T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

PROBİYOTİK VE PREBİYOTİK KATKILI KORUK SUYUNUN ET MARİNASYONUNDA KULLANIMI VE ETE İNOKÜLE EDİLEN PATOJENLER ÜZERİNE İNAKTİVASYON ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Ahmet GARGI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

PROBİYOTİK VE PREBİYOTİK KATKILI KORUK SUYUNUN ET MARİNASYONUNDA KULLANIMI VE ETE İNOKÜLE EDİLEN PATOJENLER ÜZERİNE İNAKTİVASYON ETKİSİ

Ahmet GARGI

Danışman: Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2020

Ahmet GARGI tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan "Probiyotik ve prebiyotik katkılı koruk suyunun et marinasyonunda kullanımı ve ete inoküle edilen patojenler üzerine inaktivasyon etkisi" başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10.01.2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:		**İmza**
Jüri Başkanı	**: .....**	**.....**
Raportör Üye	**: .....**	**.....**
Üye	**: .....**	**.....**

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Probiyotik ve prebiyotik katkılı koruk suyunun et marinasyonunda kullanımı ve ete inoküle edilen patojenler üzerine inaktivasyon etkisi" başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

10/01/2020

İmzası

Adı-Soyadı

Ahmet GARGI

ÖZET

PROBİYOTİK VE PREBİYOTİK KATKILI KORUK SUYUNUN ET MARİNASYONUNDA KULLANIMI VE ETE İNOKÜLE EDİLEN PATOJENLER ÜZERİNE İNAKTİVASYON ETKİSİ

GARGI, Ahmet

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Ocak 2020, 113 sayfa

Bu çalışmada, koruk suyu (KS), soğan suyu (SS) ve probiyotik (*Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus rhamnosus*) ilavesiyle hazırlanan marinasyon sıvılarının fizikokimyasal ve antimikrobiyal özellikleri belirlenerek et marinasyonunda kullanımlarının ürün güvenliği üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla marinasyon sıvıları %25 KS, %23 SS ve %2 oranında tek veya karışık kültür içerecek şekilde hazırlanmış, probiyotik ve SS içermeyen marinasyon sıvısı (MS5) ise kontrol olarak kullanılmıştır. Elde edilen marinasyon sıvılarının gıda güvenliği üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla patojenlerle inoküle (6 log kob/g) edilen et örnekleri marinasyon sıvıları ile 4°C'de 2, 24 ve 48 sa. süre ile marine edilmiştir. Marinasyon işlemi sonunda ete inoküle edilen *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* Typhimurium sayılarının sırasıyla 0.676-2.719 log kob/g, 2.127- 3.34 log kob/g ve 0.781-1.987 log kob/g aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Et örneklerinde *E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium sayılarını en etkili şekilde azaltan uygulamanın MS2 (%25 KS + %23 SS + %2 *L. casei* (10^9 kob/mL) + %50 su) ile 48 sa. marinasyon işlemi olduğu, *L. monocytogenes* için ise en etkili uygulananın MS5 (%25 KS + %75 su) ile 48 sa. marinasyon işlemi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *L. casei* içeren marinasyon sıvısı (MS2) ile marine edilen et örneğinin görünüm, renk, doku, lezzet ve genel beğeni açısından en çok tercih edilen örnek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Koruk suyu, probiyotik, prebiyotik, et, marinasyon, gıda güvenliği

ABSTRACT

THE USAGE OF PROBIOTIC AND PREBIOTIC ADDED KORUK JUICE IN MEAT MARINATION AND ITS INACTIVATION EFFECT AGAINST PATHOGENS INOCULATED ON MEAT

GARGI, Ahmet

MSc in Food Eng.
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN
January 2020, 113 pages

In this study, physicochemical and antimicrobial properties of marination liquids containing koruk juice (KS), onion juice (SS) and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus*) were determined and their effects on product safety were investigated. For this purpose, the marination liquids were prepared to contain 25% KS, 23% SS and 2% single or mix culture, and probiotic and SS free marination liquid (MS5) was used as a control. In order to determine the effects of the obtained marinating liquids on food safety, meat samples inoculated with pathogens (6 log cfu/g) were marinated with marinating liquids at 4℃ for 2, 24 and 48 hours. At the end of the marination process the numbers of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on meat samples were varied between 0.676-2.719 log cfu/g, 2.127-3.34 log cfu/g and 0.781-1.987 log cfu/g, respectively. The most effective reduction in the number of *E. coli* O157: H7 and *S.* Typhimurium on meat samples was achieved by 48 hour marination with MS2 (25% KS + 23% SS + 2% *L.* casei (10^9 cfu / mL) + 50% water), for *L. monocytogenes*, the most effective application was found to be 48 hours of marination with MS5 (25% KS + 75% water). In addition, it was found that the meat sample which was marinated with marination liquids containing *L. casei* was the most preferred sample in terms of appearance, color, texture, taste and overall acceptability.

Key words: Koruk juice, probiotic, prebiotic, meat, marination, food safety

ÖNSÖZ

Et, küçükbaş veya büyükbaş hayvanlardan elde edilen önemli bir besin kaynağıdır. Bu gıda maddesi protein, yağ, mineral, vitamin ve biyoaktif bileşenlerce zengin bir yapıya sahiptir. Dünya'da 2018 yılı boyunca kişi başı ortalama 34.7 kg et tüketilirken, bu miktar Türkiye'de 32.1 kg olmuştur. Etin besinsel değeri birçok faktöre bağlı olarak değişmekle birlikte (hayvanın türü, ırkı, kas tipi, beslenme şekli), taze sığır eti ortalama %23.2 protein, %2.8 yağ ve %73.1 su içermektedir. Kesilen hayvanın eti steril olsa da tüketim aşamasına gelene kadar birçok kontaminasyon riskiyle karşılaşmakta, sağlık açısından son derece riskli mikroorganizmalar ile kontamine olabilmektedir. Öyle ki Dünya Sağlık Örgütü'nün bildirdiği verilere göre yılda 600 milyon kişi gıda kaynaklı hastalıklara yakalanmakta, 420 bin kişi ise hayatını kaybetmektedir. Et kaynaklı hastalıklardan sorumlu, insan sağlığını son derece olumsuz yönde etkileyen mikroorganizmalar arasında *S.* Typhimurium, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* bulunmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıkların önlenebilmesi ve gıdaları daha güvenilir hale getirebilmek amacıyla gıda endistürisinde çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte sentetik koruyucuların tüketici sağlığı üzerinde yarattığı olumsuzluklar nedeniyle gıda güvenliğini sağlamada bitkisel kaynaklı katkı maddelerinin kullanımı üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Bu tez çalışmasında bitkisel bir kaynak olarak koruk suyu ile soğan suyuna ilaveten ürettiği metabolitler ile insan sağlığını olumlu yönde etkileyen probiyotiklerin ilavesiyle üretilen sıvıların et marinasyonunda kullanılması ve böylece bu ürün grubunun güvenilirliğinin arttırılması amaçlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET vii

ABSTRACT ix

ÖNSÖZ xi

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1 Et 4

2.1.1 Etin mikrobiyolojisi 5

2.1.2 Et kaynaklı hastalıklar 7

2.1.3 Et ve et ürünlerine uygulanan muhafaza yöntemleri 8

2.1.3.1 Su aktivitesinin kontrolü 9

2.1.3.2 Düşük sıcaklıklarda muhafaza 9

2.1.3.3 Kimyasal maddeler ile muhafaza 10

2.1.3.4 Diğer muhafaza yöntemleri 11

2.2 Gıdalarda Kullanılan Doğal Koruyucular 13

2.2.1 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyal maddeler 14

2.2.1.1 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyal maddelerin etkilerinin laboratuvar ortamında incelendiği çalışmalar 17

2.2.1.2 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyallerin et ve et ürünleri üzerine etkinliklerinin incelendiği çalışmalar 18

2.3 Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antimikrobiyal Maddeler 19

2.3.1 Probiyotikler 20

2.3.1.1 Probiyotikler tarafından üretilen metabolitler ve patojenler üzerine etkileri 21

2.3.1.2 Gıdalarda kullanılan probiyotikler ve gıda güvenliği açısından etkileri 23

2.4 Koruk 28

İÇİNDEKİLER (devam)

2.4.1 Koruk suyunun kimyasal özelliklerinin belirlendiği çalışmalar 30

2.4.2 Koruk suyunun antimikrobiyal özellikleri 31

2.5 Soğan 32

2.5.1 Soğanın kimyasal yapısı 33

2.5.2 Soğanın prebiyotik özelliği 34

2.6 Marinasyon 34

2.6.1 Marinasyon yöntemleri 35

2.6.3 Marinasyon işlemini etkileyen faktörler 36

2.6.2 Marinasyon amacıyla kullanılan maddeler 36

2.6.3 Marinasyon işleminin etkilerinin incelendiği çalışmalar 38

3. GEREÇ VE YÖNTEM 41

3.1 Koruk Suyu Üretimi 41

3.2 Soğan Suyu Üretimi 42

3.3 Probiyotik Kültürlerin Aktivasyonu 42

3.4 Marinasyon Sıvılarının Hazırlığı 42

3.5 Marine Edilecek Dana Etinin Hazırlığı 43

3.6 İnokülasyon Çalışmasında Kullanılan Patojen Mikroorganizmalar 43

3.7 Dana Etinin Patojen Mikroorganizmalar ile İnokülasyonu 44

3.8 Patojen İnoküle Edilen Dana Eti Örneklerinin Marinasyonu 45

3.9 Analiz Yöntemleri 46

3.9.1 Fiziksel ve kimyasal analizler 46

3.9.1.1 pH tayini 46

3.9.1.2 Toplam asitlik 46

3.9.1.3 Toplam fenolik madde içeriği 46

3.9.1.4 Antioksidan kapasite 46

İÇİNDEKİLER (devam)

3.9.1.5 Pişme kaybı 47

3.9.1.6 Renk 48

3.9.2 Mikrobiyolojik analizler 48

3.9.2.1 *L. monocytogenes* aranması 48

3.9.2.2 *E. coli* O157:H7 aranması 49

3.9.2.3 *Salmonella* spp. aranması 49

3.9.2.4 *L. monocytogenes* sayımı 49

3.9.2.5 *E. coli* O157:H7 sayımı 49

3.9.2.6 *S.* Typhimurium sayımı 50

3.9.2.7 Antimikrobiyal aktivite testi 50

3.9.3 Duyusal değerlendirme 51

3.9.4 İstatistiksel değerlendirme 51

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 52

4.1 Marinasyon Sıvılarının pH ve Asitlik Değerleri 57

4.2 Marinasyon Sıvılarının Fenolik Madde İçeriği 59

4.3 Marinasyon Sıvılarının Antioksidan Aktivitesi 61

4.4 Marinasyon Sıvılarının Antimikrobiyal Aktivitesi 62

4.5. Marinasyon Sıvılarının Dana Etine İnoküle Edilen Patojenlere Karşı İnaktivasyon Etkisi 67

4.6 Marine Edilen Etlerin pH ve Asitlik Değerleri 72

4.7 Marine Edilen Et Örneklerinin Pişme Kaybı Değerleri 74

4.8 Marine Edilen Et Örneklerinin Renk Özellikleri 75

4.9 Marinasyonun Dana Etinin Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi 77

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 81

KAYNAKLAR DİZİNİ 84

TEŞEKKÜR 112

İÇİNDEKİLER (devam)

ÖZGEÇMİŞ 113

EKLER .....

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Sayfa

3.1 Koruk suyu üretim akış şeması 41

3.2 Dana etinin patojenler ile inokülasyonu ve depolanması 45

3.3 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği 47

4.1 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin görünüm özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları. 78

4.2 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin renk özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları. 78

4.3 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin doku özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları 79

4.4 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin lezzet özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları. 79

4.5 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin genel beğeni özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları. 80

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Sayfa

2.1 Et ve et ürünlerinde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar 6

2.2 Et ve et ürünlerinde gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan mikroorganizmalar ve hastalık belirtileri.....8

2 3 Gıdalarda kullanılan bazı doğal antimikrobiyal maddeler 14

2.4 Bazı meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler 15

3.1 Koruk suyu ile hazırlanan marinasyon sıvılarının formülasyonları.....42

3.2 Çalışmada kullanılan patojenler ve izolasyon kaynakları 43

4.1 Probiyotik canlılığını belirlemek üzere hazırlanan marinasyon sıvılarına ait formülasyonlar.....52

4.2 Probiyotik kültürlerin marinasyon sıvılarında canlı kalma durumları 54

4.3 *S.* Typhimurium inaktivasyonunda kullanılmak üzere hazırlanan marinasyon sıvılarına ait formülasyonlar (mL) 54

4.4 Farklı formülasyona sahip marinasyon sıvılarına inoküle edilen *S.* Typhimurium'un sayıları (log kob/mL) 55

4.5 Marinasyon sıvılarının 48 saatlik bekletme sürecinde pH değerleri.....57

4.6 Marinasyon sıvılarının 48 saatlik bekletme sürecinde toplam asitlik değerleri (g/100 mL).....59

4.7 Marinasyon sıvılarının 48 saat'lik bekletme sürecinde toplam fenolik madde içerikleri (mg GAE/L).....60

4.8 Marinasyon sıvılarının 48 saat'lik bekletme sürecinde antioksidan aktivite değerleri (%).....61

4.9 Marinasyon sıvılarının antimikrobiyal aktivite sonuçları (mm) 65

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge Sayfa

4.10 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *E. coli* O157:H7 sayıları 67

4.11 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *L. monocytogenes* sayıları..... 68

4.12 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *S.* Typhimurium sayıları 69

4.13 Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve pişme sonrası pH değerleri.. 73

4.14 Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve pişme sonrası toplam asitlik değerleri 74

4.15 Marine edilmiş et örneklerinde pişme kaybı değerleri..... 75

4.16 Marine edilen et örneklerinin *L** değerleri..... 76

4.17 Marine edilen et örneklerinin *a** değerleri 76

4.18 Marine edilen et örneklerinin *b** değerleri 77

1. GİRİŞ

Taze et insanların varoluşundan bu yana tükettiği, besin değeri bakımından oldukça zengin ve yapısı gereği mikroorganizmaların gelişimi açısından oldukça elverişli bir gıdadır. Özellikle et ve et ürünlerine bulaşan *Escherichia coli* O157:H7*, Listeria monocytogenes, Salmonella* spp.*, Campylobacter jejuni* gibi patojen mikroorganizmalar, bu ürünlerin tüketimi sonucu birçok gıda kaynaklı hastalığın meydana gelmesine neden olmaktadır (Mor-Mur and Yuste, 2010; Fegan and Jenson, 2018; Yang et al., 2018). Bununla birlikte, etin yapısında meydana gelen bozulmalar, etin duyusal özelliklerini olumsuz yönde etkileyerek tüketimini engelleyebilmektedir (Gram et al., 2002). Et ve et ürünlerinin güvenilirliğini sağlamak ve kalitesini korumak amacıyla et endüstrisinde çeşitli antimikrobiyal ve/veya antioksidan özelliğe sahip katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte tüketicilerin doğal kaynakları içeren ürünleri tüketmeye yönelik artan talepleri sonucunda, et ve et ürünlerinde kullanılan ticari koruyuculara alternatif olarak bitkisel kaynakların kullanımı gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu nedenle son yıllarda biyoaktif bileşenlerce zengin bitkisel kaynakların gıda güvenliği ve kalitesini arttırmak amacıyla et ve et ürünlerinde kullanımı konusunda yapılan çalışmalar da artış göstermiştir.

