofil Bakteri (TAMB) Sayım Sonuçları

L. sakei inokülasyonu yapılan vakum ambalajlı sığır etinde soğukta depolama sırasında toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayısındaki değişim çizelge 4.6'da ve şekil 4.2b'de görülmektedir.

Çizelge 4.6 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin TAMB sayısına (log kob/g) etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	4.54±0.06 ^{Cb}	6.67±0.15 ^{Bb}	7.88±0.05 ^{Aa}	8.50±0.19 ^{Aa}	8.63±0.35 ^{Aa}	8.61±0.19 ^{Aa}
LS	7.22±0.22 ^{Ba}	8.55±0.57 ^{Aa}	8.35±0.32 ^{Aa}	8.87±0.18 ^{Aa}	8.46±0.30 ^{Aa}	8.75±0.27 ^{Aa}

Sonuçlar 3 tekrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-C: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

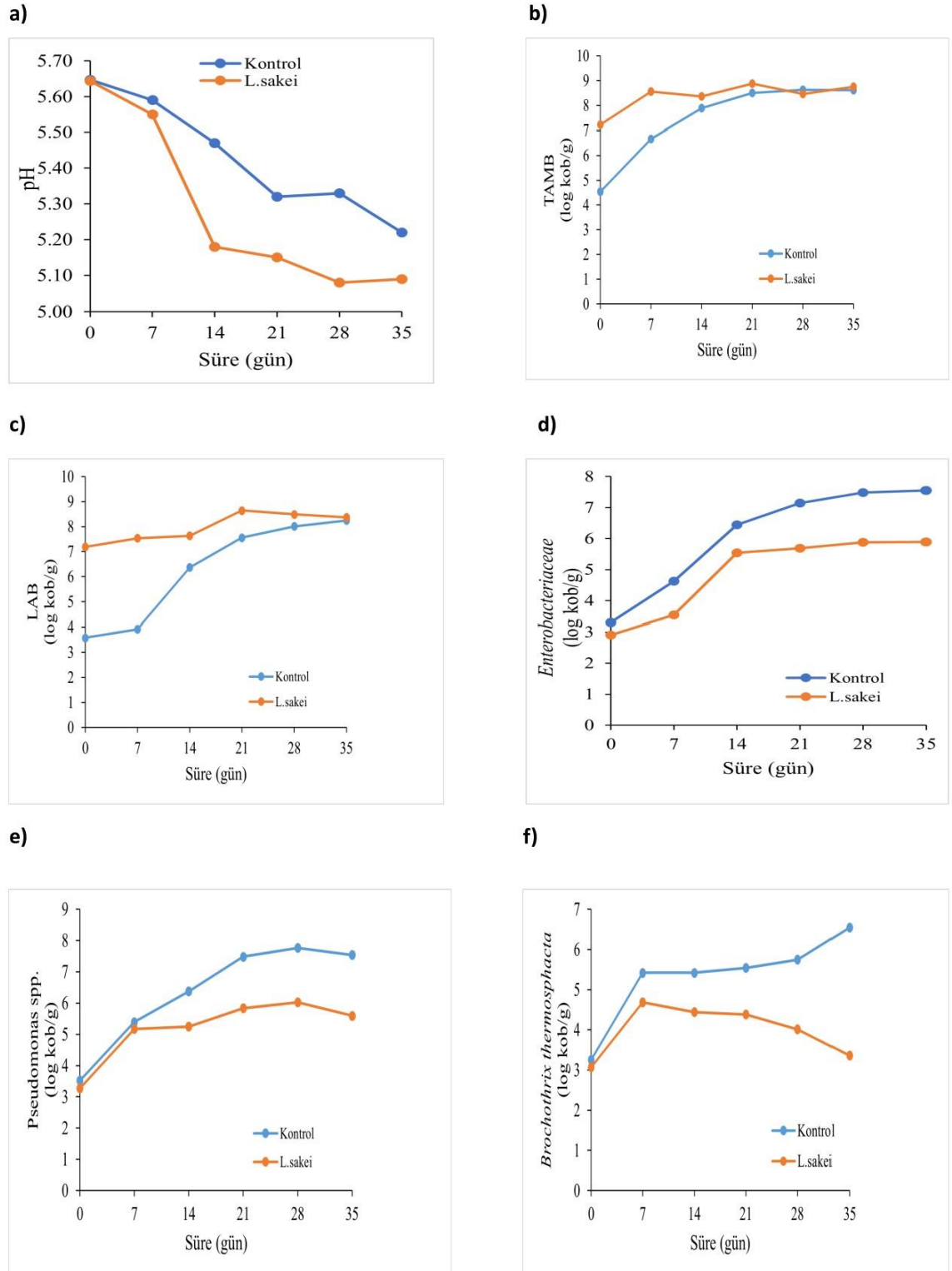
a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Kontrol örnekler beklendiği üzere depolama başlangıcında LS örneklerden daha düşük TAMB sayısına sahip olmuştur (4.54 log kob/g'e karşılık 7.22 log kob/g). Bunun sebebi LS grubuna inoküle edilen 10⁶ kob/g civarındaki *L. sakei* kültürüdür. Depolama sırasında K örneklerinde 7. günde yaklaşık 2 log düzeyinde bir artış, daha sonraki günlerde ise daha yavaş olmakla birlikte 28. güne kadar düzenli bir artış, 35. günde ise 28. gün sayısına yakın bir sayı (sırasıyla 8.63 ve 8.61 logkob/g) belirlenmiştir. LS örneklerinde ise 7.22 ile 8.87 logkob/g arasında değişen daha yavaş değişimler gözlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu, TAMB sayım sonucuna uygulama ve depolama süresinin birlikte etkisinin önemli olduğunu (P<0.01) göstermiştir. Varyans analizine ait Duncan sonuçları incelendiğinde, uygulamanın etkisi 0. ve 7. günlerde önemli (P<0.01) ve LS örnekler daha yüksek TAMB sayısında, diğer günlerde önemsiz (P>0.01) bulunmuştur. Sürenin etkisi K örneklerde 0, 7 ve 14. gün sayıları arasında önemli düzeyde artışla etkili (P<0.01), 14, 21, 28 ve 35. gün TAMB sayıları arasında ise önemsiz düzeyde (P>0.01) değişmiştir. LS örneklerinde sürenin etkisi 0. gün ile diğer günler arasında önemli (P<0.01) bulunmuştur.

Vakum ambalajlama ile ortamdaki O₂ önemli düzeyde uzaklaştırılmakta, kalan O₂ ise hem etteki metabolik aktivite ile hem de et yüzeyindeki bakteriler tarafından tüketilmektedir. Bunun sonucunda O₂ konsantrasyonu %1'e kadar düşmekte ve CO₂ konsantrasyonu %20-25'e artmaktadır. Mikroorganizmaların oluşturduğu CO₂ aerob mikroorganizmaları inhibe etmektedir. Bu nedenle vakum ambalajlama anaerobik/mikroaerobik mikrosistem oluşturmaktadır. Bu ortam *Pseudomonas* gibi aerobik bakterilerin gelişimini geciktirmekte, LAB'nin gelişimini ise teşvik etmektedir (Hernandez-Macedo vd. 2011). Bununla birlikte çok uygun şartlarda bile (yetersiz O₂ ve

düşük depolama sıcaklığı gibi) vakum ambalajlı etlerde patojenik, anaerobik ve fakültatif anaerobik, hatta aerobik mikroorganizmalar da gelişebilmektedir. Sıcaklık derecesindeki iniş ve çıkışlar, vakum ambalaj materyalinin O₂ geçirgenliği gibi faktörlerin etkisiyle, normal koşullarda 5°C'den düşük sıcaklıklarda gelişemeyen psikrotrof, mezofilik ve fakültatif anaerob bakterilerin hızlı gelişmesi sözkonusu olabilir (Ray 2000).

Çiçek vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada vakum ambalajlı dana etinin 7 gün depolama sonucu TMAB değeri 5.56 log kob/g dan 8.26 log kob/g yükseldiği gözlenmiştir. Gokoğlu vd. (2011) nin yaptığı çalışmada ise vakum ambalajlı dana etlerinin 14 günlük depolama sonucu TAMB değerlerinde yaklaşık 3 log kob/g artış gözlenmiştir.



Şekil 4.2 *L.sakei* biyokoruyucu kültürün vakum ambalajlı ette mikrobiyal yüke ve pH değişimine etkisi

Stella vd. (2016) ve Zhang vd. (2018), *L. sakei* ve *L. curvatus* inoküle ederek, vakum ambalajlı 4°C de depoladıkları sığır et dilimlerinde, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde inoküle örneklerin K örneklerden daha yüksek TAMB sayılarına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Zhang vd. (2018), TAMB sayılarını K örneklerde 0 ve 38. günlerde sırasıyla 4.1 log kob/g ve 7.2 log kob/g, *L. sakei* inoküle edilen örneklerde ise sırasıyla 7.5 log kob/g ve 8.6 log kob/g olarak belirlemişler ve çalışmamızla benzer bir çoğalma eğilimi bulmuşlardır.

4.5 Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayım Sonuçları

L. sakei inokülasyonu yapılan vakum ambalajlı sığır etinde depolama süresince laktik asit bakteri (LAB) sayısındaki değişim çizelge 4.7’de ve şekil 4.2c’de gösterilmiştir. Depolama başlangıcında biyokoruyucu kültür inokülasyonu nedeniyle LS grubu K grubundan daha yüksek LAB sayısına sahip olmuştur (sırasıyla 7.19 log kob/g ve 3.55 log kob/g). K örneklerin LAB sayısında 14. günde 6.37 log kob/g ile en fazla artış gözlenmiş, 35. günde sayı 8.24 log kob/g düzeyine artmıştır. LS örneklerinde ise daha yavaş bir artışla başlangıçta 7.19 log kob/g olan LAB sayısı 35. günde 8.37 log kob/g’ye artmıştır. Varyans analizi sonucu LS inokülasyon işlemi ve sürenin birlikte etkisini göstermiştir (P<0.01). Duncan sonuçları (Çizelge 4.7) uygulamanın etkisinin 0, 7, 14 ve 21. günlerde önemli (P<0.01), 28 ve 35. günlerde önemsiz (P>0.01) olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni, K örneklerde LAB çoğalmasının depolamanın ilerleyen günlerinde artması, buna karşın *L. sakei* inoküle edilen örneklerde aynı düzeyde artmamasıdır. Çiğ etlerin vakum ambalajlanması kontamine LAB’nin çoğalması için elverişli bir ortam oluşturmaktadır. K örneklerinde görüldüğü üzere, kontaminasyon florası olarak bulunan LAB hızla artarak üretimin sonunda LS örneklerle benzer sayılara ulaşmıştır. Vakum ambalajlı etlerde LAB dominasyonu, diğer bakterilerin gelişmesini engellemektedir. Ortama *L. sakei* gibi LAB inoküle edilmesi, bu koruyucu etkiyi daha da artırmaktadır (Zhang vd. 2018).

Vakumlu ambalajlama, oksidatif reaksiyonların güçlü bir şekilde azaltması ve sonuçta et yüzeyinde bir anaerobik mikroflora seçimi ile depolama sırasında mikrobiyota, Gram -

pozitif psikrotrofların, özellikle laktik asit bakterilerinin hakimiyetindedir (Fu vd. 1992, Lücke 2000, Sakala vd. 2002).

Çizelge 4.7 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin LAB sayısına (log kob/g) etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	3.58±0.24 ^{Db}	3.92±0.28 ^{Db}	6.37±0.16 ^{Cb}	7.56±0.31 ^{Bb}	8.01±0.28 ^{ABa}	8.24±0.12 ^{Aa}
LS	7.19±0.05 ^{Ba}	7.54±0.06 ^{Ba}	7.63±0.03 ^{Ba}	8.65±0.22 ^{Aa}	8.49±0.15 ^{Aa}	8.37±0.23 ^{Aa}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-D: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Düşük oksijen geçirgenliğine sahip plastik malzemelerde vakum ambalajlama ile raf ömrü uzatılabilir. Bu özellik, aerobik bakteri ve doku solunumu ile tüketilen oksijenin yenilenmesini etkili bir şekilde önler ve CO₂ oluşumuna neden olur. Bu koşullar altında depolanan ette, *Pseudomonas* spp., *B. thermosphacta* ve *Enterobacteriaceae*'nin çoğalması kısıtlanacaktır ve LAB baskın mikroorganizma olacaktır (Castellano vd. 2008). Bu çalışmada gözlemlendiği gibi K grubunda depolamanın ilk gününden 35. güne kadar LAB sayısı yaklaşık 5 log artarak 8.24 logkob/g yükselmiş olup yukarıdaki verilen bilgileri doğrulamaktadır.

Stella vd. (2016), vakum ambalajlı sığır etine *L. sakei* ve *L. curvatus*' u ayrı ayrı ve birlikte inoküle etmişler, 4 °C de 60 gün depolama süresince farklı patojen mikroorganizmalara etkisini incelemişlerdir. *L. sakei* inoküle edilmiş örneklerde LAB sayısı, deneyin başlangıcında 4 logkob/g' dan 30 gün sonra 8 ile 8.5 logkob/g düzeyine yükseldiği gözlenmiştir. Daha sonraki 30 günde ise değişmeyerek yine 8.0-8.5 logkob/g değerinde değiştiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada ise LS grubu 7.19 logkob/g dan başlayıp depolama sonunda 8.37 logkob/g seviyelerine gelerek Stella vd. (2016) ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Başlangıç LAB yüklerinde iki çalışma arasındaki fark, büyük ölçüde ilave edilen biyokoruyucu kültür sayısı ile ilişkilidir.

4.6 *Enterobacteriaceae* Sayım Sonuçları

Vakum ambalajlı etlerde depolama süresince *Enterobacteriaceae* bakteri sayım sonuçlarındaki değişim çizelge 4.8' de ve şekil 4.2d'de görülmektedir. Vakum ambalajlı etlerde soğuk depolama sırasında *Enterobacteriaceae* sayısı artış eğilimi göstermektedir. Bu familyada yer alan mikroorganizma türleri, gıdayı bozma potansiyelleri ve bazı türlerinin patojen olması nedenleriyle vakum ambalajlı etlerde önemlidirler. Depolama başlangıcında, kontrol örneklerde *Enterobacteriaceae* sayısı 3.30 log kob/g, LS grubunda 2.91 log kob/g belirlenmiştir. K örneklerde *Enterobacteriaceae* sayısında 0. günden başlayarak depolama boyunca artış görülmüştür. Benzer eğilim LS grubunda da gözlenmiş, ancak bakteriyel sayı K örneklerden daha düşük düzeyde olmuştur. Yapılan varyans analizi, *Enterobacteriaceae* sayısına uygulama ve sürenin birlikte etkisinin önemli ($P<0.01$) olduğunu göstermiştir. Uygulamanın etkisi incelendiğinde, K örnekler 0.gün hariç her bir depolama periyodunda LS örneklerden önemli düzeyde daha yüksek *Enterobacteriaceae* sayılarına sahip olmuşlardır. K ve LS sayıları arasındaki fark depolama süresi uzadıkça artmış ve 0. günde aralarındaki fark 0.39 iken, 35. günde 1.66 olmuştur. Bunun anlamı *L.sakei* inokülasyonu *Enterobacteriaceae* gelişimini inhibe etmiştir. Sürenin etkisi incelendiğinde, K grubunda 0, 7, 14 ve 21. gün *Enterobacteriaceae* sayıları önemli düzeyde artmış ($P<0.01$), 21, 28 ve 35. günlerde ise önemsiz artışlar ($P>0.01$) izlenmiştir. LS grubunda ise, 0 ve 7. gün sayıları arasında önemsiz ($P>0.01$) bir yükseliş, 14.gün önemli ($P<0.01$) izlenmiştir. Ancak depolamanın 14, 21, 28, 35. gün *Enterobacteriaceae* sayıları önemsiz ($P>0.01$) düzeylerde artmıştır. *L.sakei* inokülasyonu K örnekler ile kıyaslandığında *Enterobacteriaceae* bakterilerini önemli düzeyde inhibe etmiştir. LS örneklerde *Enterobacteriaceae* sayısı her iki grupta da 14.günde en fazla artış göstermiştir.

Çizelge 4.8 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin *Enterobacteriaceae* sayısına (log kob/g) etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	3.30±0.1 ^{Da}	4.63±0.19 ^{Ca}	6.44±0.18 ^{Ba}	7.15±0.57 ^{Aa}	7.48±0.5 ^{Aa}	7.55±0.34 ^{Aa}
LS	2.91±0.05 ^{Ba}	3.54±0.11 ^{Bb}	5.54±0.24 ^{Ab}	5.68±0.23 ^{Ab}	5.87±0.16 ^{Ab}	5.89±0.10 ^{Ab}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-D: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Enterobacteriaceae sayısı sığır etlerinin bozulmasına etki eden önemli bir parametredir (Borch vd. 1996) ve istenmeyen koku ve/veya yeşillenme oluşumu ile karakterize edilir (Brightwell vd. 2009). Çalışmada kullanılan 4°C depolama sıcaklığı, vakum ambalajlı etlerde *Enterobacteriaceae* türlerinin gelişmesi için uygun sıcaklıktır. Bu familyada yer alan bakterilerin gıdayı bozma potansiyellerinin yüksek olması ve bazılarının patojen olması aynı zamanda gıda güvenliğini tehdit etmesi nedeniyle vakum ambalajlı etlerde *Enterobacteriaceae* inhibisyonu oldukça önemlidir ve *L.sakei* inokülasyonu önemli bir inhibisyon sağlamıştır.

Katikou vd. (2005), dilimlenmiş, *Lactobacillus sakei* inokülasyonu yapılmış, vakum ambalajlanmış sığır etini 4°C de 28 gün depolamışlardır. *L. sakei* inokülasyonlu örneklerde 28 gün boyunca en düşük *Enterobacteriaceae* sayısı bulunmuştur. *L.sakei* inoküle edilen örneklerde başlangıçta 1 logkob/g düzeyinde olan sayı, 28 gün sonra yaklaşık 4 log birim artışla 4.98 log kob/g olarak bulunmuş, kontrol örnekler ise yaklaşık 7 log kob/g düzeylerine çıktığı gözlenmiştir. Benzer şekilde Zhang vd. (2018), *L.sakei* inoküle ederek 4 oC'de 38 gün depoladıkları sığır etlerinde *Enterobacteriaceae* sayısının önemli ölçüde baskılandığını bildirmişlerdir.