Ülkemizde önemli miktarda yetişen üzüm meyvesinin (*Vitis vinifera* L.) olgunlaşmamış haline ‘’koruk’’ adı verilmektedir. Koruk, genellikle geleneksel yöntemlerle koruk şerbeti, koruk ekşisi ve koruk suyu gibi ürünlere işlendikten sonra tüketilmektedir. Son yıllarda koruk suyunun, içerdiği organik asitler ve fenolik bileşenler nedeniyle önemli seviyede antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu nedenle et ve et ürünlerinin kalitesi ve güvenilirliğini arttırmak amacıyla kullanılabilecek önemli bir ürün olduğu belirlenmiştir (Ozturk and Sengun, 2019)

Probiyotikler yeterli miktarda tüketildiğinde insan sağlığına olumlu etkiler gösteren mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Bu mikroorganizmalar ürettikleri organik asitler, bakteriyosinler, hidrojen peroksit,

reuterin, etanol ve kısa zincirli yağ asitleri gibi metabolitler sayesinde birçok mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etki göstermekte, başta gastrointestinal sistem ve bağışıklık sistemi olmak üzere sağlık üzerine önemli faydalar sağlamaktadırlar (De Vuyst et al., 2004; Gueimonde and Salminen, 2006; Messaoudi et al., 2013). Probiyotiklerin canlılığını sürdürmelerine destek olan soğan, kuşkonmaz, pırasa, sarımsak gibi bitkisel kaynaklar, önemli prebiyotik kaynaklar olarak değerlendirilmektedir (Moongngarm et al., 2011). Önemli bir prebiyotik kaynağı olan soğan, flavanoid, antosiyanin ve fenolik bileşiklerce zengin bir sebze olup özellikle et endüstrisinde ürünün aroma, tat ve yapısını geliştirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Jiménez-Colmenero et al., 2006; Singh et al., 2009; Espinosa-Martos et al., 2015).

Marinasyon, çeşitli gıda maddeleri kullanılarak etin lezzet, gevreklik ve sululuğunu arttırmak, sert kasları yumuşatıp raf ömrünü uzatmak amacıyla uygulanan işlemlerden biridir. Yapılan çalışmalarda marinasyon işlemi ile etin duyusal özelliklerinin geliştiği, bunun yanı sıra marinasyon formülasyonuna bağlı olarak etin mikrobiyolojik açıdan daha güvenilir hale geldiği bildirilmektedir (Kargiotou et al., 2011; Cho et al., 2016; Moon et al., 2017; Ozturk and Sengun, 2019; Sengun et al., 2019). Literatürde et marinasyonu amacıyla kullanılan ürünler arasında zeytinyağı, kırmızı şarap, nar suyu, limon suyu, soya sosu, kekik yağı ve elma sirkesi bulunmaktadır. Bununla birlikte soğan suyu, koruk suyu ve probiyotiğin etlerde marinasyon sıvısı olarak kullanıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu tez çalışmasında, antimikrobiyal etkisi kanıtlanan koruk suyunun, prebiyotik etkisi bilinen soğan suyu ve probiyotik ilavesi ile mevcut özelliklerinin geliştirilmesi ve et marinasyonunda kullanımı amaçlanmıştır. Böylelikle koruk suyunun mevcut antimikrobiyal etkisine ek olarak probiyotikler tarafından üretilecek antimikrobiyal etkili farklı metabolitler sayesinde gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunun arttırılması ve daha güvenilir gıda eldesi, aynı zamanda fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ürün elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu tez çalışmasında, koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik ilavesi ile hazırlanan marinasyon sıvılarının, taze etlere sıklıkla bulaşan ve gıda kaynaklı hastalıklara

neden olan *S.* Typhimurium, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'e karşı inhibe edici etkileri incelenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen verilerin, etlere sıklıkla bulaşarak insan sağlığını tehdit eden patojenlerin inaktivasyonunun daha etkin şekilde sağlanabilmesi ve et kaynaklı hastalıkların oluşumunun belli ölçüde engellenebilmesi açısından literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Et

Et, içerdiği protein, yağ, mineraller, vitaminler ve kısa zincirli yağ asitleri gibi makro ve mikro besin elementleri sayesinde insan beslenmesinde önemli yere sahip bir gıdadır (Pereira and Vicente, 2013; Mcneil, 2014). 2018 yılı verilerine göre, Türkiye'de kişi başı tüketilen toplam et miktarının 32.1 kg/yıl, inek ve sığır eti tüketiminin ise 8.5 kg/yıl olduğu bildirilmiştir. Bu veriler doğrultusunda Türkiye'de kişi başı tüketilen yıllık et miktarı dünya ortalamasının (34.7 kg/yıl) altında kalmıştır (OECD, 2019).

Kesilen hayvanın türü, beslenme şekli, ırkı ve kas tipine bağlı olarak etin besinsel bileşimi değişmektedir. Sığır etinin ortalama olarak %23.2'si protein, %2.8'i yağ, %73.1'i su, geri kalan kısmı ise vitamin ve minerallerden oluşmaktadır (Williams, 2007). Et, yapısında B2, B3, B6 ve B12 vitaminlerini bulundurmasının yanı sıra sodyum, demir, çinko, potasyum, kalsiyum, fosfor ve magnezyum gibi mineralleri de barındırmaktadır (Williams, 2007). Et ve et ürünlerinin bileşimindeki proteinlerin lisin, lösin, izolösin ve valin gibi elzem aminoasitlerden oluşması ayrıca sindirilebilirliğinin yüksek olması ürünü yüksek kalitede protein içerikli bir gıda yapmaktadır (Wu, 2009; Manuela et al., 2013).

Etin kalitesi, hayvanın genetiği, kesim öncesi maruz kaldığı stres veya kesim tekniği gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Keyvan, 2010). Hayvan kesildikten sonra oluşan fiziksel ve kimyasal değişimler sonucunda etin su tutma kapasitesi, pH değeri ve rengi değişmektedir (Pösö and Puolanne, 2005). Oluşan bu değişikliklere "Ölüm Sonrası" (post mortem) değişiklikler adı verilmektedir. Kesilen hayvanın ölümü sonrası kan dolaşımının durması nedeniyle trikarboksilik asit döngüsü meydana gelememekte ve enerji üretimi anaerobik glikolizis yolu ile gerçekleşmektedir (Keyvan, 2010). Kaslardaki glikojen depolarına bağlı olarak gerçekleşen anaerobik glikolizis döngüsü sonucu oluşan pirüvik asit, laktik aside dönüşerek kaslarda laktik asidin birikmesine, buna bağlı olarak asitliğin yükselmesine sebep olmaktadır. Etin pH değeri başlangıçta ortalama 7.3 iken kesim

sonrası 5.4'e kadar düşmektedir (Keyvan, 2010). Et kesiminden sonra 6. ve 12. saatler arasında kaslarda bulunan enerji tükenmekte ve kasın ete dönüşmesi gerçekleşmektedir (Huff-lonergam and Lonergam, 2005). Sert olan kasların yumuşaması kaslarda bulunan protein yapıdaki miyofibrillerde gerçekleşen değişikliklere bağlıdır (Ouali et al., 2003). Bu değişikliğe sebep olan proteolitik enzimler, kesim öncesi inaktif durumdayken kesim sonrası pH değerinin düşmesiyle aktif hale gelmekte ve miyofibrillerde değişikliğe sebebiyet vermektedir. Böylece kesilen et olgunluk kazanmaktadır (Koohmeraie, 1994; Kurt et al., 2005).

2.1.1 Etin mikrobiyolojisi

Sağlıklı bir hayvanda bulunan kas dokusu sterildir. Ancak kesim sırası ve sonrasında et, uygulanan işlemler sonucu birçok farklı mikroorganizma ile kontamine olmaktadır (Aiyegoro, 2014). Etin mikrobiyal kontaminasyonu et kesimi sırasında başlamakta, uygun hijyen şartlarının sağlanmaması sonucu kesim, parçalama ve yüzme işlemleri sırasında birçok mikroorganizma ete bulaşabilmekte, kesim ve taşıma sırasında kullanılan alet ve ekipmanlar, personel, kesim yapılan ortamın havası gibi birçok kaynaktan kontamine olabilmektedir (Yılmaz and Gümüş, 2008). Genel olarak bir karkasın mikrobiyal yükünün yaklaşık 10^1-10^3 hücre/cm^2 arasında olduğu bildirilmektedir (Ray and Bhunia, 2016).

Kesimin ardından zengin besinsel içeriğinin yanı sıra yüksek su aktivitesi ve 5.4-5.8 pH aralığına sahip olan et, mikroorganizmaların gelişimine elverişli bir ortam sağlamaktadır. Et ve et ürünlerinde mikroorganizmaların gelişmesi önemli derecede ekonomik kayıplara, böyle bir etin tüketimi sonunda ise çeşitli hastalıklara sebebiyet verebilmektedir (Aymerich et al., 2008). Çizelge 2.1'de bozulmaya sebep olabilecek mikroorganizmalara yer verilmektedir.

Çizelge 2.1 Et ve et ürünlerinde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar

<table>
<tr><th colspan="2">Küfler</th><th>Kaynak</th></tr>
<tr><td colspan="2">Cladosporium
Sporotrichum
Geotrichum
Penicillium
Mucor</td><td>(Garcia-Lopez et al., 1998; Dave and Ghaly, 2011; Aiyegoro, 2014)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Mayalar</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">Kazachstania psychrophila
Candida
Cryptococcus
Rhodotorula</td><td>(Dave and Ghaly, 2011; Kabisch et al., 2016; Hernández et al., 2018)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Bakteriler</td><td rowspan="2">(Aiyegoro, 2014)</td></tr>
<tr><td>G(+)
Corynebacterium
Laktik asit bakterileri
Bacillus
Brochothrix thermosphacta</td><td>G(-)
Acinetobacter
Aeromonas
Alcaligenes
Flavobacterium
Pseudomonas
Moraxella
Enterobacteriaceae</td></tr>
</table>

Et zengin besin değeri sayesinde mikroorganizmaların gelişmesi için elverişli bir ortam sunmaktadır (Dave and Ghaly, 2011). Kesimde kullanılan materyallerin hijyen durumu, işleme ve depolama koşulları, taşıma ve ambalajlama gibi etkenler taze etin mikrobiyal yükünü etkilemektedir (Aiyegoro, 2014). Et ve et ürünlerine çeşitli kaynaklardan bulaşan *Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Moraxella, Enterobacteriaceae, Flavobacterium, Pseudomonas, Corynebacterium, Bacillus, Brochothrix* cinsi bakteriler ile laktik asit bakterileri, bazı maya ve küf türleri (Çizelge 2.2) kötü koku ve aroma oluşumuna neden olurken, *Bacillus cereus, Clostridium botulinum, C. perfringens, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* gibi mikroorganizmalar ile kontamine olmuş et ve et ürünlerinin tüketimi sonucu gıda kaynaklı hastalıklar meydana gelebilmektedir (Garcia-Lopez et al., 1998; Dave and Ghaly, 2011; Aiyegoro, 2014; Kabisch et al., 2016; Hernández et al., 2018). Türk Gıda Kodeksi mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre çiğ kırmızı etin 25 gramında *Escherichia coli* ve *Salmonella* bulunmamalıdır (Türk Gıda Kodeksi, 2011).

Et ve et ürünlerinde farklı faktörlere bağlı olarak çeşitli mikroorganizmaların gelişimi, kötü koku ve kötü tat oluşumu, yağ ve protein yapılarının bozulması, gaz üretimi, biyojen amin oluşumu ve pH değerinde değişikliğe sebep olmaktadır (Edwards et al., 1985; Gram et al., 2002; Guerrero-Legarreta, 2014; Aiyegoro, 2014).

2.1.2 Et kaynaklı hastalıklar

Günümüzde güvenli gıda eldesi, mikrobiyal ve kimyasal bulaşlardan dolayı giderek zorlaşmaktadır. Dünya Sağlık Örgütünün verilerine göre yılda 600 milyon insanın gıda kaynaklı hastalığa yakalandığı, buna bağlı olarak 125 bini 5 yaş altı çocuk olmak üzere toplam 420 bin kişinin hayatını kaybettiği bildirilmektedir (WHO, 2019). Yapılan çalışmalar ile insan sağlığını önemli ölçüde tehdit eden ve hatta ölüme sebep olan gıda kaynaklı hastalıkların önüne geçilmeye çalışılmaktadır.

Et ve et ürünleri, gıda kaynaklı hastalıklar açısından riskli gıda grupları arasında yer almaktadır. Bu ürün grubuna bulaşan *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Campylobacter jejuni* gibi patojenler, insan sağlığı için önemli derecede tehdit teşkil etmektedir (Çizelge 2.2) (CDC, 2013).

Çizelge 2.2 Et ve et ürünlerinde gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan mikroorganizmalar ve hastalık belirtileri (Pigott, 2008, Mor-Mur and Yuste, 2010; Sağlam and Şeker, 2016).

Mikroorganizma	Bulaşma Kaynağı	İnkübasyon süresi	Semptomlar
C. perfringens	Kırmızı et, Kanatlı eti	8-16 sa.	Mide bulantısı, Diyare, Karın ağrısı
C. jejuni	Çiğ veya pişme aşamasındaki kanatlı eti	2-5 gün	Diyare, Kusma, Ateş, Kramp
E. coli O157:H7	Az pişmiş sığır eti	1-8 gün	Diyare, Karın ağrısı, Kusma, Ateş
Salmonella spp.	Kanatlı eti, Salam, Jambon, Biftek	1-3 gün	Diyare, Karın ağrısı, Kusma, Ateş
L. monocytogenes	Çiğ et, Fermente et ürünleri, Domuz ürünleri, Az pişmiş tavuk eti, Sakatat	11-70 gün	Menenjit, Septisemi, Konjoktivit, Düşük yapma,

L. monocytogenes, Salmonella spp. ve *E. coli* O157:H7 gibi mikroorganizmalar ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle önemli sağlık sorunları oluştuğu bildirilmektedir (CDC, 2015; 2016a; 2016b). Gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıkların yanı sıra enzimatik ve oksidasyona bağlı bozulmaları engellemek, buna bağlı olarak ekonomik kayıpların önüne geçmek amacıyla tüketimden önce ete çeşitli koruyucu yöntemler uygulanmaktadır.

2.1.3 Et ve et ürünlerine uygulanan muhafaza yöntemleri

Taze et, yüksek besin değeri ve kaliteli protein içeriği nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bununla birlikte hijyenik koşullarda işlenmemesi durumunda et ve et ürünlerinin önemli bölümü mikrobiyolojik olarak bozulabilmektedir (Heinz and Hautzinger, 2007). Ayrıca bu bozulmalar oksidatif

ve enzimatik reaksiyonlar sonucu da oluşabilmektedir (Dave and Ghaly, 2011). Et ve et ürünlerini muhafaza etmede kullanılan birçok geleneksel ve yeni muhafaza teknikleri bulunmaktadır. Bu teknikler arasında tütsüleme, fermentasyon, yüksek hidrostatik basınç, dondurma, paketleme, elektrik darbeli alan, ultrasonikasyon, mikro-filtrasyon, ultrason, kimyasal ve doğal koruyucu ekleme ve salamura yer almaktadır (Zhou et al., 2010; Alarcon-rojo et al., 2019). Günümüzde et ürünlerinin muhafazası genellikle su aktivitesi ve sıcaklık kontrolü veya koruyucu maddeler ilavesiyle gerçekleşmektedir (Zhou et al., 2010).

2.1.3.1 Su aktivitesinin kontrolü

Su aktivitesi, bir gıdanın buhar basıncının aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı olarak tanımlanmaktadır (Ghaly et al., 2010). Gıdaların su aktivitesi değeri, ortamdaki mikroorganizmaların gelişimini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle su aktivitesi mikrobiyal kaynaklı bozulmaları etkileyen faktörler arasında önemli bir yere sahiptir (Dave and Ghaly, 2011). Taze et sahip olduğu 0.99 su aktivitesi değeri ile mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça elverişli bir ortamdır (Smith and Stratton, 2007). Gıdanın su aktivitesi değeri dondurma, kurutma ve kimyasal maddelerin (tuz, şeker, nitrit, sülfür, organik asit) eklenmesiyle düşürülebilmektedir.

2.1.3.2 Düşük sıcaklıklarda muhafaza

Muhafaza sıcaklığını düşürmenin amacı kimyasal reaksiyonları ve mikrobiyal gelişmeyi yavaşlatarak veya durdurarak ürünün kalitesini korumaktır. Et ve et ürünlerinde düşük sıcaklıklarda muhafaza soğutma ve dondurma olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır (Dave and Ghaly, 2011).

Soğutma

Soğutarak muhafaza, etin yapı, tad ve besin öğelerini korumak amacıyla kesimden hemen sonra taşıma veya depolama sırasında uygulanmaktadır. Kesimin ardından ilk dört sa. içinde etin sıcaklığının 4°C'ye düşürülmesi etin raf ömrü ve

güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır (USDC, 1995; Rouaud and Pham, 2002). Soğukta muhafaza yönteminin kullanımı ile etin protein yapısı korunmakta ve bozunmuş proteinlere daha duyarlı olan mikroorganizmaların gelişimi yavaşlamaktadır (Ockerman and Basu, 2004).

Dondurma

Dondurarak muhafaza, -1°C veya daha düşük sıcaklıklarda uygulanan, etin içinde bulunan suyun belli seviyede buza dönüşmesiyle gerçekleşen, mikroorganizmaların gelişiminin tamamen durdurulmasının yanı sıra kimyasal veya kimyasal olmayan reaksiyonların da minimuma indirgendiği bir yöntemdir (Heinz and Hautzinger, 2007; Ghaly et al., 2010; Dave and Ghaly, 2011). Donma işleminin hızlı veya yavaş olması etin protein yapısını doğrudan etkilemektedir. Yavaş uygulanan donma işleminde oluşan buz kristalleri protein yapının denatürasyonuna neden olmakta ve etin kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Rahelic et al., 1985; Rahman, 1999). Etin kalitesini olumsuz yönde etkileyen mikrobiyal gelişme -12°C'de, hücre içi faaliyetler ise -18°C'de tamamen durmaktadır (Perez-Chabela and Mateo-Oyague, 2004).

2.1.3.3 Kimyasal maddeler ile muhafaza

Gıdaya tuz ve şekerin eklenmesiyle ortamdaki serbest su bağlanmakta böylece su aktivitesi düşürülerek mikrobiyal gelişme önlenmektedir (Ray, 2005). Uygun miktarda tuz ilavesiyle düşen su aktivitesi sayesinde *Pseudomonas*, *Campylobacter* gibi düşük su aktivitesine duyarlı mikroorganizmaların gelişimi önlenebilirken, *S. aureus, L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 gibi mikroorganizmalar daha düşük su aktivitesinde gelişimini sürdürebilmektedir (Borch et al., 1996). Bununla birlikte, tuz, prooksidant aktivitesi nedeniyle yağ oksidasyonunu hızlandırmakta, böylece yağ içeren gıdalarda kullanımı bu anlamda dezavantaj yaratmaktadır (Dave and Ghaly, 2011). Şeker ise su aktivitesini düşürmesinin yanı sıra kokuyu geliştirip sertliği azaltma yönünde etki göstermektedir (USDA, 2005).

Nitrit, antimikrobiyal ve antioksidan etkisinin yanı sıra ete karakteristik rengini vermek amacıyla kullanılmaktadır (Sindelar and Milkowski, 2011; Alahakoon et al., 2015). Etin mikroflorasında bulunan ve nitrat redüktaz enzimine sahip olan mikroorganizmalar nitratı nitrite indirgemektedir (Sebranek and Bacus, 2007). Nitrit, mikroorganizmaların gelişmesi ve metabolik faaliyetleri için gerekli olan demir kullanımını azaltma, oksijen alımını sınırlandırma ve hücre membranının geçirgenliğini bozarak hücreler arası taşınımı zorlaştırma yönünde etki göstermektedir (Tompkin, 2005; Dave and Ghaly, 2011).

Sülfit, et ürünlerinde sodyum sülfit veya sülfürik asit formunda kullanılarak Gram (-) bakteri, maya ve küflere karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (Dave and Ghaly., 2011). Su ile reaksiyon sonucu sülfürik asit (H_2SO_3), bisülfit iyonu (HSO_3) ve sülfit iyonu (SO_3) formuna dönüşmektedir (Güneş, 2014). Küflerin hücre içinde ürettiği adenin trifosfat (ATP) ile sülfitin reaksiyonu gerçekleşmekte ve sistin disülfit bağlantıları engellenmektedir. Sülfitin suda reaksiyona girmesiyle oluşan sülfürik asit hücre içine girerek enzim, kofaktor ve proteinlerin tiol gruplarıyla reaksiyona girmekte ve mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki sağlamaktadır (Dave and Ghaly, 2011; Güneş, 2014). Sülfirik asitin antimikrobiyal etki gösterdiği konsantrasyonlar *Saccharomyces, Hansenula, Candida, Torulopsis, Zygosaccharomyces* ve *Pichia* için sırasıyla 0.10-20.20 mg/L, 0.60 mg/L, 0.40-0.6 mg/L, 0.20 mg/L, 7.2-8.7 mg/L ve 0.20 mg/L olarak belirlenmiştir (Davidson et al., 2005).

2.1.3.4 Diğer muhafaza yöntemleri

Yüksek hidrostatik basınç

Yüksek hidrostatik basınç düşük sıcaklıklarda patojen veya bozulma yapan mikroorganizmaları etkisiz hale getirerek gıdanın raf ömrünü uzatmakta, daha güvenli gıda eldesi sağlamakta ve gıdanın besin değerlerinde ciddi bir kayba neden olmamaktadır (Syed et al., 2016). Bu teknikte kullanılan sıvı (genellikle su) hava basınçlı pompalar yardımıyla gıdaya hızlı ve düzenli bir şekilde uygulanmaktadır (Hugas et al., 2002). Uygulanan basıncın seviyesi gıdanın basınç altında kalma

süresi, gıdanın yapısı ve mikroorganizmanın türü gibi faktörler mikroorganizmanın inaktivasyonunu etkilemektedir (Syed et al., 2016).

İyonize radyasyon

İyonize radyasyon, hücre DNA'larına onarılamayacak derecede zarar vermesinin yanı sıra hücrenin yapısında bulunan yağ ve proteinlerin yapısını bozmaktadır (Lado and Yousef, 2002). Et ve et ürünlerinde patojen mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla yaygın olarak 1-10 kGy dozu kullanılmaktadır. Düşük sıcaklıkta uygulanan bu işlemin gıdanın besin bileşenlerine zarar vermemesi ve kimyasal kalıntı bırakmaması, yöntemin önemli avantajları arasındadır (Nawar, 1995). İyonize radyasyon yönteminin, doğal veya kimyasal koruyucular ile kombine edilmesi ile inaktivasyon için gerekli olan radyasyon dozu düşürülebilmektedir (Ouattara et al., 2002; Satin, 2002; Mor-Mur and Yuste, 2010).

Paketleme

Paketleme, gıdayı dış etmenlerden gelebilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelere karşı koruyarak oluşabilecek kalite kayıplarını önlemektedir (Scandamis and Nychas, 2002). Paketlenmiş taze etin raf ömrü paket içerisindeki gaz karışımına, depolama sıcaklığına, kullanılan katkı maddelerine ve paketleme ekipmanına bağlı olarak değişmektedir (Zhou et al., 2010). Taze etlerde kullanılan paketleme materyalleri et yüzeyinin kurumaması amacıyla asgari düzeyde nem geçirmekte, gaz geçirgenliği ise değişim göstermektedir (Mcmillin et al., 1999). Vakum paketleme yönteminde, mikroorganizmaların gelişimini ve oksidatif reaksiyonları minimuma indirmek amacıyla ortamdan hava tamamen uzaklaştırılmaktadır. Ancak, etlerde bulunan oksimiyoglobin paket içindeki oksijen eksikliğinden kaynaklı deoksimiyoglobine dönüşmekte ve bu durum etin kırmızımsı renginin mora dönüşmesine neden olarak etin kalitesini olumsuz etkilemektedir (Kamenik et al., 2014). Hava geçirgenli paketleme yönteminde ise et yüzeyi hava geçiren gözenekli veya delikli bir film (polivinil klorür veya poliviniliden klorür) ile kaplanarak paketlenmektedir. Bu yöntemde miyoglobin ile

oksijenin reaksiyonu sonucu ete kırmızı rengini veren oksimiyoglobin oluşumu amaçlanmakta, ancak ortamdaki oksimiyoglobin bir süre sonra kahverengi renk pigmenti olan metmiyoglobine dönüşmekte ve bu da kalitenin düşmesine sebep olmaktadır (McMillin, 2017). Bir diğer yöntem olan modifiye atmosfer paketlemede, paket içindeki tüm havanın çıkarılarak yerine uygun oranlarda gaz kompozisyonunun eklenmesi ile uygulanmaktadır. Modifiye atmosferde paketlemede etin kalitesini korumak veya geliştirmek amacıyla farklı gazlardan yararlanılmaktadır. Modifiye atmosferde paketlemede karbondioksit mikrobiyal gelişmeyi önlemek, nitrojen ise dolgu gazı olarak veya modifiye atmosfer ile doldurulmuş paketin yapısını korumak amacıyla kullanılmaktadır. Bu paketlemede kullanılan karbonmonoksit ete kırmızımsı renk veren bir pigment olan karboksimiyoglobin, oksijen ise miyoglobin ile reaksiyona girerek kırmızı renk pigmenti olan oksimiyoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (McMillin, 2008).

2.2 Gıdalarda Kullanılan Doğal Koruyucular

Mikroorganizmaların sebep olduğu gıda kaynaklı hastalıklar insan sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. Bununla birlikte kimyasal reaksiyonlar sonucu gıdanın kalitesi önemli ölçüde olumsuz yönde etkilenmektedir. Gıdaların güvenilirliği ve raf ömrünü arttırmak amacıyla çeşitli sentetik ve/veya doğal koruyucu maddeler kullanılmaktadır. Son yıllarda tüketicilerin, sentetik koruyucuların tüketimine bağlı olarak oluşan sağlık sorunları nedeniyle doğal koruyucu içeren ürünlere yönelimi artmıştır (Dorman and Deans, 2000; Dastmalchi et al., 2016). Uygun dozda kullanılmayan sentetik antioksidan maddelerin DNA'da mutasyon ve hasara neden olduğu bildirilmiştir (Aun et al., 2011). Doğal koruyucular gıdalara doğrudan eklenebildiği gibi paketleme ambalajlarının içeriğine de eklenebilmektedir (Irkin and Esmer, 2015). Gıdalarda karvakrol, malik asit, pepdit, polisakkarit, timol ve süksinik asit gibi bazı doğal antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 Gıdalarda kullanılan bazı doğal antimikrobiyal maddeler (Rahman, 2007; Cvetanović et al., 2017; Aziz and Karboune, 2018).

Antimikrobiyal madde	**Bileşik türü**
Polisakkarit	Kitozan
Peptit	Laktoferrin
Alil izotiyosiyanat, sinamaldehit, öjenol, timol, karvakrol, sitral	Saf biyoaktif bileşikler
Sitron,	Uçucu yağlar
Sitrik asit, malik asit, süksinik asit, tartarik asit	Organik asitler
Bakteriyosin	Nisin, pediosin, subtilin, laktikin
Enzim	Lizozim, glukoz oksidaz, laktoperoksidaz sistemi
Bakteriyofaj	LtexTMP100, EcoshieldTM, SalmofreshTM
Kumarin, kersetin, naringenin	Fenolik bileşikler

2.2.1 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyal maddeler

Bitkilerin gövdesi, yaprağı, tomurcuğu veya özleri gıdalara hoş koku vermek ve koruyucu amaçlı olarak eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Bununla birlikte bitkiler, insan sağlığına sağladığı yararlı etkilerinden dolayı antimikrobiyal ajan olarak ve geleneksel tıp alanında da kullanılmaktadır. Çeşitli kimyasal kompozisyona sahip bitkilerin antimikrobiyal etkisi, içerdiği esansiyel yağlar, saponinler, karotenoidler, fenolikler, kinonlar, taninler ve alkaloitler gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Lai and Roy, 2004).

Bitkilerin mikrobiyal ve fiziksel tehditlere karşı kendini korumak amacıyla ürettiği ikincil metabolit yapılar, birçok patojene karşı geniş çaplı inhibitif etki göstermektedir (Maddox and Laur, 2010). Fenolik bileşikler bitkinin yaprak, dal, gövde, meyve, sebze, çiçek, tohum gibi çeşitli yerlerinde bulunan ve bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik yapıya sahip ikincil metabolit ürünlerdir (Cemeroğlu et al., 2004; Boudet, 2007). Bu bileşikler içerdiği karbon elementinin yapısına göre flavanoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler, kumarinler, liganlar,

kinonlar ve kurkuminoidler olarak sınıflandırılmaktadır (Mark et al., 2019). Fenolik bileşikler, hücre tahribatına neden olan serbest radikallerin temizlenmesini sağlamakta ve böylece gıdaların bozulmasını geciktirerek raf ömürlerini uzatmakta ve insan vücudunda metabolik faaliyetler sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemektedirler (Shahidi and Ambigaipalan, 2015). Çeşitli meyve ve sebzelerin yapılarında buluan fenolik bileşikler çizelge 2.4'te verilmektedir.