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* ve *Hafnia* gibi fakültatif anaerob bakteriler amino asitleri metabolize ederek aminler, amonyak, dimetilsülfit ve merkaptanları oluşturur ve etin kokuşmasına neden olurlar. Ette aminler ve amonyak oluşması pH'nın yükselmesine ve et renginin koyulaşmasına neden olur (Ray 2000). Çalışmamızda kontrol örneklerde pH'nın daha yüksek, renk değerinin daha koyu olması bunun açıklaması olabilir.

4.7 *Pseudomonas* spp. Sayım Sonuçları

Biyokoruyucu kültür inoküle edilmiş LS grubu ve inokülasyon yapılmayan K grubunun depolama süresince *Pseudomonas* spp. sayım sonuçlarındaki değişim çizelge 4.9' da ve şekil 4.2e'de gösterilmiştir. Her iki grubun *Pseudomonas* spp. sayıları depolama süresince 28. güne kadar artmış ve bu artış K örneklerde LS örneklerden daha fazla olmuştur. K ve LS örneklerinin *Pseudomonas* spp. sayıları depolama başlangıcında sırasıyla 3.52 ve 3.27 log kob/g, depolama sonunda ise 7.54 ve 5.59 log kob/g olmuştur. Varyans analizi sonucu, LS inokülasyon işlemi ve sürenin birlikte etkisinin önemli olduğu bulunmuştur (P<0.01). Duncan sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.9), *L. sakei* inokülasyonu 14. günden itibaren etkili olmuş ve 14, 21, 28 ve 35. günlerde LS örnekler K örneklerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (P<0.01) daha düşük *Pseudomonas* spp. sayılarına sahip olduğu bulunmuştur. Sürenin etkisi incelendiğinde, K örneklerde 0, 7, 14 ve 21. gün *Pseudomonas* spp. sayıları birbirleri arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı oranda artış (P<0.01), 21, 28 ve 35. günler arasında önemsiz düzeyde (P>0.01) artış ve azalış gözlenmiştir. LS örneklerin *Pseudomonas* spp. sayılarında ise depolama süresinin etkisi 0, 7 ve 28. günler birbirleri ile kıyaslandığında önemli düzeyde artış (P<0.01) gözlenmiştir.

Çizelge 4.9 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin *Pseudomonas* spp. sayısına (log kob/g) etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	3.52±0.07 ^{Da}	5.39±0.41 ^{Ca}	6.37±0.10 ^{Ba}	7.48±0.42 ^{Aa}	7.76±0.62 ^{Aa}	7.54±0.10 ^{Aa}
LS	3.27±0.08 ^{Ca}	5.17±0.12 ^{Ba}	5.25±0.24 ^{ABb}	5.83±0.13 ^{ABb}	6.03±0.14 ^{Ab}	5.59±0.11 ^{ABb}

Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-D: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder (P<0.01).

Vakum ambalajlı etlerde aerobik *Pseudomonas* spp. sayısının, oksijenin uzaklaştırılması ve karbondioksit miktarının artmasına bağlı olarak azaldığı bildirilmesine karşın (Seideman ve Durland 1982), kullanılan ambalaj materyalinin oksijen geçirgenliğine

bağlı olarak artış gösterebilmektedir (Katikou vd. 2005, Hernández-Macedo vd. 2011). Çalışmamızda da pseudomonasların sayısındaki artış, ambalaj materyalinin O₂ geçirgenliği ile açıklanabilir. Nitekim, Borch vd. (1996), ambalaj materyalinin O₂ geçirgenliği arttıkça *Pseudomonas* spp. sayısının da arttığını bildirmiştir. Ancak biyokoruyucu kültür inokülasyonunun 14. günden itibaren *Pseudomonas* spp. sayısını baskılaması, *L.sakei*'nin sayısal üstünlüğüne, oluşturduğu bakteriosinin pseudomonaslar üzerine inhibe edici etkisi ve *L.sakei*'nin etin pH değerini düşürmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Katikou vd. (2005), *L.sakei* ve *L. curvatus* inoküle ederek 4°C'de 28 gün depoladıkları sığır etlerinde *Pseudomonas* spp. sayılarının başlangıçta 3.7 log kob/g düzeylerinden 28 gün sonra sırasıyla 6.2 ve 7.0 log kob/g düzeylerine arttığını, en yüksek sayının ise kontrol örneklerinde yaklaşık 7.82 log kob/g düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir. Zhang vd. (2018) ise, *L. sakei* ve *L. curvatus* inoküle ederek vakum ambalajladıkları dilimlenmiş sığır etinin 4°C'de 38 gün depolanması sırasında *Pseudomonas* spp. sayısında ilk 3 hafta depolamada inokülasyon yapılan ve kontrol örnekleri arasında önemli bir farkın olmadığını, 28 gün depolamadan sonra her iki biyokorumalı örneklerde *Pseudomonas* spp. sayısındaki artışın durduğunu, K örneklerde ise 38. güne kadar arttığını belirlemişlerdir. Her iki çalışmada elde edilen *Pseudomonas* spp. sayılarına ilişkin bulgular ile çalışmamızda elde edilen bulgular benzerlik göstermektedir.

4.8 *Brochothrix thermosphacta* Sayım Sonuçları

Vakum ambalajlı etlerde depolama süresince *Brochothrix thermosphacta* sayısındaki değişim çizelge 4.10'da ve şekil 4.2f'de görülmektedir. Yapılan varyans analizi *B. thermosphacta* sayısındaki değişime uygulama x süre etkileşiminin önemli (P<0.01) olduğunu göstermiştir. Depolama başlangıcında K ve LS örneklerde *B. thermosphacta* sayısı birbirlerine yakın olup, sırasıyla 3.26 ve 3.07 log kob/g iken, sürenin uzaması ile birlikte K örneklerde 35. güne kadar artmış (6.55 log kob/g), LS örneklerde ise 7. güne kadar artmış (4.69 log kob/g), bundan sonra azalmış ve 35. günde 3.36 log kob/g

olmuştur. Uygulamanın etkisi 0. gün hariç, diğer analiz periyotlarının hepsinde önemli olmuş ve LS örnekler K örneklerden önemli ($P<0.01$) düzeyde daha düşük *B. thermosphacta* sayılarına sahip olmuşlardır. Sürenin etkisi incelendiğinde, K örneklerde başlangıç, 7,14,21,ve 28. günler ile 35. gün arasında önemli ($P<0.01$) düzeyde artış olmuş, ancak bu artış 7, 14, 21 ve 28. günler arasında önemli olmazken ($P>0.01$), 35. günde yine önemli düzeyde ($P<0.01$) artmıştır.

Et ürünleri, etin rengini, dokusunu veya kokusunu değiştirebilen bakteriyel bozulma nedeniyle oldukça çabuk bozulan gıdalardır. Bozulmaya sebep olan organizmalar arasında, *Brochothrix thermosphacta*, etin korunması için kullanılan düşük depolama sıcaklığında bile çoğalarak sığır eti dahil farklı türde birçok etin yapısını bozmaktadırlar (Gribble ve Brightwell 2013).

Çizelge 4.10 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin *Brochothrix thermosphacta* sayısına (log kob/g) etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
K	3.26±0.13 ^{Ca}	5.42±0.07 ^{Ba}	5.42±0.36 ^{Ba}	5.54±0.06 ^{Ba}	5.75±0.08 ^{Ba}	6.55±0.34 ^{Aa}
LS	3.07±0.02 ^{Ca}	4.69±0.19 ^{Ab}	4.44±0.24 ^{ABb}	4.38±0.12 ^{ABb}	4.01±0.02 ^{Bb}	3.36±0.5 ^{Cb}

Sonuçlar 3 tekrerrüt ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-C: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder ($P<0.01$).

a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder ($P<0.01$).

Zhang vd. (2018), *L. sakei* ve *L. curvatus* inokülasyonu sonrası vakum ambalajlanmış dilimlenmiş sığır etinin depolanması sırasında *L. curvatus* inokülasyonunun *B. thermosphacta* sayısında önemli bir ($P>0.05$) azalmaya neden olmadığını, *L. sakei* inokülasyonunun *B. thermosphacta* çoğalmasını tüm depolama süresi boyunca önemli ölçüde ($P<0.05$) inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da *L. sakei* inokülasyonunun *B. thermosphacta* üzerinde inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur. Katikou vd. (2005), *Lactobacillus* inokülasyonu sonrası vakum ambalajlanmış sığır etini (*M. semitendinosus*) 4 °C de 28 gün depolamışlar, depolama boyunca en düşük *Brochothrix thermosphacta* sayısının, koruyucu kültür inoküle edilen örneklerde belirlendiğini ifade etmişlerdir. Depolama sonunda *L.sakei* inoküle edilen örnekler

kontrol örneklerden yaklaşık 2 log düzeyinde daha düşük sayılara sahip olmuşlardır. Çalışmamızda, *L.sakei* inoküle edilen örnekler 28. günde 3.36 logkob/g ile Katikou vd. (2018)' nin sonuçlarından daha düşük, K örnekleri ise benzer *B.thermosphacta* sayılarına sahip olmuşlardır. Bu fark, kullanılan *L.sakei* koruyucu kültürünün bakteriyosin üretme kabiliyeti ile ilişkili olabilir.