Çizelge 2.4 Bazı meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler

Fenolik Bileşikler	**Meyve ve sebzeler**	**Kaynak**
Ellagik asit, Gallik asit, Katekol, Kersetin, Kersetin-3-galaktozid, Klorojenik asit, Kumarik asit	Böğürtlen	Salaheen et al., 2016, Salaheen et al., 2017
Florizin, Kateşin, Klorojenik asit, p-kumaroilkinik asit, Rutin	Elma	Łata et al., 2009, Liaudanskas et al., 2015
5′-Feruoilkinik asit, 5′-Diferuoilkinik asit, 5′-Kaffeoilkinik asit, 5′-p-Kumaroilkinik asit, p-Hidroksibenzoik asit	Havuç	Babic et al., 1993, Alasalvar et al., 2002
Kersetin, Mirisetin, Sinapik asit	Java eriği	Singh et al., 2016
Ellagik asit, Epikateşin, Kersetin, Kumarik asit	Mango	Asif et al., 2016
Mirisetin, Rutin, Sinapik asit	Muz	Vu et al., 2017
Gallik asit, Kumarik asit, Kersetin, Narenferin, Rutin, Sinapik asit, Valinik asit	Portakal	Agcam et al., 2013
İzorhamnetin, Kersetin, Kemferol, Mirisetin	Soğan	Leighton et al., 1992, Tsushida et al., 1995
Gallik asit, Kersetin, Luteolin, Protokatehuik asit, Tanik asit, Valinik asit	Üzüm	Sanhueza et al., 2017
Ellagik asit, Gallik asit, Katekol, Kersetin-3-galaktozid, Klorojenik asit, Kumarik asit	Yabanmersini	Salaheen et al., 2016, Shen et al., 2014
Epikateşin, Ferulik asit, Gallik asit, Kafeik asit, Kersetin, Kateşin Klorojenik asit, Naringenin, p-Kumarik asit,	Ayaklı Şalba (*Salvia heldreichiana*)	Bardakci et al., 2019

Bitki özlerinde en yaygın bulunan yapı olan düşük ağırlıklı fenolik bileşiklerin Gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi, Gram (-) bakterilere kıyasla daha yüksektir (Gutiérrez-Larraínzar et al., 2012). Bu antimikrobiyal etki fenolik bileşiklerin hücre zarının geçirgenliğini arttırması, şelatlama yoluyla bazı

minerallerin hücre tarafından alımını önlemesi gibi mekanizmalardan kaynaklanabilmektedir (Pina-Pérez and Ferrús, 2018).

Esansiyel yağlar hafif sarı renkte veya renksiz, aromatik bir kokuya sahip, kristalleşebilen, suda çözünmeyen fakat organik çözücüler içinde çözünen, bitkilerin yaprak, meyve, tohum, kabuk, çiçek gibi farklı organlarında bulunabilen çeşitli bileşiklerin karışımından oluşan antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip yapılardır (Kılıç, 2008; Khorshidian et al., 2018). Esansiyel yağ asitlerinin %90-95'i uçucu bileşik olan seskiterpen ve monoterpen hidrokarbonlar ile alkoller, alifatik aldehitler, esterler ve oksijenli indirgenlerden oluşmaktadır. Uçucu olmayan kısım ise yağ asitleri, temel hidrokarbonlar, steroller, karotenoidler, flavanoidler gibi yapıları içermektedir (De Castro et al., 1999). Bitkilerin yapısında bulunan terpenoidler, fenilpropenler, terpenler, izotiyosiyonatlar veya alisin gibi bileşiklerin antimikrobiyal etkisi oldukça yüksektir (Hyldgaard et al., 2012). Yaklaşık 3000 farklı esansiyel yağ türünün 300 tanesi endüstride kullanılmaktadır (Burt, 2004). Bitkilerin sahip olduğu esansiyel yağların kompozisyonu bitkinin türüne, vejetatif dönemine, yetiştiği toprak türüne ve bulunduğu coğrafi bölgeye bağlı olarak farklılık göstermektedir (Khorshidian et al., 2018). Oldukça kuvvetli aromatik kokuya sahip olan esansiyel yağlar gıda endüstrisinde lezzet verici ajan olarak kullanılmasının yanı sıra antimikrobiyal etkisi sayesinde gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların gelişimini önleyerek raf ömrünü uzatmak amacıyla da kullanılmaktadır (Hyldgaard et al., 2012). Esansiyel yağların etki mekanizması tam olarak açıklanamamış olsa da farklı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahip oldukları birçok çalışmada belirlenmiştir. Bu etki, esansiyel yağların mikroorganizmaların hücre geçirgenliğini arttırıp hücre içi dengesini bozması, hücre zarının protein yapısına zarar vermesi, sitoplazmanın pıhtılaşmasını sağlaması, enerji mekanizmasına zarar vererek ATP sentezini sınırlandırması ve sitoplazmik zara hasar vererek proton itici gücü azaltmasından kaynaklanmaktadır (Nazzaro et al., 2013). Esansiyel yağların antimikrobiyal etkisi, yapısında bulunan lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin türüne ve mikroorganizmaların hücre duvarı yapısına göre değişmektedir. Gram (+) bakterilerin yapısında bulunan teikoik asit ve buna bağlı protein yapılar esansiyel yağların hidrofobik kısımlarıyla kolayca etkileşime girebilmektedir. Gram (-) bakterilerin hücre duvarı yapısı daha

kompleks olduğundan bu etkileşim Gram (+) bakterilere kıyasla daha sınırlıdır (Vaara, 1992; Nikaido, 1994; Nazzaro et al., 2013).

Antimikrobiyal peptitler bitkinin tohum, kök, çiçek ve yaprak gibi bölümlerinde bulunabilen, protein yapıdaki bileşiklerdir (Jenssen et al., 2006). Tiyoninler, siklotitler, sinakinler, defensinler, lipit transfer proteinleri ve hevein tipi proteinler antimikrobiyal etkili peptitler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu bileşikler bakteriler, virüsler, küfler, protozoalar ve parazitler gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir (De souza et al., 2014; Nawrot et al., 2014). Peptitlerin antimikrobiyal etki mekanizması hidrofobik yapılarından kaynaklanmaktadır (Hintz et al., 2015).

2.2.1.1 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyal maddelerin etkilerinin laboratuvar ortamında incelendiği çalışmalar

Doğal koruyucu maddelere olan ilginin artmasına bağlı olarak bitkilerin yapısında bulunan esansiyel yağlar, peptitler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli bileşiklerin antimikrobiyal etkisinin incelendiği çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. do Vale et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *Vitex gardneriana*'dan elde edilen uçucu yağın *S. aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada, test edilen uçucu yağın sadece *S. aureus* üzerine %0.31 (h/h) konsantrasyonunda inhibitif etki gösterdiği belirtilmiştir.

Behbahani et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada kimyondan elde edilen esansiyel yağın disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak *S. aureus, P. aeruginosa, E. coli, Listeria innocua* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan testte uçucu yağın 40 mg/mL konsantrasyonunda test edilen tüm mikroorganizmalara karşı 10.0–15.5 mm aralığında değişen seviyelerde inhibisyon zonu oluşturduğu, mikrodilüsyon yönteminde ise 4-128 mg/mL aralığında değişen

uçucu yağ konsantrasyonunun test edilen mikroorganizmalara karşı bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Xiang et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada gümüş pelin (*Artemisia argyi*) bitkisinden elde edilen esansiyel yağların *S. aureus, Bacillus subtilis, B. cereus, L. monocytogenes, E. coli, P. aeruginosa* ve *Salmonella* Typhimurium'a karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Elde edilen esansiyel yağın test edilen tüm Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı 16-64 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda bakteriyostatik, 32-128 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda ise bakteriyosidal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, eriğin (*Prunus spinosa*) hem taze hem de işlenmiş formundan elde edilen pürelerin 50 ppm nalidiksik aside direnç kazandırılmış *Salmonella*'ya karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. 25°C'de 48 sa. boyunca depolanan örneklerdeki *Salmonella* spp. sayısının işlenmiş pürede 4.33-6.55 log, taze pürede ise 4.24-6.70 log arasında azaldığı tespit edilmiştir (Gündüz, 2013).

Kang ve Song (2019) tarafından yapılan bir çalışmada noni (*Morinda citrifolia*) meyvesinden elde edilen özütün disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Diskler üzerine emdirilen 80 mg özütün *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium bakterilerine karşı sırasıyla 22.43, 9.70 ve 10.35 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

2.2.1.2 Bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyallerin et ve et ürünleri üzerine etkinliklerinin incelendiği çalışmalar

Yapılan başka bir çalışmada *Satureja horvatii* bitkisinden elde edilen uçucu yağ, domuz etinde *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon etkisini belirlenmek üzere farklı konsantrasyonlarda (0.31, 0.62, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00 mg/mL) kullanılmış ve örnekler 4℃ ve 20°C'de 72 sa. boyunca depolanmıştır. %1.25 ve üstündeki konsantrasyonların, iki depolama sıcaklığında da 24 saatin ardından, test

edilen patojen mikroorganizmaya karşı %80'in üzerinde inhibisyon etki gösterdiği belirlenmiştir (Bukvički et al., 2014).

Yapılan diğer bir çalışmada kekik esansiyel yağı (EO) (0.05 mL /100 mL), pirüvik asit (PA) ve süksinik asitin (SA) tavuk göğüs etine inoküle edilen *Salmonella* spp. üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda en yüksek inhibitif etkiye sahip kombinasyonun 3 g/100 mL SS + 0.5 mL/100 mL EO olduğu ve bu uygulamanın test patojenini 1.52 log kob/g azalttığı belirlenmiştir (Purohit and Mohan, 2019).

Yapılan başka bir çalışmada üç farklı esansiyel yağın (fesleğen, biberiye ve fesleğen+biberiye) 30 dk. UV radyasyona maruz kalmış ve steril edilmiş (121°C, 15 dk., 1.2 atm) tavuk etlerine inoküle edilen *Salmonella* Enteritidis üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bu amaçla örnekler iki farklı sıcaklıkta (4℃ ve 18℃) 0, 24, 48 ve 72 sa. boyunca depolanmıştır. Düşük sıcaklıkta ve 72 sa. depolama sonucunda biberiye, fesleğen ve biberiye+fesleğen kombinasyonları ile muamele edilen radyasyona maruz kalmış tavuk örneklerinde *S.* Enteritidis sayılarının sırasıyla 1.80, 1.82 ve 1.75 kob/g azaldığı tespit edilmiştir. Aynı derecede depolanıp sterilize edilen tavuk etlerinde 0. saatte en etkili kombinasyon biberiye+fesleğen olarak bulunurken, geriye kalan depolama periyotlarında en yüksek inhibisyon etkisini biberiye uçucu yağı göstermiştir. Çalışmada ayrıca 18℃'de depolanan tavuk örneklerinde *S.* Enteritidis sayısının arttığı ve bu artışın kontrol grubuna kıyasla daha az olduğu belirtilmiştir (Stojanović-Radić et al., 2018).

2.3 Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antimikrobiyal Maddeler

Gıdalarda bozulma yapan veya patojen mikroorganizmaların gelişimi, yararlı mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal etkili metabolitlerden olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu metabolitlere bakteriyosinler, organik asitler, hidrojen peroksit, reuterin ve diasetil gibi maddeler örnek olarak verilebilir (Daeschel, 1989). Laktik asit bakterilerinden elde edilen antimikrobiyal etkili

maddelerin, gıdaların kalite özelliklerini geliştirdiği, raf ömrünü uzattığı ve gıdanın güvenilirliğini arttırdığı bildirilmiştir (Pisoschi et al., 2018).

2.3.1 Probiyotikler

Probiyotik terimi Latince'de "pro" ve Yunanca'da "bios" kelimelerinden türetilmiş olup ilk olarak 1953 yılında Kollath tarafından kullanılmıştır (Pradhan et al., 2020). Literatürde kullanılmasına başlanıldığı günden beri birçok kez tanım değişikliği yapılan probiyotiklerin son tanımı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından "uygun miktarda alındıkları zaman konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar" olarak belirlenmiştir (FAO/WHO, 2002). Laktik asit bakterileri ve Bifidobakterler probiyotik özellik gösteren bakterilerin çoğunluğunu oluşturmaktadır. Yaygın olarak kullanılan probiyotik türler arasında *Lactobacillus acidophilus, L. bulgaricus, L. lactis, L. plantarum, L. rhamnosus, L. reuteri, L. casei, L. johnsonii, L. gasseri, L. paracasei, L. fermentum, L. helveticus, Bifidobacterium adolescentis, B. longum, B. breve, B. bifidus, B. essensis, B. lactis* ve *B. infantis* bulunmaktadır (Akman, 2009; Uymaz, 2010; Pradhan et al., 2020). Bu mikroorganizmalar bağırsak mikroflorasını değiştirerek bağışıklık sisteminin güçlenmesine katkı sağlamakta, bakteriyosin, organik asit, hidrojen peroksit, kısa zincirli yağ asitleri gibi farklı birçok metaboliti üreterek sağlık üzerine önemli faydalar sağlamaktadırlar. Yapılan araştırmalarda, probiyotiklerin ürünün besleyici özelliğini arttırdığı, sindirim bozukluklarını giderdiği, kolesterolü düşürüp kalp ve damar hastalıkları oluşumunu önlediği, kanser oluşumunu engellediği, sindirim sistemi, pankreatik enfeksiyonları ve böbrek taşı oluşumunu önlediği, antibiyotiğin normal flora üzerine etkisini minimize ettiği saptanmıştır (Salminen et al., 1998; Fooks et al., 1999; Saarela et al., 2000; Rastall et al., 2005; Gueimonde and Salminen, 2006; Akman, 2009).

Mikroorganizmaların probiyotik olarak adlandırılabilmesi için sahip olması gereken birtakım özellikler bulunmaktadır. Probiyotik mikroorganizma bağırsaklara ulaşmadan önce, vücutta sindirimi kolaylaştıran ve savunma mekanizması olarak rol alan mide asitinde (pH 1.5-2.5) canlılığını koruyarak instestinal sisteme vejetatif formda ulaşabilmeli ve epitel yüzeylere tutunarak

çoğalabilmeli, ürettiği metabolitler ile patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterebilmeli, fenol varlığında gelişebilmeli, vücuda patojenik ve toksijenik etki yaratmamalıdır (Akman, 2009; Uymaz, 2010; Zoral, 2013 Doğan and Ozpınar, 2017).

2.3.1.1 Probiyotikler tarafından üretilen metabolitler ve patojenler üzerine etkileri

Probiyotikler, klasik antibiyotiklerden farklı olarak, bağırsak mikrobiyotasının dengesini bozmadan antipatojenik etki gösterebilmektedir (George et al., 2018). Probiyotikler vücudun savunma mekanizmalarına karşı canlı kalarak bağırsağa ulaşmakta ve bağırsak mukozasına bağlanarak patojenlerin epitel yüzeye yapışmasını engellemektedir. Ayrıca probiyotikler metabolik faaliyetler sonucu etanol, organik asitler, diasetil, asetaldehitler, hidrojen peroksit, peptitler, reuterin ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal etkili metabolitler üretmektedir (Senok., 2005; Islam, 2016; George et al., 2018).

Organik asitler

Probiyotik mikroorganizmalar tarafından üretilen organik asitler arasında bütirik, laktik, asetik, formik, süksinik, sitrik ve glutamik asit yer almaktadır. Bu organik asitler gıdaların hidrojen iyon konsantrasyonunu değiştirerek ortamın pH değerini düşürmekte ve böylece aside dayanıklı olmayan mikroorganizmalar üzerine bakteriyostatik ve bakterisidal etki göstermektedirler (Agrawal R. 2005; Figueroa-González et al., 2014; Şengün and Öztürk, 2018). Yüksek konsantrasyonlarda organik asit üretimi, gıdalarda bulunabilecek patojenlerin ve bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca yüksek asitlik değerleri bakterilerin enzim sistemlerine zarar vermekte ve hücrenin kalan enerjisini ortamdaki fazla protonu (H+) atmaya zorlayarak hücre ölümüne yol açmaktadır (Cintas et al., 2001; Kareem et al., 2014).

Defoirdt et al. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, bütirik, asetik, propiyonik ve valerik asidin *Vibrio campbellii* üzerine inhibisyon etkisi

incelenmiştir. Çalışmada, besiyeri ortamına (pH 6) 100 mM olarak eklenen tüm yağ asitlerinin hedef patojeni tamamen inhibe ettiği belirlenmiştir.

Hidrojen peroksit

Probiyotikler tarafından üretilen hidrojen peroksit, sülfidril gruplarının oksidasyonuna neden olmakta, bu da çeşitli enzimlerin denatürasyonu, membran lipitlerinin peroksidasyonu ile sonuçlanmakta, böylece patojen mikroorganizmaların zar geçirgenliği bozulmakta ve bu durum hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (Ammor S. et al., 2006; Figueroa-González et al., 2014; George et al., 2018). Guan et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, mantarlara inoküle edilen *E. coli* O157:H7 üzerine hidrojen peroksit ve ultraviole ışığın inhibisyon etkileri incelenmiştir. Bu amaçla mantarlar %3 (w/v) oranında hidrojen peroksit içeren solüsyonlara batırılıp 15 saniye 0.45 kJ m^{-2} (UV-C) ultraviole ışığa maruz bırakılmıştır. 4^{o}C'de 14 gün depolanan mantarlarda hidrojen peroksit ve ultraviole ışığın birlikte kullanımının *E. coli* O157:H7 sayısında 0.87 log, sadece hidrojen peroksit kullanımının 0.77 log ve sadece ultraviole ışığın kullanımının ise 0.85 log azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir.

Bakteriyosinler

Bakteriyosinler genellikle 30-60 aminoasit içeren biyoaktif peptitler veya peptit bileşikleridir ve ribozomal olarak sentezlenip hücre dışına salınırlar. Çoğu bakteriyosinin biyosentezi, eksponansiyel büyüme sırasında veya sonunda gerçekleşmektedir (Tagg et al., 1976; Garneau et al., 2002). Bakteriyosinler hücrenin dışında bulunan fosfolipit yapıya gözenekler açarak sitoplazmik zara etki etmektedir. Böylece sitoplazmik zarın geçirgenliği artmakta, hücre içi iyon dengesi değişerek metabolik faaliyetler bozulmakta ve hücrenin ölümü gerçekleşmektedir (Simova et al., 2009; Yang et al., 2014).

İlk keşfedilen bakteriyosin olan nisin, bakteriler üzerine gösterdiği inhibitif etkilerden dolayı birçok çalışmada araştırma konusu olmuştur (Naghmouchi et al., 2013; Shin et al., 2016; Chikindas et al., 2018). pH ve çözünme özelliğine bağlı

sınırlı aktivite spektrumu nedeniyle gıda fermentasyonu ve muhafaza şartlarına uygun alternatif versiyonlara ihtiyaç duyulmuştur. Yapısında Nisin A'dan bir tane farklı aminoasit bulunduran Nisin Z, daha fazla yayılma ve düşük pH değerlerinde daha az çözünme yapabildiğinden daha kararlı bir yapıya sahiptir (Rollema et al., 1995; Field et al., 2018). Tadı, rengi, toksititesi ve kokusu bulunmayan nisinin, *L. monocytogenes, S. aureus, B. cereus, Micrococcus flavus ve M. luteus* üzerine oldukça etkili olduğu bildirilmektedir (Tong et al., 2014).

Yapılan bir çalışmada nisinin meyve sularında fizikokimyasal, stabilite ve antimikrobiyal özellikler üzerine etkileri incelenmiştir. Nisin eklenen meyve suları (tarçın elması, şeftali, kaju, passion meyvesi, portakal, mango, guava ve cupuaçu) oda sıcaklığında ve buzdolabında 30 gün boyunca depolanmıştır. Çalışma sonucunda ürünün fizikokimyasal yapısında önemli bir değişikliğe rastlanmazken nisin ilavesinin C vitaminin korunumunu desteklediği ve 24 saatlik depolamanın ardından, tarçın elması, kaju, şeftali ve mango sularına inoküle edilen *B. cereus, Alicyclobacillus acidoterrestris ve S. aureus* sayılarını 5 logaritmik birim azalttığı tespit edilmiştir (de Oliveira Junior et al., 2015).

2.3.1.2 Gıdalarda kullanılan probiyotikler ve gıda güvenliği açısından etkileri

Dünyadaki fonksiyonel ürün pazarının büyük bir bölümünü probiyotik içeren ürünler oluşturmaktadır (Kolozyn-Krajewska and Dolatowski, 2012).

Süt ürünlerinde probiyotiklerin kullanımı

Papadopoulou et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. plantarum* T571 probiyotik suşu Yunanistan'da üretilen bir süt ürünü olan feta peynirinde starter kültür olarak kullanılmış ve elde edilen ürünün mikrobiyal ve duyusal özellikleri incelenmiştir. Kullanılan kültürün mikrobiyal kaliteye etkisini belirlemek üzere peynirin olgunlaşma aşamasında ortama 6.5 log seviyesinde *L. monocytogenes* inoküle edilmiş, 4 ve 12ºC'de muhafaza edilen ürünler 20 günlük periyotlarla analize alınmıştır. 80 günlük olgunlaşma evresi olan peynirde, her iki sıcaklıkta da *L. plantarum* T571 ilavesi ile üretildiğinde, depolama aşamasına

geçmeden, olgunlaşmanın 60 ile 70. günleri arasında *L. monocytogenes'*in tamamen inhibe olduğu saptanmıştır.

Mpofu et al. (2016) yaptığı bir çalışmada Güney Afrika'da tüketilen, protein ve mikro besin değeri bakımından zengin *L. rhamnosus* ile fermente edilen yoba sütüne *L. monocytogenes, Salmonella* spp., *C. jejuni, E. coli* O157:H7 *ve B. cereus* inoküle edilmiş (5.5 log kob/mL) ve inhibisyon etkisi incelenmiştir. *C. jejuni* ve *B. cereus* sayısı fermentasyondan 3 sa. sonra, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 sayısı 24 saatlik fermentasyon sonunda 2 log kob/mL'ye düşmüştür. Fermentasyon sırasında *Salmonella* üzerine inhibisyon etkisi gözlemlenmese de, tüketim potansiyeli olan zaman diliminin 3. saatinde *Salmonella* sayısının 2 log kob/mL'ye düştüğü tespit edilmiştir.

El-kholy et al. (2014) yaptığı bir çalışmada, Domiati peynirinde probiyotik özelliğe sahip *L. acidophilus* La-5 ve *B. longum* ATCC15707 (9 log kob/mL) suşlarının kullanımının 4ºC'de 30 gün boyunca *S. aureus* (8.78 log kob/mL) ve *E. coli* O157:H7 (8.48 log kob/mL) üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. *S. aureus*, *L. acidophilus* eklendiğinde 22. günün sonunda, *B. longum* eklendiğinde ise 26. günün sonunda tamamen inhibe edilmiştir.

Kamal et al. (2018) yaptığı bir çalışmada, *L. rhamnosus*'un hem *in-vitro* hem de yoğurdun fermantasyonunda kullanılarak 4 farklı patojen üzerine (*E. coli* O157:H7, *S. aureus, Y. enterocolitica* ve *S.* Typhimurium) inhibisyon etkisine bakılmıştır. 48 saatlik fermentasyon sonunda nötralize edilmiş süpernatantı alınan *L. rhamnosus'*un *in-vitro* çalışma sonucunda dört patojen üzerine de önemli derecede inhibe edici etki gösterdiği, bu etkinin asitlikten değil, ortamdaki inhibitör maddelerin varlığından kaynaklandığı belirtilmiştir. Yoğurt starter kültürü ve *L. rhamnosus* ile fermente edilen yoğurt, patojenler (2 log ve 6 log kob/mL) ile inoküle edilmiş ve örnekler 0, 2, 4, 8, 24, 48, 72. saatlerde analize alınmıştır. Düşük dozda inoküle edilen örneklerde *E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium'un 24 sa. sonunda, *Y. enterocolitica* ve *S. aureus*'un ise 8 sa. sonunda tamamen inhibe olduğu gözlemlenmiştir. Yüksek dozda inoküle edilen örneklerde ise *S. aureus, Y. enterocolitica, E. coli* O157:H7'un 48 sa. sonunda tamamen inhibe edildiği, *S.*

Typhimurium sayısının ise 72 sa. sonunda kontrol grubuna kıyasla 1 log azaldığı tespit edilmiştir.

Meyve ve sebze ürünlerinde probiyotiklerin kullanımı

Iglesias et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. rhamnosus* GG ve *L. acidophilus* LA-5 suşlarının patojenler üzerine etkisini belirlemek amacıyla armuda *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* inoküle edilmiş ve örnekler 5, 10 ve 20ºC'de depolanmıştır. *L. rhamnosus* GG, 10℃'de 10 günlük depolamanın ardından örneklerde *Salmonella* sayısını yaklaşık olarak 2 log, *L. monocytogenes* sayısını ise 3 log azaltmış, 5ºC depolamada ise *Salmonella* sayısında azalma gözlemlenmezken, *L. monocytogenes* sayısı yaklaşık 3.5 log azalmıştır. *L. acidophilus* LA5'in ise patojenler üzerine inhibisyon etkisi gözlemlenmemiştir.

Alegre et al. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, işlem görmüş elmalarda *L. rhamnosus* GG'nin *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* üzerine ve örneklerin mikrobiyal kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Kesilen elmalar 10^8 kob/mL oranında *L. rhamnosus*, 10^5 kob/mL oranında ise *Salmonella* ve *L. monocytogenes* içeren solüsyonlara batırılmış, daha sonra 5ºC ve 10ºC olmak üzere iki farklı sıcaklıkta 28 gün boyunca depolanmıştır. *L. rhamnosus* ilavesinin *Salmonella* sayısını etkilemediği, *L. monocytogenes* sayısını ise her iki depolama sıcaklığında da 1 log azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca *L. rhamnosus* GG popülasyonunun depolama süresinde probiyotikler için tavsiye edilen seviyede (10^6 kob/g) kaldığı belirlenmiştir.

Bambace et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, inülin ve oligofruktoz ile zenginleştirilmiş yaban mersini üzerine arjinatlı kaplamalara probiyotik *L. rhamnosus* CECT 8361 eklenmiş, 21 günlük soğuk hava depolarında depolanan ürünlerde probiyotik canlılığı, fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikler incelenmiştir. Ayrıca *L. rhamnosus* CECT 8361 ilave edilen ürünlerin *L. innocua* ve *E. coli* O157:H7 üzerine antagonistik etkisi test edilmiştir. Prebiyotik kullanımının probiyotik sayısını 5 log kob/g'dan 6.2 log kob/g'a çıkartarak probiyotik canlılığını desteklediği belirlenmiştir. Ayrıca probiyotik ve prebiyotiğin

birlikte kullanımı sonucu üretilen ürünün *L. innocua* sayısını 1.7 log azalttığı, *E. coli* O157:H7 üzerine ise inhibisyon etkisi olmadığı tespit edilmiştir. 14 günün sonunda probiyotik içeren meyveler probiyotik içermeyenlere göre genel beğeni ve koku özellikleri açısından daha yüksek puanlar alsa da 21 günün sonunda belirlenen limitin 2.5 puan altında kalmıştır.

Russo et al. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, taze kesilmiş kavunlarda *L. plantarum* B2 ve *L. fermentum* PBCC11.5 kullanımının, ürünün riboflavin miktarı, duyusal özellikleri ve *L. monocytogenes* üzerine antagonistik aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Probiyotik kültürler daldırma yöntemiyle kavunlara inoküle edildikten sonra elde edilen ürün 4°C'de 11 gün boyunca depolanmıştır. *L. monocytogenes* sayısı (4.5 log kob/mL) depolama sonunda kontrol grubunda 0.5 log artış gösterirken, *L. fermentum* ve *L. plantarum* ile inoküle edilen örneklerde bu sayının sırasıyla 1.2 ve 2.0 log azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca *L. plantarum* B2 suşu ile zenginleştirilmiş kavunlarda riboflavin miktarının iki katına çıktığı, bazı duyusal özellikler dışında bu örneklerin besinsel değerinde önemli bir değişim olmadığı tespit edilmiştir.

Et ve et ürünlerinde probiyotiklerin kullanımı

Et, içerdiği yüksek miktarda protein, mineraller, iz elementler, vitaminler ve biyoaktif bileşenler sayesinde insan beslenmesinde protein miktarının %32'sini ve enerji miktarının ise %17'sini karşılanmaktadır (Bender, 1992; Toldra and Reig, 2011). Bununla birlikte ürün raf ömrü ve güvenilirliğini arttırmak amacıyla uygulanan ısıl işlemler nedeniyle gıdanın su aktivitesi düşmekte ve ürünün besleyici özelliği azalmaktadır (Kolozyn-Krajewska and Dolatowski, 2009). Et ürünlerini işleme sırasında ürünün raf ömrünü uzatmak ve besinsel değerini arttırmak amacıyla, insan sağlığına zararlı olabilecek (nitrit, nitrat, tuz vb.) bileşiklerin kullanımını azaltmak ve sağlığa olumlu etkiler yaratabilecek içeriklerin (doğal antioksidanlar, organik asitler, omega-3 vb.) miktarını arttırmak amacıyla sentetik maddeler yerine probiyotikler ve bitkilerden çeşitli yollarla elde edilen doğal antioksidan ve antimikrobiyal etkili maddeler kullanılmaktadır (Toldra and Reig, 2011) .