B. thermosphacta, aerobik ortamda soğukta depolanan etlerin düşük pH (5.5-5.6)' larında gelişebilmekte ve başlıca türü oluşturabilmektedir. Vakum ambalaj gibi anaerobik ortamda soğukta depolanan etlerde ortamda az miktarda oksijen olduğunda 5.8'in üzerindeki pH'larda çoğalabilmektedirler (Grau 1980). Ancak, düşük pH'ya (5.5-5.8) sahip etlerde de *B. thermosphacta* 'nın çoğalabildiği ve -1.5 °C de depolamada bile bozulma nedeni olabileceği bildirilmiştir (Gribble ve Brightwell 2013). Çalışmamızda, depolama boyunca K örneklerin 5.22-5.67 gibi düşük pH değerlerine sahip olmalarına karşın *B. thermosphacta* sayılarının 3.26 logkob/g 'den depolama sonunda 6.55 logkob/g'ye yükselmesi, *L.sakei* inoküle edilen örneklerin 5.09-5.64 aralıklarında düşük pH değerlerine sahip olmalarına karşın *B.thermosphacta* sayılarının depolama sonunda 3.36 logkob/g düzeyinde kalması biyokoruyucu kültürün bakteriyosin gibi antimikrobiyal etkiye sahip bileşikler üretme kabiliyetine bağlanabilir.

L.sakei inoküle edilen ve inokülasyonsuz vakum ambalajlanarak soğukta depolanan etlerde pH değerindeki değişim ve mikrobiyal yükteki değişim bir arada değerlendirildiğinde (Şekil 4.2), pH düşüşünün bozulma yapan mikroorganizmalar *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *B.thermosphacta* üzerine etkisi görülmektedir. *L.sakei* inokülasyonu ile LAB ortama daha hızlı adapte olmakta ve oluşturdukları başlıca metabolit olan laktik asit pH'nın düşmesine neden olmaktadır.

4.9 Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Biyokoruyucu kültür inoküle edilerek vakum ambalajlanan ve buzdolabı sıcaklığında depolanan sığır etinin duyusal niteliklerinden koku ve renk puanlarına ait ortalama sonuçlar çizelge 4.11 de verilmiştir. Yapılan varyans analizi, uygulama ve sürenin birlikte

etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir. Koku puanları incelendiğinde (7 çok iyi, 1 çok kötü) depolama süresi uzadıkça puanların azaldığı görülmekte ve depolama sonunda 2.38 puan ortalaması ile LS örnekler, 3.43 puan ortalaması ile K örneklerden daha düşük koku puanlarına sahip olmuşlardır. LS inokülasyon etkisi 0, 7 ve 28. günlerde önemsiz ($P>0.01$), diğer günlerde K örnekler LS örneklerden önemli düzeyde yüksek koku puanı almışlardır. Mikrobiyolojik sonuçlarla karşılaştırıldığında LS grubu bozulma yapan mikroorganizmaları önemli düzeyde inhibe etmesine ve K örnekler önemli düzeyde yüksek mikroorganizma yüküne sahip olmasına karşın, duyuşsal koku puanlarında tersi bir durum oluşması, LS örneklerde hissedilen yabancı (ekşimiş süt

Çizelge 4.11 *L. sakei* koruyucu kültür inokülasyonu ve depolama süresinin vakum ambalajlı sığır etinin koku ve rengine etkisi

Grup	Depolama süresi (gün)					
	0	7	14	21	28	35
Koku*						
K	6.04±0.17 ^{Aa}	5.86±0.15 ^{Aa}	5.59±0.45 ^{Aa}	4.58±0.76 ^{Ba}	3.95±0.93 ^{Ca}	3.43±0.38 ^{Da}
LS	6.15±0.13 ^{Aa}	6.29±0.29 ^{Aa}	4.85±0.25 ^{Bb}	3.88±0.33 ^{Cb}	3.90±0.79 ^{Ca}	2.38±0.30 ^{Db}
Renk*						
K	1.37±0.13 ^{Ca}	2.19±0.09 ^{Ba}	2.41±0.13 ^{Ba}	2.71±0.07 ^{Ba}	3.76±0.33 ^{Aa}	3.95±0.54 ^{Aa}
LS	1.52±0.17 ^{Ca}	2.14±0.15 ^{BCa}	2.15±0.06 ^{BCa}	2.08±0.14 ^{BCa}	2.48±0.16 ^{ABb}	3.05±0.08 ^{Ab}

Sonuçlar 3 tekrür ortalaması±standart sapması şeklinde tabloya kaydedilmiştir.

A-C: Her satırda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder.

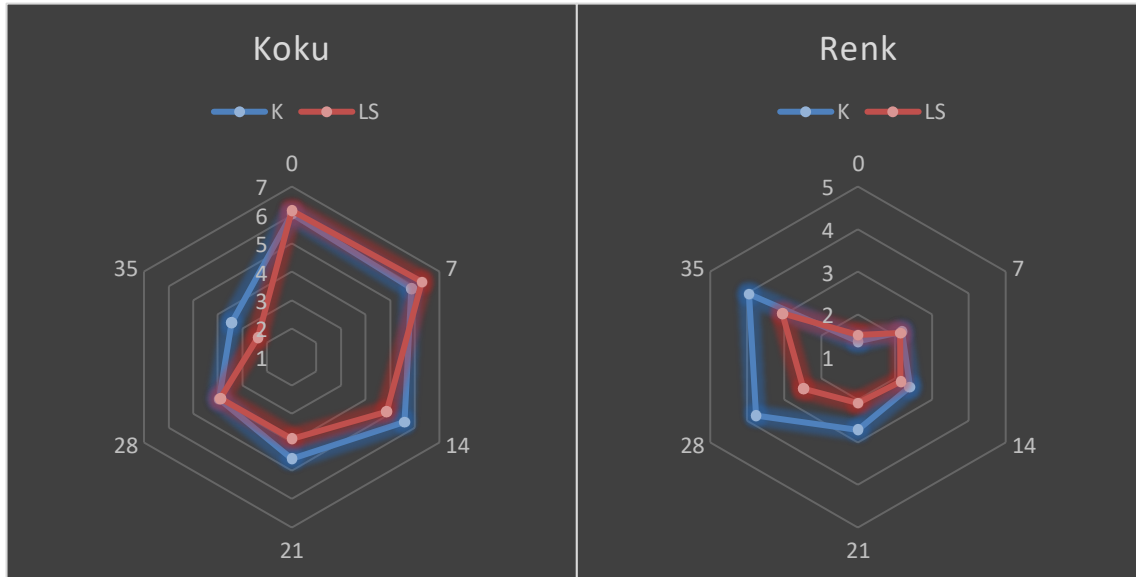
a-b: Her sütunda farklı harfler bulunan sayılar arasında önemli bir fark olduğunu ifade eder.

*Koku: 7 Çok iyi, 1 çok kötü, *Renk: 1 Oldukça parlak kırmızı, 8: Oldukça koyu kahverenk

ürünleri kokusu) kokudan kaynaklanmıştır. Kapak açılıp havalandırıldığında bu koku kaybolmuştur, ancak panelistler kapak açılır açılmaz kokladıkları kokuyu puanladıklarından LS örnekler K örneklerden daha düşük koku puanları almıştır. Panelistler 35. günde K örneklerde yoğun (1 puan karşılığı) kokuşma kokusu hissetmediklerini belirtmişler ve 35. gün koku puan ortalaması K örneklerde 3.43 olmuştur. Ancak LS örneklerde hissettikleri kokunun daha farklı olduğunu belirtmişlerdir. Nitekim Ray (2000), *L. sakei*'nin glikoz ya da diğer substratların fermantasyonu sonrası kötü kokuya neden olan uçucu yağ asitleri oluşturduğunu, ancak

bu kokunun vakum ambalaj açıldıktan sonra kaybolduğu bildirilmektedir. Sürenin koku puanlarına etkisi K örneklerde 21. günden itibaren, LS örneklerde ise 14. günden itibaren önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Vakum ambalajlı etlerde duyuusal renk değerlendirilmesi 1-8 puan arasında (1 oldukça parlak kırmızı, 8 oldukça koyu kahverenk) yapılmıştır. Renk puan ortalamalarının koku ortalamaları ile karşılaştırıldığında daha dar bir aralıkla (1.37-3.95) değişim gösterdiği şekil 4.3'da görülmektedir. Bu durum, taze etlerin 35 gün depolanmasının renk üzerinde çok fazla olumsuz bir etkiye neden olmadığını göstermektedir. Et rengi değerlendirilirken vakum ambalaj açıldıktan sonra etler atmosferik ortamda bekletilmiştir. Başlangıç renk puan ortalamaları K ve LS örneklerde sırasıyla 1.37 ve 1.52, depolama sonunda ise 3.95 ve 3.05 olarak belirlenmiştir. Varyans analizi, uygulama ve sürenin birlikte etkisinin önemli olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir. Duncan sonuçları, LS inokülasyon etkisinin 28. ve 35. günlerde önemli ($P<0.05$) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.11). Bu sonuç, 28. ve 35. günlerde LS örneklerin K örneklerden daha iyi renge sahip olduğunu göstermektedir. Sürenin etkisi incelendiğinde arzu edilir parlak kırmızı rengin K örneklerde 28. günden sonra diğer depolama periyotlarındaki renkten önemli düzeyde ($P<0.05$) azaldığı



Şekil 4.3 *L.sakei* inoküle edilen ve edilmeyen vakum ambalajlı sığır etinde depolama sırasında duyuusal koku ve renk özelliğindeki değişim

anlaşılmaktadır. LS örneklerde ise 0, 7, 14 ve 21. gün renk değerleri arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$), 28 ve 35. gün renk değerleri ile başlangıç renk değerleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Bu sonuç, *L.sakei* inokülasyonunun etin rengini daha iyi koruduğunu göstermiştir. Nitekim etin L^* ve a^* değerlerine göre de LS örneklerde depolama sonunda L^* parlaklık ve a^* kırmızılık değerlerinin artması, K örneklerde ise azalması duyuşsal renk sonuçlarını doğrulamaktadır.

Katikou vd. (2005), *Lactobacillus* biyokoruyucu kültürlerle inoküle ettikleri ve 4°C' de 28 gün depoladıkları etlerde vakum açıldığında ekşimsi süt ürünleri kokusuna benzer bir koku algılandığını, ancak 5 dakika havalandırıldığında kokunun kaybolduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar depolama süresi uzadıkça K ve inokülasyonlu örneklerin koku puanlarının azaldığını belirlemişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak K örneklerin koku puanları, inokülasyonlu örneklerden daha düşük ($P<0.05$) bulunmuştur. Araştırmacılar duyuşsal renk değerlerinde ise K ve inokülasyonlu örnekler arasında önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Castellano vd. (2010), *L.curvatus* inoküle ettikleri ve vakum ambalajlı olarak 2°C'de 60 gün depoladıkları sığır etinde, inoküle örneklerde 60 gün sonra asit kokusu geliştiğini, ancak kokuşma kokusu oluşmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada, K ve inoküle örneklerde depolama boyunca tipik aroma skorlarında azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, duyuşsal koku değerlendirmesini pişmiş örneklerde yapmışlardır.

5. SONUÇ

Bu çalışmada biyokoruyucu kültür, *L. sakei* inokülasyonunun vakum ambalajlanan sığır etinin mikrobiyal kalitesine, fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerine etkisi soğukta depolama süresince inokülasyonsuz kontrol örneklerle kıyaslanarak ortaya konulmuştur.

Biyokoruyucu kültür *L. sakei* ilave edilen ve vakum ambalajlanarak $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 35 gün depolanan taze sığır etlerinde hakim florayı *L. sakei* oluşturmuştur.

L. sakei inokülasyonu, sığır etinin bozulmasına sebep olan floranın Gram-pozitif veya Gram negatif olmasına bakılmaksızın, test edilen tüm mikrobiyal sonuçlarda kontrol grubuna kıyasla depolama süresince önemli ölçüde daha düşük mikrobiyal sayılara neden olmuştur. Bu etki koruyucu kültürün bakteriostatik aktivitesinden kaynaklanmıştır.

Vakum ambalajlı sığır etinde mikrobiyolojik kalite göstergesi olan *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. *Brochothrix thermosphacta* sayılarında önemli oranda azalma olması *L. sakei*'nin biyokoruyucu olarak kullanılabilceğini ve etin mikrobiyolojik kalitesini iyileştirdiğini göstermiştir.

L. sakei, 10^7 düzeyinde inoküle edildiğinde vakum ambalajlı sığır etinde *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *B. thermosphacta* çoğalmasını inhibe etmektedir. Bu inhibisyonun, LAB'nin metabolitleri olan laktik asit ya da hidrojen peroksitten çok muhtemelen biyokoruyucu kültür *L. sakei*'nin ürettiği antimikrobiyal maddelerden kaynaklandığı düşünölmektedir.

Eterin vakum ambalajlanması ile LAB'nin ortama hakim olması, bu bakterilerin ürettiği başlıca metabolit olan laktik asit nedeniyle pH'nın depolama boyunca düşmesine neden olmuştur. *L. sakei* inokülasyonu etin pH değerinin daha da düşmesine neden olmuştur. Düşük pH ortamının bozulma yapan mikroorganizma gelişimini engelleyici etkisi dikkate alındığında pH değerinin etin raf ömrüne olumlu etkisi olduğu söylenebilir.

L. sakei inokülasyonu parlaklık olarak bilinen L^* değerini depolama süresinde artırmış, a^* değeri ise kontrol grubunda azalırken LS grubunda korunmuştur. Ayrıca duyusal renk sonuçları, inoküle etlerin inokülasyonsuz etlerden daha yüksek puanlar aldığını, uygulamanın renk üzerinde olumlu etkisi olduğunu göstermiştir.

L. sakei inokülasyonu ile bozulma yapan mikroorganizma inhibisyon oranı daha yüksek olmasına karşın, duyusal koku puanları kontrol grubunda daha düşüktür. Bu durum, 10^6 kob/g düzeyinde inoküle edilen *L. sakei*'nin neden olduğu, alışık olunmayan yabancı kokudan kaynaklanmıştır ve bu koku et bir süre havalandırıldığında kaybolmaktadır. Bu olumsuzluğun, inoküle edilen *L. sakei* konsantrasyonunun daha az düzeyde (10^5 kob/g gibi) inoküle edilmesi ile oluşmayacağı, oluşması halinde ise, tüketilmeden önce etin bir süre havalandırılması ile giderilebileceği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aasen, I. M., Markussen, S., Møretrø, T., Katla, T., Axelsson, L. ve Naterstad, K. 2003. Interactions of the bacteriocins sakacin p and nisin with food constituents. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1), 35-43.
- Ahmad, V. Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A. ve Siddiqui, M. U. 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 1-11.
- Amani, H., Kamani, M. H., Amani, H. ve Shojaee, M. F. 2015. A Study on the decay rate of vacuum-packaged refrigerated beef using image analysis. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 5(7), 182-191.
- Amin, R. 2012. Effect of bio preservation as a modern technology on quality aspects and microbial safety of minced beef. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 7, 38-49.
- Angiolillo, L., Conte, A. ve Del Nobile, M. A. 2018. A new method to bio-preserve sea bass fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 271, 60-66.
- Anonymous. 1995. International Organization for Standardization. Meat and meat products – Enumeration of *Pseudomonas* spp. (ISO 13720).
- Anonymous. 1996. International Organization for Standardization. Meat and meat products – Enumeration of *Brochothrix thermosphacta* (ISO 13722).
- Anonymous. 2001. Guidelines for humane handling, transport and slaughter of livestock. Food and Agricultural Organization (FAO) ve Humane Society International (HIS) report.
- Anonymous. 2004a. Food and Health in Europe: A New Basis for Action, World Health Organization, Copenhagen.
- Anonymous. 2004b. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count method (ISO 21528-2:2004).
- Anonymous. 2010. Official Methods of Analysis (17th edition). Association of Official Analytical Chemists Washington, DC, USA.
- Anonim. 2012. Web sitesi: http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Duyusal%20Test%20Teknikleri.pdf Erişim Tarihi: 30.06.2021
- Anonymous. 2016. European Food Safety Authority, Panel on Biological Hazards, Growth of spoilage bacteria during storage and transport of meat.
- Anonymous. 2018. European Food Safety Authority. 2018. Current EU approved additives and their E numbers.