Sparo et al. (2013) yaptığı bir çalışmada, *Enterococcus faecalis* CECT7121 probiyotik suşunun et yüzeyine inoküle edilen farklı patojenler (*E. coli* O157:H7, *S. aureus, C. perfringens* ve *L. monocytogenes)* üzerine inhibisyon etkisini incelenmiştir. Çalışma kapsamında *E. faecalis* CECT7121 (10^4 kob/g) et yüzeyine patojenler (10^3 kob/g) ile aynı anda, 24 sa. önce ve 24 sa. sonra olmak üzere üç farklı periyotta inoküle edilmiş ve 5ºC'de depolanan örnekler periyodik olarak (0, 24, 48 ve 72 sa.) analize alınmıştır. Eş zamanlı yapılan inokülasyonda 72 sa. sonunda örneklerde *E. coli* O157:H7 sayısı tespit limitlerinin altında bulunurken 24 sa. önce ve 24 sa. sonra probiyotik inokülasyonu yapılan örneklerde sırasıyla 24 ve 48 saatlik depolama sonunda *E. coli* O157:H7 sayısının tespit limitlerinin altında olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes* 24 saatlik depolama sonunda, *C. perfringens* ve *S. aureus* sayıları ise 48 saatlik depolama sonunda, probiyotik hücrelerin inokülasyon süresine bağlı olmadan, tespit seviyesinin altına düşmüştür.

Hashemi et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. fermentum, L. plantarum* ve *L. sakei* probiyotik suşlarının 24 sa. fermentasyon sonucu köftelere inoküle edilen *Aspergillus parasiticus* PTCC 5018, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* O157 H7 ATCC 35150 ve *S.* Typhimurium ATCC 14028'e karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Kullanılan üç probiyotik türünün de tüm patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, *A. parasiticus* hariç diğer tüm patojenlere karşı en yüksek inhibisyon zonunun *L. plantarum* tarafından oluşturulduğu, *A. parasiticus*'a karşı ise *L. sakei*'nin *L. plantarum* ile istatistiksel olarak aynı miktarda inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır.

Yapılan diğer bir çalışmada, *L. curvatus* CRL705 (10^6 kob/g) sığır etlerinde doğal koruyucu olarak kullanılmış ve 2°C'de 60 gün boyunca et yüzeyinde doğal olarak bulunan *Brochothrix thermosphacta* üzerine inaktivasyon etkisi incelenmiştir. 60 günün sonunda *L. curvatus* inoküle edilen ette *B. thermosphacta* sayısı 1.25 log kob/g'ın altına düşmüştür. Bununla birlikte yapılan duyusal analiz sonrasında depolama süresince herhangi bir istenmeyen koku oluşmamıştır (Castellano et al., 2010).

Fermente deve sosislerinden *L. plantarum*'un 29 farklı suşu izole edilmiş, karakteristik yapıları belirlenerek sosis yapımında starter kültür olarak kullanılması amacıyla proteolitik aktivite, asitleme kapasitesi, antibiyotik direnci ve antimikrobiyal testleri yapılmıştır. Kullanılan bütün suşların etin pH değerini 15 ve 25^{o}C'de 72 sa. depolama sonunda 4.3' ün altına düşürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca izole edilen suşlardan elde edilen süpernatantların agar difüzyon yöntemi ile *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *A. hydrophila* üzerine güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Mejri and Hassouna, 2016).

Fermente balık ve et ürünlerinde *Staphylococcus* spp. DBOCP6 suşunun kullanıldığı bir çalışmada, bu suşun lizozim ve %4 safra tuzu varlığında, pH 1-10 aralığında ve gastrointestinal sistemde gelişimini devam ettirdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte *Staphylococcus* spp. DBOCP6 suşunun *E. coli* MTCC 40 ile antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Borah et al., 2016).

2.4 Koruk

Türkiye sahip olduğu verimli ve elverişli topraklar sayesinde bağcılık sektöründe önemli bir yere sahiptir (Bashimov, 2017). Bağcılık, üreticinin geçimini sağlamasının yanı sıra milli ekonomiye de önemli katkılar yapmaktadır (Gözener et al., 2014). Üzüm, toprak ve iklim seçiciliğinin olmamasından dolayı Dünya'nın her yerinde yaygın olarak yetişmektedir. Dünya üzerinde 10000'in üzerinde üzüm çeşidinin olduğu tahmin edilmekle birlikte iklim koşullarına bağlı olarak yıllık 65 milyon ton üzüm üretilmektedir (Semerci et al., 2015).

Dünya üzüm üretiminin %4.8'i Türkiye tarafından gerçekleşmektedir. TÜİK verilerine göre 2018 yılı boyunca Türkiye'de 3 milyon 933 bin ton üzüm üretilmiştir (TÜİK, 2019a). Üretilen bu üzümlerin yaklaşık %48.7'sinin sofralık, %38.5'inin kurutmalık ve %12.8'inin ise şarap yapımında kullanıldığı bildirilmektedir (Anonim, 2019).

Ülkemizde üzümün olgunlaşmamış haline "Koruk" (*Vitis vinifera L.*) adı verilmektedir. İspanyolca ve Almanca'da "agraz", İngilizce'de "verjuice",

Farsça'da "abe-ghureh", Fransızca'da "vertjus" veya "verjus" ve İtalyanca'da "agresto" olarak adlandırılan koruk, biyoaktif bileşenlerce zengin, düşük şeker oranına sahip ve yüksek asit içeriğinden dolayı ekşi tada sahip bir üründür (Nikfardjam, 2008; Alipour et al., 2012; Bovo et al., 2016; Sengun et al., 2019). Malik asit, tartarik asit, kateşin, kafeik asit, gallik asit ve kersetin glikozit gibi organik asit ve fenolik bileşiklerce zengin yapısı nedeniyle antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahiptir (Nikfardjam, 2008; Turkmen et al., 2017; de Matos et al., 2017; Öztürk ve Sengun, 2019). Eski çağlardan bu yana Avrupa ülkelerinde koruk tanelerinin baskılanmasıyla elde edilen koruk suyu, asitlendirici ajan, içecek ve yemek sosu gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Karapinar and Sengun, 2007; Nikfardjam, 2008).

Literatürde koruk suyu üretimi ile ilgili olarak sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. de Matos et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, tanelerine ayrılan koruklar çekirdekleri çıkartılarak baskılanmış, elde edilen meyve suyu fitreden geçirilerek "koruk suyu" olarak kullanılmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada koruklar tanelerine ayrılıp yıkandıktan sonra mikrobiyal yükü azaltmak amacıyla %5 (v/v) sirke içeren suda 15 dk. bekletilmiş, dezenfeksiyon işleminin ardından koruk taneleri önce su ile durulanmış ardından blendırda parçalanarak suyu elde edilmiştir. Elde edilen sıvı tülbent yardımıyla filtrelendikten sonra çalışmada "koruk suyu" olarak kullanılmıştır (Ozturk and Sengun, 2019). Karapinar ve Sengun (2007) tarafından yapılan bir diğer çalışmada koruk suyu iki farklı yöntemle üretilmiştir. Birinci yöntemde tanelerine ayrılan koruklar blendırda parçalanmış, elde edilen püre kabuklarından ve çekirdeklerinden arındırılmak amacıyla önce metal bir elekten daha sonra tülbentten geçirilerek süzülmüştür. Elde edilen sıvının belli bir süre sonunda üst kısmında oluşan berrak fazı alınmış ve çalışmada "koruk suyu" olarak kullanılmıştır. İkinci üretim yönteminde ise koruklar plastik bir haznenin içinde ezildikten sonra oluşan pürenin suyunu ayırmak için elle sıkılmıştır. Birinci yöntemdekine benzer şekilde ikinci yöntemde de katı kısmın dibe çöküp berrak kısmın üst kısımda toplanması için bir süre beklenmiş, oluşan berrak üst faz çalışmada "koruk suyu" olarak kullanılmıştır.

2.4.1 Koruk suyunun kimyasal özelliklerinin belirlendiği çalışmalar

Koruk suyunun kimyasal özelliklerinin incelenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada Yediveren ve Kabarcık üzüm türlerinden elde edilen koruk sularının toplam fenolik madde, pH, kül, askorbik asit ve bulanıklık değerleri incelenmiştir. İki farklı türden (Kabarcık ve Yediveren) elde edilen koruk suları iki farklı sıcaklıkta (5ºC ve 24 ºC) 3 ay boyunca depolanmış ve örnekler ısıl işlem görmüş (85ºC'de 15 dk.) - jelatin eklenmiş (A), ısıl işlem görmemiş - jelatin eklenmiş (B), ısıl işlem görmüş - jelatin eklenmemiş (C), ısıl işlem görmemiş - jelatin eklenmemiş (D) olmak üzere dört farklı grupta sınıflandırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda "A", "B", "C" ve "D" örneklerinin tartarik asit cinsinden toplam asitlik değerleri sırasıyla 17.8-15.7 g/L, 19.0-16.6 g/L, 16.6-15.0 g/L, 18.8-15.5 g/L, askorbik asit miktarları 15.7-11.3 mg/L, 15.3-11.0 mg/L, 15.1-14.0 mg/L, 17.2-11.3 mg/L, pH değerleri 2.88-2.84, 2.90-2.82, 2.91-2.87, 2.92-2.85, kül değerleri %0.310-0.254, %0.382-0.276, %0.312-0.250, %0.324-0.244 ve toplam fenolik madde içerikleri gallik asit cinsinden 4041.5-3202.1 g/L, 3847.6-3093.0 g/L, 2908.2-2444.5 g/L, 2826.4-2411.2 g/L olarak belirlenmiştir (Hayoglu et al., 2008).

Yapılan bir diğer çalışmada sirke yerine alternatif olması amacıyla iki farklı konsantrasyonda koruk suyu içeren sıvılar (%50 koruk suyu - %50 su (VER1:2) ve %10 koruk suyu - %90 su (VER1:10)) hazırlanmış ve kimyasal analizleri yapılmıştır. "VER1:2" ve "VER1:10" sıvılarının malik asit, tartarik asit ve sitrik asit değerleri sırasıyla 5.03 ve 2.68 mg/mL, 1.40 ve 0.40 mg/mL, 0.78 ve 0.79 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Hazırlanan sıvıların pH değerlerinin 3.22 ve 3.95, fruktoz miktarlarının 5.15 ve 4.35 mg/mL ve glikoz miktarlarının 8.88 ve 5.16 mg/mL aralığında olduğu belirlenmiştir (de Matos et al., 2019).

Nikfardjam (2008) yaptığı bir çalışmada farklı ülkelerden (Fransa, Almanya ve İran) satın aldığı koruk sularının fenolik kompozisyonunu incelemiştir. Yapılan analizler sonucunda koruk sularının kafeik asit, gallik asit, p-kumarik asit, kersetin, kaftarik asit, epikateşin, kateşin, fertarik asit, p-kutarik asit, protokatekuik asit, tirozol ve kersetin-glikozit içerdiği tespit edilmiştir.

2.4.2 Koruk suyunun antimikrobiyal özellikleri

Koruk suyunun antimikrobiyal etkisinin incelendiği ilk çalışmada, iki farklı yöntemle elde edilen koruk sularının maydanoz ve salatalık örneklerine inoküle edilen *S.* Typhimurium'a (10^6 kob/mL) karşı 0, 15, 30, 60 dk. boyunca antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Koruk suları başlangıçta *S.* Typhimurium sayısında 1-1.5 log kob/g azalma sağlarken, koruk suları ile farklı sürelerde muamele edilen örneklerde *S.* Typhimurium sayısı 2 ile 3.5 log arasında değişen miktarlarda azalmıştır (Karapinar and Sengun, 2007).

Öncül ve Karabıyıklı (2016) tarafından yapılan diğer bir çalışmada koruk suyu ve koruk ekşisine 2 ve 6 log kob/mL olmak üzere iki farklı dozda *L. monocytogenes, E. coli, S. aureus* ve *S.* Typhimurium inoküle edilmiş ve mikroorganizmların canlılıkları incelenmiştir. Düşük dozda inoküle edilen tüm mikroorganizmalar 5 dk. içinde, yüksek dozda inoküle edilen mikroorganizmalar ise 15 dk. içinde tamamen inhibe olmuştur.

Yapılan bir diğer çalışmada koruk suyu ve ekşi koruk sosunun *S. aureus, L. monocytogenes, S.* Typhimurium ve *B. cereus* patojenlerine karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) tespit edilmiştir. Koruk ürünlerinin test edilen mikroorganizmalara karşı MİK değerlerinin %6.25-%50 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Bu ürünlere en duyarlı mikroorganizma *B. cereus*, en dirençli mikroorganizma *S.* Typhimurium olarak tespit edilmiştir (Karabıyıklı and Öncül, 2015).

Koruk suyunun asidik ve fenolik bileşiklerce zengin bir yapıda olması mikroorganizmalara karşı inhibitif etki göstermesini sağlamaktadır. Literatürde bu konuda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sengun et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada koruk suyu içeren marinasyon sıvılarının kanatlı etinin kalitesi ve güvenliği üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *S.* Typhimurium (6 log kob/mL) inoküle edilen etler farklı oranlarda (%100, %75 ve %50) koruk suyu içeren marinasyon sıvılarıyla 4 °C'de 1, 2 ve 18 sa. muamele edilmiştir. Depolama süreleri boyunca yapılan ölçümler sonucunda *S.* Typhimurium sayısının 0.113 ile

3.476 log kob/g arasında değişen değerlerde azaldığı, 18 saatlik uygulamada test edilen patojene karşı en etkili formülasyonun %100 koruk suyu içeren marinasyon sıvısı olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda koruk suyu (%25 ve %50) ve koruk posası (%1 ve %2) içeren ve katkılı (%1 tuz ve %0.1 kekik) ve katkısız olacak şekilde hazırlanan marinasyon sıvılarının ete iki farklı dozda (3 ve 6 log kob/mL) inoküle edilen *S.* Typhimurium, *E. coli* O157: H7 ve *L. monocytogenes* üzerine inaktivasyon etkisi incelenmiştir. Patojen inoküle edilen etler marinasyon sıvıları içinde 4 °C'de 2, 24, ve 48 sa. boyunca bekletilmiştir. Yüksek dozda inoküle edilen marinasyon sıvılarında *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium sayılarının sırasıyla 0.023–2.781 log kob/g, 0.264–3.373 log kob/g, 0.109–2.648 log kob/g azaldığı ve 48 saatlik uygulamanın ardından *S.* Typhimurium ve *E. coli* O157:H7 üzerine en etkili marinasyon sıvısının %50 koruk suyu - %50 su içeren formülasyon olduğu tespit edilmiştir. Düşük dozda inoküle edilen et örneklerinde ise patojen sayıları, 2 saatlik uygulamanın ardından tüm marinasyon sıvılarında tespit seviyesinin altında kalmıştır (Ozturk and Sengun, 2019).