- Aymerich, T., Picouet, P. A. ve Monfort, J. M. 2008. Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78, 114 – 129.
- Avilés, C., Juárez, M., Larsen, I.L., A. Rodas-González, A. J. L. ve Aalhus, J.L. 2014. Effect of multiple vacuum packs on colour development and stability in beef steaks. Article in *Canadian Journal of Animal Science*, 94, 63-69.
- Baines, D. Ve Seal, R. 2012. *Natural Food Additives, Ingredients and Flavorings*. Wood Head Publishing, 488 p.
- Balamatsia, C. C., Paleologos, E. K., Kontominas, M. G. ve Savvaidis, I. N. 2006. Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4 degrees C: possible role of biogenic amines as spoilage indicators. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 89(1), 9-17.
- Barbosa, M. S., Jurkiewicz, C., Landgraf, M., Todorov, S. D. ve Franco, B. D. G. M. 2018. Effect of proteins, glucose and nacl on growth, biosynthesis and functionality of bacteriocins of *Lactobacillus sakei* subsp *sakei* 2a in foods during storage at 4 degrees C: Tests in Food Models. *LWT-Food Science and Technology*, 95,167-171
- Barbosa, M.S., Todorov, S. D., Jurkiewicz, C. H. ve Franco, B.D. G. M. 2015. Bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* MBSA2 entrapped in calcium alginate during ripening of salami for control of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47, 147-53.
- Barman, S., Ghosh, R. ve Mandal, N.C. 2018. Production optimization of broad spectrum bacteriocin of three strains of *lactococcus lactis* isolated from homemade buttermilk. *Annals of Agrarian Science*, 16(3), 286-96.
- Balow, A. 1992. *The Prokaryotes: A Hand Book on the Biology of Bacteria*; Springer-Verlog: New York.
- Ben Braïek, O., Smaoui, S., Ennouri, K., Ben Ayed, R., Hani, K., Mastouri, M., ve Ghrairi T. 2020. In Situ *Listeria monocytogenes* biocontrol and sensory attributes enhancement in raw beef meat by *Enterococcus lactis*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), 1-8.
- Beshkova, D. ve Frengova, G. 2012. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Microorganisms of potential biotechnological importance for the dairy industry. *Engineering in Life Science*, 12(4), 419–432.
- Biscola, V., Abriouel, H., Todorov, S. D., Capuano, V. S. A. C., Gálvez, A. ve Franco, B. D. G. F. 2014. Effect of autochthonous bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* on bacterial population dynamics and growth of halotolerant bacteria in Brazilian charqui. *Food Microbiology*, 44, 296-301.
- Borch, E., Kant-Muermans, M. L. ve Blixt, Y. 1996. Bacterial spoilage of meat and curedmeat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 103-120.

- Brightwell, G., Clemens, R., Ulrich, S. ve Boerema, J. 2007. Possible involvement of psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 334-39.
- Brightwell, G., Clemens, R., Adam, K., Ulrich, S. ve Boerema, J. 2009. Comparison of culture-dependent and independent techniques for characterisation of the microflora of peroxyacetic acid treated, vacuum-packaged beef. *Food Microbiology*, 26(3), 283-288.
- Broda, D.M., De Lacy, K. M., Bell, R.G., Bragiins, T.J. ve Cook, R.L. 1996. Psychrotrophic *Clostridium* spp. associated with “blown pack” spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gasimpermeable plastic casings. *International Journal of Food Microbiology*, 29 (1-2), 335-352.
- Casaburi, A., De Filippis, F., Villani, F. ve Ercolini, D. 2014. Activities of strains of *Brochothrix thermosphacta* in vitro and in meat. *Food Research International*, 62, 366-374.
- Castellano, P. ve Vignolo, G. 2006. Inhibition of *Listeria innocua* and *Brochothrix thermosphacta* in vacuum-packaged meat by addition of bacteriocinogenic *Lactobacillus curvatus* CRL705 and its bacteriocins. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 194-199.
- Castellano, P., González, C., Carduza, F. ve Vignolo, G. 2010. Protective action of *Lactobacillus curvatus* CRL705 on vacuum-packaged raw beef. Effect on sensory and structural characteristics. *Meat Science*, 85(3), 394-401.
- Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S. ve Vignolo, G. 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79, 483-499.
- Castellano, P., Belfiore, C. ve Vignolo, G. 2011. Combination of bioprotective cultures with EDTA to reduce *Escherichia coli* O157:H7 in frozen ground-beef patties. *Food Control*, 22(8), 1461-1465.
- Chaillou, S., Christieans, S., Rivollier, M., Lucquin, I., Vergès, M.C. C. ve Zagorec, M. 2014. Quantification and efficiency of *Lactobacillus sakei* strain mixtures used as protective cultures in ground beef. *Meat Science*, 97, 332–338.
- Cerveny, J., Meyer, J.D. ve Hall, P.A. 2009. Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages, In: *Microbiological Spoilage of Meat and Poultry Products*. Sperber, W.H. and Doyle, M.P. (eds), Springer Science and Business Media, 69-86 New York.
- Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A. ve Dicks, L. M. T. 2018. Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23-28.
- Church, N. 1998. MAP fish and crustaceans-sensory enhancement. *Food Science and Technology Today*, 12(2), 73-80
- Comi, G. 2017. Spoilage of meat and fish. In: *The Microbiological Quality of Food*. Bevilacqua, A., Corbo M. R., and Sinigaglia M. (eds), Elsevier, 179-210, Boston.

- Cotter, P. D., Hill, C. ve Ross, R. P. 2005. Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10),777-788.
- Cutter, C. N. 2006. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, 74(1), 131-142.
- Çiçek, Ü., Karabıyıklı, Ş., Çabuk, D., İyiekmekçi, B., Kurbandurdiyev, H. ve Cevahiroğlu H. 2013. Dana etinin bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine farklı ambalajlama yöntemleri ve depolama süresinin etkisi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 30(2), 62-70.
- Dainty, R. H. ve Mackey, B. M. 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chilled-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 103-114.
- Danijela, Š. Z., Vera, L.L., Ljubinkol, L.B., Lato, P.L. ve Vladimir, T.M. 2013. Effect of specific packaging conditions on myoglobin and meat color. *Food and Feed Research*, 40 (1), 1-10.
- Dave, D. ve Ghaly, A.E. 2011. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510.
- Djenane, D., Martínez, L., Blanco, D., Yangüela, J., Beltrán, J. A. ve Roncalés, P. 2005. Effect of lactic acid bacteria on extension of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef steaks stored in CO₂- rich atmosphere. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36(4), 405-412.
- Doyle, M. E. 2007. Microbial food spoilage. Losses and control strategies. *Food Research Institute*, 1-16.
- Egan, A.F. 1983. Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek* 49, 327-336.
- Elayaraja, S., Annamalai, N., Mayavu, P. ve Balasubramanian, T. 2014. Production, purification and characterization of bacteriocin from *Lactobacillus murinus* AU06 and its broad antibacterial spectrum. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, 305-311.
- Ellis, D. I. ve Goodacre, R. 2001. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: Current status and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 12(11), 414-424.
- Ercolini, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P. ve Villani, F. 2006. Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 4663-4671.
- Erkmen, O. ve Bozoglu, T. F. 2016. Spoilage of meat and meat products. In: *Food Microbiology: Principles into Practice*. Erkmen, O. ve Bozoglu, T. F. (eds), Wiley. 279-295
- Field, D., Ross, R. P. ve Hill, C. 2018. Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. *Current Opinion in Food Science*, 20, 1-6.

- Fu, A.H., Molins, R.A. ve Sebranek, J.G. 1992. Storage quality characteristics of beef rib eye steaks packaged in modified atmospheres. *Journal of Food Microbiology*, 57, 283–287.
- Fu, Y., Sarkar, P., Bhunia, A. K. ve Yao, Y. 2016. Delivery systems of antimicrobial compounds to food. *Trends in Food Science and Technology*, 57, 165-177.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L. ve Omar N. B. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), 51-70.
- Gill, C. O. ve Newton, K. G. 1977. The Development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 43(2), 189-195.
- Gill, C.O. 2004. Spoilage factors affecting, In: *Encyclopaedia of Meat Science*. Jensen, W.J., Devine, C.E. ve Dikeman, M. (eds.), Elsevier Ltd, 1324–1330 Oxford.
- Gómez-Sala, B., Herranz, C., Díaz-Freitas, B., Hernández, P. E., Sala, A. ve Cintas, L. M. 2016. Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: Biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin. *International Journal of Food Microbiology*, 223, 41-49.
- Gouet, P., Labadie, J. ve Serratore, C. 1978. Development of *Listeria monocytogenes* in monoxenic and polyxenic beef minces. *Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene*, 166, 87- 94.
- Gokoğlu, N., Yerlikaya, P., Uran, H. ve Topuz, O.K. 2011. Effects of packaging atmospheres on the quality and shelf life of beef steaks. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(3), 435-439.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y. ve Zorba, Ö. 1993. Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Yayın no. 318, Erzurum.
- Grau, F. H. 1980. Inhibition of the anaerobic growth of *Brochothrix thermosphacta* by lactic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(3), 433–436.
- Gribble, A. ve Brightwell, G. 2013. Spoilage characteristics of *Brochothrix thermosphacta* and *campestris* in chilled vacuum packaged lamb, and their detection and identification by real time PCR. *Meat Science*, 94(3), 361–368.
- Hancock, R. E. W. ve Sahl, H.G. 2006. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1551-1557.
- Henning, S., Metz, R. ve Hammes, W. P. 1986. New Aspects for the application of nisin to food products based on its mode of action. *International Journal of Food Microbiology*, 3(3), 135-141.
- Hernández-Macedo, M. L., Barancelli, G.V. ve Contreras-Castillo, C. J. 2011. Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1-11.
- Holley, R. A., Peirson, M. D., Lam, J. ve Tan, K. B. 2004. Microbial profiles of commercial, vacuum-packaged, fresh pork of normal or short storage life. *International Journal of Food Microbiology*, 97(1), 53-62.

- Hugas, M., Pages, F., Garriga M. ve Monfort, J. M., 1998. Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packaged with different atmospheres. *Food Microbiology*, 15, 639-650.
- Insausti, K., Berian, M. J., Purroy, A., Albert, P., Lizaso, L.ve Hernandez, B. 1999. Colour stability of beef from different spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Science*, 53, 241–249
- Ibrahim, S. M., Nassar, A. G. ve El-Badry, N. 2008. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging methods on some quality aspects of smoked mullet (*Mugil cephalus*). *Global Veterinaria*, 2 (6), 296-300.
- Jay, J. M., Loessner, M. J. ve Golden, D. A. 2005. *Modern Food Microbiology*. Springer, 7, New York.
- Jones, R. J. 2004. Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 90(3), 273-282.
- Jones, R. J., Wiklund, E., Zagorec, M. ve Tagg, J. R. 2010. Evaluation of stored lamb bio-preserved using a three-strain cocktail of *lactobacillus sakei*. *Meat Science*, 86(4), 955-959.
- Jung, D. S., Bodyfelt, F. W. ve Daeschel, M. A. 1992. Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 75(2), 387-393.
- Juven, B. J., Barefoot, S. F., Pierson, M. D., McCaskill, L. H. ve Smith, B. 1998. Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged ground beef inoculated with *Lactobacillus alimentarius* Flora Carn L-2. *Journal of Food Protection*, 61, 551-556.
- Kaletta, C. ve Entian, K. D. 1989. Nisin, a peptide antibiotic: cloning and sequencing of the nisA gene and posttranslational processing of its peptide product. *Journal of Bacteriology*, 171(3), 1597-1601.
- Katikou, P., Ambrosiadis, I., Georgantelis, D., Koidis, P. ve Georgakis, S. A. 2005. Effect of *Lactobacillus*-protective cultures with bacteriocin-like inhibitory substances producing ability on microbiological, chemical and sensory changes during storage of refrigerated vacuum-packaged sliced beef. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1303-1313.
- Kerry, J. P., Kerry, J. F. ve Ledward, D. 2002. *Meat Processing: Improving Quality*, Elsevier 481, Cambridge, England.
- Kerry, J. P., O’Grady, M. N. ve Hogan, S. A. 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74(1), 113-130.
- Kerry, J. P. ve Tyuftin, A. A. 2017. Storage and preservation of raw meat and muscle-based food products: IV Storage and packaging, In: *Lawrie’s Meat Science (Eighth Edition)*, F. Toldra ´ (eds), Elsevier, pp.297-327, Duxford, United Kingdom.

- Kuleaşan, H. 2002. Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin tanımlanması, sınıflandırılması ve bunların bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. 2005. Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanım olanakları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(1),77-83.
- Kwaadsteniet, M., Doeschate, K. ve Dicks, L. M. T. 2008. Characterization of the structural gene encoding nisin F, a new lantibiotic produced by a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate from freshwater catfish (*Clarias Gariepinus*). Applied and Environmental Microbiology, 74(2), 547-549.
- Labadie, J. 1999. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. Meat Science, 52(3), 299-305.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S. ve Wright, A.Y. 2011. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Fourth Edition. 780, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Lawrie, R. A. ve Ledward, D. A. 2006. Lawrie's Meat Science (Seventh edition), Woodhead Publishing Limited, pp. 279-337 Cambridge, England.
- Lebert, I., Begot, C. ve Lebert, A. 1998. Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5.8–7.0), water activity (0.97–1.00) and temperature (7–25°C). International Journal of Food Microbiology, 39(1), 53-60.
- Leistner, L. ve Gorris, L. G. M. 1995. Food preservation by hurdle technology. Trends in Food Science and Technology, 6(2), 41-46.
- Leisner, J. J., Greer, G. G., Dilts, B. D. ve Stiles, M. E. 1995. Effect of growth of selected lactic acid bacteria on storage life of beef stored under vacuum and in air. International Journal of Food Microbiology, 26, 231-243.
- Leisner, J. J., Greer, G. G. ve Stiles, M. E. 1996. Control of beef spoilage by a sulfide producing *Lactobacillus sakei* strain with bacteriocinogenic *Leuconostoc gelidum* UAL187 during anaerobic storage at 2 °C. Applied and Environmental Microbiology, 62, 2610-2614.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. International Journal of Food Microbiology, 55(1-3), 181-186.
- Li, M. Y., Zhou, G. H., Xu, X. L., Li, C. B. ve Zhu, W. Y. 2006. Changes of bacterial diversity and main flora in chilled pork during storage using PCR-DGGE. Food Microbiology, 23(7), 607-611.
- Lücke, F. K. ve Earnshaw, R. 1991. Starter cultures. In: Food preservatives. N. S. Russell, ve G.W. Gould, (eds), Springer, pp. 215-234, Glasgow.
- Lücke, F.K. 2000. Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Science 56(2), 105-115.

- Macedo, M. L. H., Barancelli, G. V. ve Castillo, C. J. C. 2011. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1-11.
- Mancini, R. A. 2009. Meat colour. In: *Applied Muscle Biology and Meat*. M. Du ve R. J. McCormick (eds.), CRC Press, pp. 217-225. Taylor and Francis Group, New York, NY.
- McMillin, K. W. 2008. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80, 43–46.
- Menousek, J. Mishra, B., Hanke, M. L. Heim, C. E., Kielian, T. ve Wang. G. 2012. Database screening and in vivo efficacy of antimicrobial peptides against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(5), 402-406.
- Mills, S., Ross, R. P. ve Hill. C. 2017. Bacteriocins and bacteriophage; A narrow-minded approach to food and gut microbiology. *Federation European Microbiological Societies Microbiology Reviews* 41,129-153.
- Mulders, J. W., Boerrigter, I. J., Rollema, H. S., Siezen, R. J. ve De Vos, W. M. 1991. Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z, a natural nisin variant. *European Journal of Biochemistry*, 201(3), 581-584.
- Nychas, G.J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C. ve Koutsoumanis, K. P. 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1-2),77-89.
- O'Connor, P. M., O'Shea, E. F., Guinane, C. M. O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, R. P. ve Hill, C. 2015a. Nisin H is a new nisin variant produced by the gut-derived strain *Streptococcus Hyointestinalis* DPC6484. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(12), 3953-3960.
- O'Connor, P. M, Ross, R. P., Hill, C. ve Cotter, P. D. 2015b. Antimicrobial antagonists against food pathogens: A bacteriocin perspective. *Current Opinion in Food Science*, 2, 51-57.
- O'Connor, P. M., Kuniyoshi, T. M., Oliveira, R. P.S., Hill, C., Ross, R. P. ve Cotter, P. D. 2020. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 160-167.
- Öksüztepe, G., Patir, B. ve Çalicioğlu, M. 2005. Identification and distribution of lactic acid bacteria during the ripening of şavak tulum cheese. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3), 873-879.
- Öztan, A. 2015. Et Bilimi ve Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, Ankara,
- Parry, R. T. 1993. *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods*. Springer, pp. 1-19, Boston.
- Pin, C., García de Fernando, G. D. ve Ordóñez. J. A. 2002. Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4441-4447.

- Piper, C., Hill, C., Cotter, P. D. ve Ross, R. P. 2011. Bioengineering of a nisin a-producing *Lactococcus lactis* to create isogenic strains producing the natural variants nisin F, Q and Z. *Microbial Biotechnology*, 4(3), 375-382.
- Radaic, A., Bispo de Jesus, M. ve Kapila, Y. L. 2020. Bacterial anti-microbial peptides and nano-sized drug delivery systems: The state of the art toward improved bacteriocins. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 321, 100-118.
- Rahman, S. 1999. *Handbook of Food Preservation*. Marcel Dekker, 809 p. New York.
- Ray, B. 2000. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, 625 p, Boca Raton- Florida, USA.
- Ray, B. ve Bhunia, A. 2008. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Boca Raton-Florida USA.
- Rivas, F. P., Castro, M. P., Vallejo, M., Marguet, E. ve Campos, C. A. 2014. Sakacin Q produced by *Lactobacillus curvatus* ACU-1: Functionality characterization and antilisterial activity on cooked meat surface. *Meat Science*, 97(4), 475-479.
- Riley, M. A. ve Wertz, J. E. 2002. Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives. *Biochimie*, 84, 357–364.
- Ross, R. P., Morgan, S. ve Hill, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 3-16.
- Russo, F., Ercolini, D. Mauriello, G. ve Villani, F. 2006. Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. *Food Microbiology*, 23(8), 797-802.
- Samelis, J. 2006. Managing microbial spoilage in the meat industry, In: *Food Spoilage Microorganisms*. Blackburn, C. W. (eds), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 213-286, Cambridge, England.
- Sakala, R.M., Hayashidani, H., Kato, Y., Hirata, T., Makino, Y., Fukushima, A., Yamada, T., Kaneuchi, C. ve Ogawa, M. 2002. Change in the composition of the microflora on vacuum-packaged beef during chiller storage. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 87–99.
- Schelegueda, L. I., Vallejo, M., Gliemmo, M. F., Marguet, E. R. ve Campos, C. A. 2015. Synergistic antimicrobial action and potential application for fish preservation of a bacteriocin produced by *Enterococcus mundtii* isolated from *Odontesthes platensis*. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 794-801.
- Schillinger, U., Geisen, R. ve Holzapfel, W.H. 1996. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 58–64.
- Seideman, S. C. ve Durland, P. R. 1982. Vacuum packaging of fresh beef: A review. *Journal of Food Quality*, 6(1), 29-47.