2.5 Soğan

Liliaceae familyasına ait olan soğan (*Allium cepa)* birçok iklim koşulunda gelişebilmekte ve sahip olduğu sülfürlü yapısından dolayı kendine has aroması ve tadı bulunmaktadır (Albayrak and Elmaci, 2017; Demir et al., 2017). Besinsel değeri yüksek olan soğanın lezzet verici özelliğinin yanı sıra tıbbi alanda kullanımına da bağlı olarak tüm Dünya'da üretimi giderek artmaktadır (Kim et al., 2019). Taze, kuru işlenmiş veya depolanmış şekilde tüketilebilen soğan, yapısında bulunan biyoaktif bileşenler sayesinde kalp hastalığı, kanser, obezite, katarakt ve hipertansiyon gibi farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Jurgiel-Malecka et al., 2015; Yünlü and Kır, 2016). FAO verilerine göre 2017 yılında 140'ın üzerinde ülkede toplam 97.9 milyon ton kuru soğan üretilmiştir. Türkiye ürettiği 2.13 milyon ton kuru soğan üretimiyle Dünya kuru soğan üretiminin %2.18'ine sahiptir (TÜİK, 2019b).

2.5.1 Soğanın kimyasal yapısı

Soğan fenolik bileşikler ve uçucu yağlar gibi biyoaktif bileşenlerce zengin bir gıda olmasının yanı sıra iyi bir prebiyotik kaynağıdır. Perez et al. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli soğan türlerinin flavanoid miktarı ve içerdiği bileşenleri tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda 5 farklı soğan türündeki flavanoid miktarının 101.0- 304.3 mg kersetin/kg aralığında değiştiği, tanımlanan bileşikler arasında izorhamnetin 4-glukozit, kersetin 3-glukozit, kersetin 4-glukozit, izorhamnetin 3,4-diglukozit, kersetin 7.4-diglukozit olduğu belirlenmiştir.

Jurgiel-Malecka et al. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada beyaz, sarı ve kırmızı soğanın içerisinde azot, fosfor, potasyum, kalsiyum sülfür gibi makro ve magnezyum, demir, manganez, çinko ve bakır gibi mikro besinlerin bulunduğu, bunun yanı sıra 3 farklı soğan türünün kilogram başına 417.5-667.5 gram aralığında değişen şeker içerine sahip olduğu bildirmiştir.

Mnayer et al. (2014) yaptığı bir çalışmada soğanın izoamil alkol, metil, dimetil tiyofen, metil propil disülfür, metil 1-propenil disülfür, dimetil trisülfür, alil propil disülfür, dipropil disülfür, 1-propenil propil disülfür, 3,5-dimetil-1,2,4-trithiolan, metil propil disülfür, metil 1-propenil trisülfid, metil-1- (metiltiyo) etil-disülfür, dimetil tetrasülfid, 3-etil-5-metil-1,2,4-trithiolan, 3-etil-5-metil-1,2,4-trithiolan, metil1-(metiltiyopropil) disülfit, 2-undekanon, tridekan, dipropil trisülfür, alil propil trisülfür, di-1-propenil, trisülfit, 2-heksil-5-metil 3(2H)-furanon, 2-tridekanon, 2-metil-3,4-dithiaheptan, dipropil tetrasülfit, metil palmitat, etil palmitat, metil linoleat, etil oleat gibi bileşenlere sahip olduğu bildirilmiştir.

Dini et al. (2008) yaptığı bir çalışmada, kırmızı soğan (*Allium caepa* L. var. *tropeana*) tohumlarının besinsel değerlerini incelemiştir. Çalışmada tohumlardaki su oranı %10.5, protein oranı %24.8, yağ oranı %20.4, karbonhidrat oranı %21.9 ve lif oranı %22.4 olarak tespit edilmiştir.

2.5.2 Soğanın prebiyotik özelliği

Prebiyotikler, insan ve hayvan sağlığını olumlu yönde etkileyen ve bağırsakta bulunan yararlı bakterilerin gelişmesini teşvik eden sindirilemeyen karbonhidratlar olarak tanımlanmaktadır. Gıdalarda bulunan bazı prebiyotiklerin inülin, laktuloz, frukto-oligosakkaritler (FOS), galakto-oligosakkaritler, laktosukroz, gluko-oligosakkaritler, raftilin, oligomat, ksilo-oligosakkaritler, palatinoz, pirodekstrinler, sorbitol, izomalto-oligosakkaritler, soya oligosakkaritleri, gentio-oligosakkaritler olduğu bildirilmektedir (Sezen, 2013). İnülin ve FOS; enginar, kuşkonmaz, pırasa, soğan ve sarımsak gibi sebzelerde önemli miktarda bulunmaktadır (Moongngarm et al., 2011). Prebiyotikler, et ürünlerinde genellikle etin tekstür, tat ve aroma özelliklerini geliştirmek amacıyla ve aynı zamanda yağ ikamesi olarak kullanılmaktadır (Jiménez-Colmenero et al., 2006). Prebiyotiklerin ayrıca etin su bağlama kapasitesini arttırdığı ve emülsiyon stabilitesini geliştirdiği bildirilmektedir (Sáyago-Ayerdi et al., 2009). Espinosa-Martos et al. (2015) yaptığı bir çalışmada soğanın kuru maddesinin %1.39' inulin, %3.73 sindirilemeyen oligosakkaritler, %9.82 sakaroz, %26.99 glikoz ve %25.61 fruktoz içerdiğini bildirmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada soğanın %27.17 inülin, %1.35 fruktoz, %9.71 sakaroz, %2.03 glikoz ve %1.63 fruktoz içerdiği bildirilmiştir (Moongngarm et al., 2011). Li et al. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada *L. acidophilus* NCFM suşu süt fermentasyonunda kullanılmış ve soğan suyunun süt fermentasyonu üzerindeki etkisine bakılmıştır. Soğan suyu içeren sütlerde *L. acidophilus* NCFM sayısının kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu, ayrıca sütün antioksidan kapasitesinin arttığı ve fermentasyon süresinin kısaldığı tespit edilmiştir.

2.6 Marinasyon

Marinasyon, etin yağ, tuz gibi çeşitli gıda maddeleri ile muamele edilmesi işlemidir. Bununla birlikte etin gevrekliğini, lezzet ve sululuğunu arttırmak, sert kasları yumuşatmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (Saha et al., 1993; Ergezer and Gökçe, 2004; Alvarado and Mckee,

2007; Smith and Acton, 2010; Türk Gıda Kodeksi, 2012). Gıda endüstrisinde daldırma, çok iğneli enjeksiyon ve tamburlama gibi çeşitli marinasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Her yöntemin avantaj ve dezavantajı olduğu için marinasyon yöntemi marine edilecek olan ürüne göre seçilmelidir (Yusop et al., 2011).

2.6.1 Marinasyon yöntemleri

Tamburlama

Tamburlama yönteminde et dönen tamburların içinde aşındırıcı kuvvet ve yer çekimine maruz kalmaktadır. Tamburun içinde dönen et çarpmanın etkisiyle hasar görmekte, bu durum etin sıvı bağlama kapasitelerinde artışa neden olmaktadır. Deri içermeyen ve büyük parça etler için uygun bir yöntemdir (Ergezer and Gökçe, 2004).

Çok iğneli enjeksiyon

Pratik ve bekleme süresi olmadan yapılan bu yöntemde marinasyon sıvısının belli dozda aktarılmasını sağlamasından dolayı en sık kullanılan yöntemdir (Xargayó et al., 2010). Bu yöntemin küçük parça etlere uygulanamıyor olması, basınçlı bir işlem olduğundan, et yüzeyindeki patojen veya saprofit mikroorganizmaları etin daha iç dokularına taşıyabilme riski, sızıntı kaybının fazla olması ve pahalı bir yöntem olması gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır (Smith, 1999; Ergezer and Gökçe, 2004).

Daldırma

En eski yöntemlerden biri olan daldırma yöntemi, etin marinasyon sıvısına batırılarak marinatın içinde bulunan bileşenlerin difüzyon yoluyla ete aktarılması işlemidir. Bu yöntemin dezavantajları marinasyon sıvısının ete homojen dağılmaması ve pratik bir yöntem olmamasıdır (Xargayó et al., 2010).

2.6.3 Marinasyon işlemini etkileyen faktörler

Etin kalitesini arttırmak, özelliklede, etin dokusunu ve lezzetini geliştirmek amacıyla uygulanan marinasyon işleminin etkiliğini hayvanın yaşı, hayvanın cinsi, etin tazeliği, pH değeri gibi birçok faktör etkilemektedir.

Yetişkin bir hayvan genç bir hayvana kıyasla daha fazla miktarda yağ, daha az miktarda protein içermektedir. Proteinler su molekülleri ile birleşerek daha fazla reaktif grubuna sahip olduğundan, genç bir hayvanın eti daha fazla su tutma kapasitesine sahip olabilmektedir (Xargayó et al., 2010).

Bazı hayvan ırklarında kesimden sonra çok hızlı bir pH düşüşü gözlenmektedir. Bu durum etin su tutma kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır (Xargayó et al., 2010).

Kesilen hayvanın kası mortis fazında olduğu zaman ette bulunan lifler kas filamentleri ile arasındaki köprü sayısını arttırarak proteinlerin reaktif gruplarının su molekülleri ile bağlanmasını engellemektedir. Etin olgunlaşma döneminde, mortis fazında oluşan bu köprüler ortadan kalkarak su bağlama kapasitesi artmaktadır (Xargayó et al., 2010).

Kesimin ardından 5.4-5.8 arasına düşen pH değeri, polipeptit bağların büzülmesine ve değişkenlerin elektrik yüklerinin kaybolmasına neden olarak su tutma kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır. Et olgunluk kazandıkça pH değeri yükselmekte ve böylece elektrik yükleri geri kazanılmakta, bu da su tutma kapasitesinin artmasını sağlamaktadır (Xargayó et al., 2010).

2.6.2 Marinasyon amacıyla kullanılan maddeler

Marinasyon sırasında kullanılan maddeler etin dokusal özellikleri ile su bağlama özelliklerini geliştirmek ve ürünün çekiciliğini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan maddeler arasında yaygın olarak su, tuz, fosfat, organik asitler, protein, baharatlar yer almaktadır.

Su

Su, et marinasyonunda sıklıkla kullanılan bir bileşendir. Et doğal yapısında suyu barındırsa da pişme sırasında buharlaşmakta, bu durum pişme sonrasında ağırlıkta ciddi kayıplara neden olmaktadır (Xiong, 2005). Su, marinasyonda kullanılan ve suda çözünür maddeler için taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Yusop et al., 2011).

Tuz

Tuz gıdalarda lezzeti geliştirmek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Proteinlerin izoelektrik noktasını azaltan tuz, negatif yüklü klorür iyonları ve pozitif yüklü protein yapılar ile bağlanarak ortamdaki itici gücü arttırmaktadır. Böylece üç boyutlu matrise sahip protein yapısı açılmakta ve su molekülleriyle bağlanma kabiliyeti artmaktadır. Et işleme yöntemlerinde kullanılan tuz sayesinde proteince zengin yapısı nedeniyle et hacminin iki katına kadar artabileceği ön görülmektedir (Xargayó et al., 2010).

Fosfat

Alkali fosfatlar, pH değerini kaslardaki miyofibriller proteinlerin izoelektrik noktasından uzaklaştırarak kas proteinlerini açmakta, böylece etin su tutma kapasitesini arttırmaktadır. Kısa zincirli fosfatlar olan pirofosfatlar ve ortofosfatlar tamponlama kabiliyetlerinden dolayı ortamın pH değerini değiştirebilmektedirler (Alvarado and Mckee., 2007).

Organik Asitler

Asitler marinasyon sıvılarında kullanıldığında antimikrobiyal etki göstermesinin yanı sıra etin yapısısı ve lezzetini de geliştirmektedir. Yüksek derecede asit içeren marinasyon sıvıları ette bulunan proteinleri denatüre ederek etin daha yumuşak bir yapıya sahip olmasını sağlar (Alvarado and McKee, 2007). Bunun yanı sıra etin pH değerinin düşmesi sus tutma kapasitesini arttırmakta,

böylece daha gevrek ürünler elde edilmektedir (Burke and Monahan, 2003; Yusop et al., 2011). Marinasyon sıvılarında kullanılan laktik ve propiyonik asitin antimikrobiyal etkisi ortamın pH değerini hedef mikroorganizmanın gelişebileceği pH değerinin altında tutarak strese sokması ayrıca ayrışmamış asit moleküleriyle metabolik inhibisyona sebebiyet vermesine bağlıdır (Alvarado and McKee, 2007).

Protein

Marinasyon sıvılarında kullanılan proteinler, tek başlarına su tutma kapasiteleri olmasa da ısı ile beraber etkileşim sonrasında jelleşerek sudan daha viskoz bir yapıya geçmekte ve et lifleri tarafından tutulması kolaylaşmaktadır. Bunun yanı sıra proteinler pişirme sırasında eklendikleri zaman pişme kaybını önlemeye yardımcı olmaktadırlar (Xargayó et al., 2010).

Baharatlar

Baharatlar gıdalarda yalnızca lezzet vermek amacıyla değil aynı zamanda insan sağlığına olumlu etkileri ve antimikrobiyal aktivitesi sebebiyle de kullanılmaktadır (Benhammou et al., 2009). Marinasyonda kullanılan safran, zerdeçal, kekik, karanfil, fesleğen, tarçın, sarımsak ve rezene gibi baharatlar, etin duyusal özelliklerini önemli derecede geliştirmektedir (Yusop et al., 2011).

2.6.3 Marinasyon işleminin etkilerinin incelendiği çalışmalar

Literatürde et marinasyonuna yönelik olarak yapılmış çalışmalar olmasına karşın sadece sınırlı sayıda çalışmada marinasyonun et güvenilirliği üzerine etkileri incelenmiştir.