- Sharma, S. 2015. Food preservatives and their harmful effects. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(4), 1-2.
- Sparo, M. D., Confalonieri, A., Urbizu, L., Ceci, M. ve Sánchez Bruni, S. F. 2013. Bio-preservation of ground beef meat by *Enterococcus faecalis* CECT7121. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 43-49.
- Spring, S., Merkhoffer, B., Weiss, N., Kroppenstedt, R. M. Hippe, H. ve Stackebrandt, E. 2003. Characterization of novel psychrophilic clostridia from an antarctic microbial mat: Description of *Clostridium frigoris* Sp. Nov., *Clostridium Lacusfryxellense* Sp. Nov., *Clostridium Bowmanii* Sp. Nov. and *Clostridium Psychrophilum* Sp. Nov. and reclassification of *Clostridium Laramiense* as *Clostridium Estertheticum* Subsp. *Laramiense* Subsp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1019-1029.
- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S.M., Tamplin, M. ve Chandry, P.S. 2017. Insight into the genome of *Brochothrix thermosphacta*, a problematic meat spoilage bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5), e02786-16.
- Stella, S., Ripamonti, B., Vandoni, S., Bernardi, C. ve Sgoifo Rossi, C. A. 2013. Microbiological and physicochemical quality evaluation of vacuum-packed argentine beef imported into italy: quality of imported argentine beef. *Journal of Food Quality*, 36(4), 253-262.
- Stella, S., Bernardi, C., Cattaneo, P., Colombo, F., ve Tirloni, E. 2016. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of mixtures of *Lactobacillus sakei* and *L. curvatus* isolated from Argentine meat and their application on vacuum-packed beef. *Italian Journal of Food Science*, 28(4), 612-624.
- Stiles, M. E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70(2-4), 331-345.
- Strack, L., Carli, R. C., Vieira da Silva, R., Sartor, K. B., Colla, L. M. ve Reinehr, C. O. 2020. Food biopreservation using antimicrobials produced by lactic acid bacteria. *Research, Society and Development*, 9(8), 1-29.
- Struyk, A. P., Hoette, I., Drost, G., Waisvisz, J. M., Van Eek, T. ve Hoogerheide, J. C. 1957. Pimaricin, a new antifungal antibiotic. *Antibiotics Annual*, 5, 878-885.
- Sudalayandi, K. 2011. Efficacy of lactic acid bacteria in the reduction of trimethylamine-nitrogen and related spoilage derivatives of fresh indian mackerel fish chunks. *African Journal of Biotechnology*, 10(1), 42-47.
- Sun, Z., Wang, X., Zhang, X., Wu, H., Zou, Y., Li, P., Sun, C., Xu, W., Liu, F. ve Wang, D. 2018. Class III bacteriocin helveticin-m causes sublethal damage on target cells through impairment of cell wall and membrane. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 45(3), 213-227.
- Tağı, Ş. 2010. Mikrobiyolojik analiz yöntemleri. *Gıda Analizleri Kitabı*, B. Cemeroğlu (Ed.) 2. Baskı. Bizim Grup Basımevi, s.443-524.

- Trabelsi, I., Slima, S. B., Ktari, N., Triki, M., Abdehedi, R., Abaza, W. ve Salah, R. B. 2019. Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage, *Meat Science*, 154, 29-36.
- Uroić, K., Novak, J., Hynönen, U., Pietilä, T. E., Pavunc, A. L., Kant, R., Kos, B., Palva, A. ve Šušković, J. 2016. The Role of S-layer in adhesive and immunomodulating properties of probiotic starter culture *Lactobacillus brevis* D6 isolated from artisanal smoked fresh cheese. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie - Food Science and Technology*, 69, 623-632.
- Ünlütürk A, Turantaş, F. 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. 1. Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Vergès, M. C. C., Chaillou, S., Cornet, M. ve Zagorec, M. 2001. *Lactobacillus sakei*: recent developments and future prospects. *Research in Microbiology*, 152, 839–848.
- Vila-Farres, X., Garcia de la Maria, C., Rojas, R. L., Pachón, J., Giralt, E. ve Vila, J. 2012. In vitro activity of several antimicrobial peptides against colistin-susceptible and colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(4), 383-387.
- Walker, S.J. 2003. Chilled storage: microbiological considerations, In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Caballero, B. Trugo, L. ve Finglas, P.M. (eds), Academic Press, pp. 1180–1186, San Diego.
- Wang, X., Ren, H., Wang, W. ve Xie, Z. J. 2016. Effects of a starter culture on histamine reduction, nitrite depletion and oxidative stability of fermented sausages. *Journal of Food Safety*, 36(2), 195-202.
- Wang, J., Zhang, S., Ouyang, Y. ve Li, R. 2019. Current developments of bacteriocins, screening methods and their application in aquaculture and aquatic products. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 1-8.
- Wirawan, R. E., Klesse, N. A., Jack, R. W. ve Tagg, J. R. 2006. Molecular and genetic characterization of a novel nisin variant produced by *Streptococcus uberis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(2), 1148-1156.
- Woraprayote, W., Pumpuang, L., Tosukhowong, A., Zendo, T., Sonomoto, K., Benjakul, S. ve Visessanguan, W. 2018. Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 427-433.
- Wu, G., Li, X., Fan, X., Wu, H., Wang, S., Shen, Z. ve Xi, T. 2011. The activity of antimicrobial peptide s-thanatin is independent on multidrug-resistant spectrum of bacteria. *Peptides*, 32(6), 1139-1145.
- Zhang, Y., Zhu, L., Dong, P., Liang, R., Mao, Y., Qiu, S. ve Luo, X. 2017. Bio-protective potential of lactic acid bacteria: Effect of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* on changes of the microbial community in vacuum-packaged chilled beef. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(4), 585-594.

- Zendo, T., Fukao, M., Ueda, K., Nakayama, T. H., J. ve Sonomoto, K. 2003. Identification of the lantibiotic nisin Q, a new natural nisin variant produced by *Lactococcus lactis* 61-14 isolated from a river in japan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(7), 1616-1619.
- Zhou, G. H., Xu, X. L. ve Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, 86(1), 119-128.
- Zou, J., Jiang, H., Cheng, H., Fang, J. ve Huang, G. 2018. Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 781-789.



EKLER

EK 1 Duyusal Değerlendirme Formu

EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri



EK 1

BİYOKORUYUCU KÜLTÜR İNOKÜLE EDİLEN TAZE ET DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Ürün: Vakum ambalajlı sığır eti

Panelist ad-soyad:

Tarih:

Saat:

KOKU

Puanlama Ölçeği	7 Çok taze çiğ et kokusu	6 Çiğ et kokusu	5 Az çiğ Et kokusu	4 Nötr koku	3 Biraz kötü Koku	2 Kötü Koku	1 Çok yoğun kokuşma kokusu
111							
115							
119							
121							
125							
131							

Not: Örnekler arası kahve ve su koklayarak bir önceki örnek kokusunun etkisini nötürleyiniz.

Koku deskriptörleri

Çiğ et	Taze çiğ et kokusu
Putrit	Kokuşmuş et kokusu
Asit	Fermente et kokusu
Ransit	Acı yağ kokusu
Metalik	Metalik koku

Belirtmek istediğiniz varsa buraya yazınız.

**BİYOKORUYUCU KÜLTÜR İNOKÜLE EDİLEN TAZE ET
DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU**

Ürün: Vakum ambalajlı sığır eti

Panelist ad-soyad:

Tarih:

Saat:

RENK

Puanlama Ölçeği	8 Oldukça Koyu kahve	7 Kahve rengi	6 Orta düzeyde kahve rengi	5 Biraz kahve kiraz- kırmızı	4 Biraz parlak kiraz- kırmızı	3 Orta düzeyde parlak kiraz- kırmızı	2 Parlak kiraz kırmızı	1 Oldukça parlak kiraz kırmızı
111								
115								
119								
121								
125								
131								

Belirtmek istediğiniz varsa buraya yazınız.

EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri

Çizelge Ek 2.1 Biyokoruyucu kültür ilavesinin ve depolama süresinin vakum ambalajlı etin fizokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

Mikrobiyolojik ve fizikokimyasal zellikler	Grup x Gün İnteraksiyonu	Grup	Gün
<i>pH</i>	0.003	0.007	0.000
<i>L* değeri</i>	0.000	0.000	0.004
<i>a* değeri</i>	0.000	0.270	0.008
<i>b* değeri</i>	0.000	0.037	0.000
<i>TAMB</i>	0.000	0.002	0.000
<i>LAB</i>	0.000	0.000	0.000
<i>Enterobactericia</i>	0.002	0.001	0.000
<i>Pseudomonas spp.</i>	0.000	0.001	0.000
<i>B. thermosphacta</i>	0.000	0.000	0.000

Çizelge Ek 2.2 Biyokoruyucu kültür ilavesinin ve depolama süresinin vakum ambalajlı etin duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

Duyusal zellikler	Grup x Gün İnteraksiyonu	Grup	Gün
Koku	0.000	0.003	0.000
Renk	0.012	0.166	0.000