Lytou et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, tavuk göğüs filetoları elma sirkesi (VI), limon suyu (LE), nar suyu (PO), nar suyu-limon suyu (PL) ve nar suyu-elma sirkesi (PV) formülasyonları ile hazırlanan marinasyon sıvılarıyla dört farklı sürede (1, 3, 6 ve 9 sa.) ve üç farklı sıcaklıkta (4, 10 ve 20°C) muamele edilmiş ve örneklerin mikrobiyal, duyusal ve fizikokimyasal özellikleri

incelenmiştir. Toplam aerobik plak ve *Pseudomonas* spp. sayılarında en fazla azalma PL formülasyonu ile muamele edilen tavuk filetolarında sırasıyla 3.3 log kob/g (4 ve 20^{o}C'de 9 sa.) ve 5.0 log kob/g (20^{o}C'de 3 sa.) olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra marinasyon sıvılarının örneğe arzu edilen bir duyusal özellik kattığı belirtilmiştir.

Ucak et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, marine edilmiş (%2 asetik asit + %8 NaCl veya %4 asetik asit + %8 NaCl) ringa balığı filetolarına yüksek basınç işlemi uygulanarak biyojen amin oluşumuna karşı etkisi incelenmiştir. Marine edilen balıklar *Mycobacterium psychrotolerans* ile inoküle edilip 5 ile 10 dk. boyunca 100, 300 ve 500 MPa yüksek basınç işlemine tabi tutularak vakum paketlenmiş ve 4°C'de 3 ay boyunca depolanmıştır. Yüksek basınç ve %4 asetik asit içeren karışımın *M. psychrotolerans* üzerine güçlü bir inhibisyon etkisi olduğu, 300 MPa ile 10 dk., 500 MPa ile 5 ve 10 dk. işlem gören örneklerde psikrofilik bakteri gelişimi olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca depolama süresi boyunca %4 asetik asit içeren marinasyon sıvısı ile muamele edilen örneklerde biyojen amin oluşumu gözlemlenmemiştir.

Sarımsak ve soğan suyunun iki farklı oranda (%3 ve %6) ayrı ayrı (%3 ve %6) domuz eti marinasyonunda kullanımının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, marine edilen örnekler 4^{o}C'de 7 gün boyunca depolanmıştır. Depolama sonunda soğan suyu ve sarımsak suyu ile marine edilen örneklerin pH değerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu, ayrıca duyusal değerlendirme sonucunda sarımsak ve soğan suyu ile marine edilen örneklerin panelistler tarafından daha fazla tercih edildiği belirtilmiştir (Kim et al., 2010).

Yapılan diğer bir çalışmada soya sosunun yengeçlere yaklaşık 4.1-4.4 log kob/g aralığında inoküle edilen *E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* patojenlerine karşı 5 ve 22^{o}C'de 28 gün boyunca inaktivasyon etkileri incelenmiştir. Düşük sıcaklıkta depolanan örneklerde 28 günün sonunda sadece *V. parahaemolyticus* tespit limitlerinin altına düştüğü, *S.* Typhimurium, *E. coli* O157:H7, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* sayılarının sırasıyla 1.6, 1.4, 3.2 ve 3.1 log kob/g olduğu belirtilmiştir. Bunun yanı

sıra 22ºC'de depolanan örneklerde patojenlerin düşük sıcaklıktaki depolamaya kıyasla marinasyon sıvılarına karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (Cho et al., 2016).

Soya sosu ve kırmızı şarap bazlı marinasyon sıvılarının sığır etlerine bulaştırılan *L. monocytogenes* ve *S. enterica* üzerine inaktivasyon etkisi incelenmiştir. Soya sosu bazlı marinasyon sıvıları laktik asit içeren ve içermeyen, kırmızı şarap bazlı marinasyon sıvıları kekik ilaveli veya ilavesiz olmak üzere hazırlanmış ve et örneklerine 5ºC'de 18 sa. boyunca marinasyon işlemi uygulanmıştır. Marinasyon işleminin etkisini görmek amacıyla et örnekleri 10 gün boyunca 5ºC'de depolanmıştır. Depolama periyodunun sonunda *L. monocytogenes* ve *S. enterica* sayılarının sırasıyla 3.4 ve 2.1 log kob/cm^2 azaldığı belirlenmiştir. Buna ek olarak laktik asit içeren soya bazlı marinasyon sıvısı, laktik asit içermeyen soya bazlı marinasyon sıvısına kıyasla *L. monocytogenes* ve *S. enterica* sayılarını sırasıyla yaklaşık 2 ve 1 log kob/cm^2 daha fazla azalttığı bildirilmiştir (Rhoades et al. 2013).

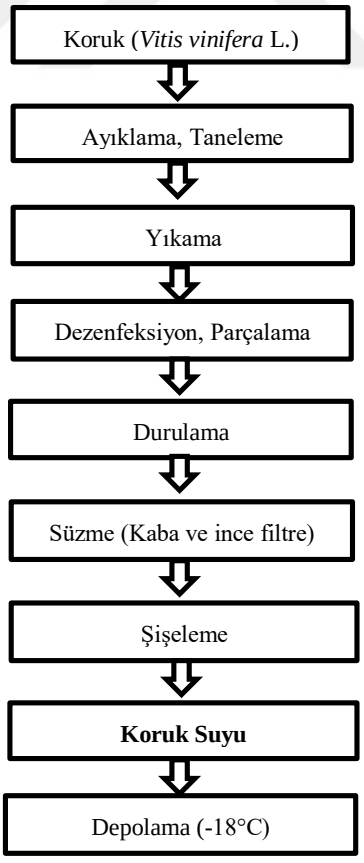
Testa et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada hamsi filetolarının kontrol grubu marinasyon solüsyonuna (%10 NaCl ve %2 asetik asit) 10 mg/mL zeytin yaprağı ekstraktı eklenerek depolama süresince (5°C'de 22 gün) toplam aerobik plak sayısı üzerine etkisi incelenmiştir. Başlangıçta 4.5x10^4 kob/g olan toplam aerobik plak sayısı depolama sonunda tespit limitlerinin altına düşmüştür. Ayrıca marinasyon sıvısının ürünün yapısını bozmadan raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir.

Literatürde marinasyonun gıda güvenliği üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar yer almaktadır. Yapılan bu çalışmalarda marinasyon sıvısı olarak sirke, şarap, zeytinyağı ve meyve sebzelerden elde edilen çeşitli sos veya sıvılar kullanılmıştır. Bununla birlikte probiyotiklerin marinasyon sıvılarında kullanıldığı herahangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında probiyotiyotiklerin ürettiği metabolitlerin marinasyon sıvıları üzerine muhtemel etkileri araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Koruk Suyu Üretimi

Çalışmada materyal olarak İzmir'in Yeşilyurt ilçesinde yetişen Yediveren cinsi koruklar (*Vitis vinifera L.*) kullanılmıştır. Temmuz ayı sonunda doğrudan üreticisinden satın alınan koruklar, tanelerine ayrılmış, yıkanmış, 15 dk. sirkeli suda (%5, h/h) bekletildikten sonra su ile durulanmıştır. Dezenfekte edilen taneler blendırda (Waring Commercial Blendor, Waring Product Division New Hartford Conn. USA) yüksek hızda 1 dk. Süreyle parçalanmış ve elde edilen karışım, kabuk ve çekirdeklerinden ayrılmak üzere, önce metal bir elekten daha sonra tülbentten süzülerek geniş plastik bir hazneye aktarılmış ve ardından kaba filtreden geçirilmiş ve böylece elde edilen berrak sıvı, çalışmada "koruk suyu" olarak kullanılmıştır. 1.5 L'lik pet şişelere dolumu yapılan koruk suyu örnekleri analizde kullanılacağı güne kadar -18ºC'de dondurularak muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1 Koruk suyu üretim akış şeması

3.2 Soğan Suyu Üretimi

Yerel bir marketten satın alınan soğanlar (*Allium cepa* L.) blendırda (Yazıcılar, model L6E) yüksek hızda 1 dk. süre ile parçalanmıştır. Karışım tülbentten geçirilerek süzülmüş ve elde edilen soğan suyu 1.5 L'lik pet şişelere aktarıldıktan sonra -18°C dondurularak muhafaza edilmiştir.

3.3 Probiyotik Kültürlerin Aktivasyonu

Çalışmada Danisco ve Christian Hansen firmalarından liyofilize formda temin edilen *Lactobacillus acidophilus* LA5, *Lactobacillus casei* 01 ve *Lactobacillus rhamnosus* HN001 suşları kullanılmıştır. Kültürlerin aktivasyonu amacıyla Skim Milk Medium (%10, h/h) kullanılmış ve 37°C'de 18 sa. inkübe edilen kültürler marinasyon sıvılarına aktarılmıştır.

3.4 Marinasyon Sıvılarının Hazırlığı

Marinasyon sıvıları (MS) %25 oranında (v/v) koruk suyu, üç farklı probiyotik kültür (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*), soğan suyu ve içme suyu içerecek şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.1). Hazırlanan marinasyon sıvılarına probiyotik kültürler (10^9 kob/mL) ayrı ayrı ve karışım halinde inoküle edilmiştir. Probiyotik ve soğan suyu içermeyen marinasyon sıvısı (MS5) kontrol olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1 Koruk suyu ile hazırlanan marinasyon sıvılarının formülasyonları

Marinasyon içeriği	**MS1**	**MS2**	**MS3**	**MS4**	**MS5**
Koruk suyu (mL)	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
Soğan suyu (mL)	11.5	11.5	11.5	11.5	-
Su (mL)	25	25	25	25	37.5
L. acidophilus (mL)	1	-	-	1	-
L. casei (mL)	-	1	-		-
L. rhamnosus (mL)	-	-	1		-

3.5 Marine Edilecek Dana Etinin Hazırlığı

Çalışmada ölüm sertliğini tamamlamış dana eti (söküm) deney materyali olarak kullanılmıştır. Et örnekleri analiz süresince periyodik olarak Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarına getirilmiş ve dondurulmadan kullanılmıştır. Et örnekleri kullanılmadan önce analize alınmış ve *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. içermediği tespit edilen örnekler çalışma kapsamında deney materyali olarak kullanılmıştır. Aseptik koşullar sağlanarak steril bıçak ile 1 cm kalınlığında, 25 gram ağırlığında olacak şekilde kesilen etler steril cam kavanozlara aktarılmıştır.

3.6 İnokülasyon Çalışmasında Kullanılan Patojen Mikroorganizmalar

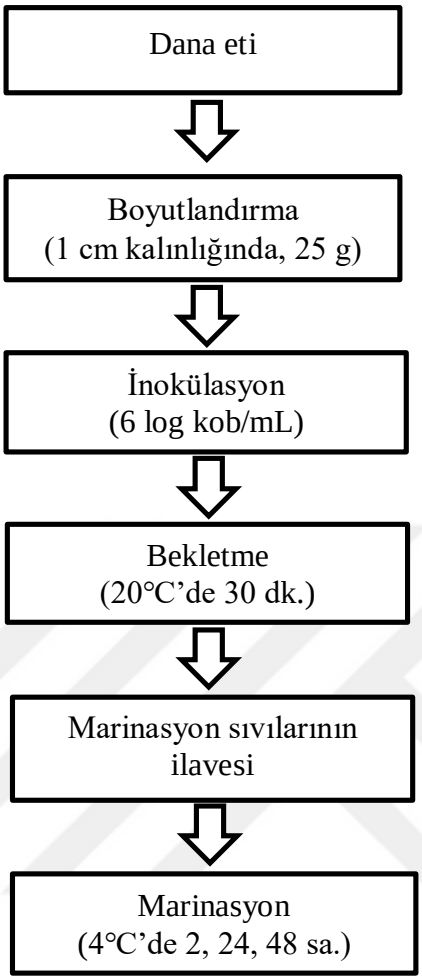
Çalışmada ete inoküle edilmek üzere her biri iki farklı suşun karışımından oluşan üç farklı patojen (*L. monocytogenes* ATCC 13932, *L. monocytogenes* ATCC 4959, *E. coli* O157: H7 ATCC 43888, *E. coli* O157: H7 ATCC 43895, *S.* Typhimurium ATCC 14028 ve *S.* Typhimurium ATCC 13311) kullanılmıştır. Kültürler Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı ve İzmir Gıda Kontrol Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. 50 ppm nalidiksik aside (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) direnç kazandırılmış kültürler, canlandırmak amacıyla 50 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Broth besiyerine (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) aktarılmış ve 37^{o}C'de 24 sa. inkübe edilmiştir. İnokülasyonda kullanılacak karışık kültürün eldesi amacıyla 50 ppm nalidiksik aside direnç kazandırılmış her bir patojene ait iki farklı suş eşit hacimde karıştırılarak 3000 rpm'de 15 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Oluşan peletler önce %0.85'lik steril salin çözeltisi ile iki kez yıkanmış, ardından 10 mL %0.85'lik steril salin çözeltisi ile süspanse edilmiştir (Cho et al., 2016). Tez kapsamında kullanılan *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium suşlarına ait izolasyon kaynakları çizelge 3.2'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan patojenler ve izolasyon kaynakları

Bakteriyel kültür	**İzolasyon kaynağı**
L. monocytogenes ATCC 13932	Menenjitli çocuğun omurilik sıvısı
L. monocytogenes ATCC 49594	İnsan orijinli klinik izolat
E. coli O157:H7 ATCC 43895	EHEC (Entero Hemorajik *E. coli*) salgına neden olan çiğ hamburger eti
E. coli O157:H7 ATCC 43888	İnsan dışkısı
S. Typhimurium ATCC 13311	İnsan dışkısı
S. Typhimurium ATCC 14028	Hayvan dokusu (4 haftalık tavuk)

3.7 Dana Etinin Patojen Mikroorganizmalar ile İnokülasyonu

Aseptik şartlarda yaklaşık 1 cm kalınlığında 25 g ağırlığında kesilen et örnekleri, 3.6 nolu bölümde açıklandığı şekilde hazırlanan sıvı kültürler (*L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium) ile yaklaşık 6 log seviyesinde inoküle edilmiştir. Bu doğrultuda sıvı kültürlerden alınan 0.1 mL inokülüm spot inokülasyon yöntemi kullanılarak et örneklerine inoküle edilmiştir. Bakteriyel kültürlerin et yüzeyine tutunmasını sağlamak amacıyla örnekler 20^{o}C'de 30 dk. bekletilmiş ve ardından marinasyon sıvıları ile muamele edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Dana etinin patojenler ile inokülasyonu ve depolanması

3.8 Patojen İnoküle Edilen Dana Eti Örneklerinin Marinasyonu

Dana eti örnekleri daldırma yöntemi kullanılarak 4 farklı marinasyon sıvısı (MS1-MS4) ile marine edilmiş, %25 koruk suyu ve %75 su içeren marinasyon sıvısı ise (MS5) kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Marinasyon sıvısı ilave edilen örnekler 4ºC'de 2, 24 ve 48 sa. boyunca bekletilmiştir. *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium ile inoküle edilen et örneklerinde marinasyon öncesi ve sonrasında patojen sayımları yapılmış, böylece marinasyon sıvılarının patojenler üzerine etkileri belirlenmiştir. Tüm denemeler 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.9 Analiz Yöntemleri

3.9.1 Fiziksel ve kimyasal analizler

3.9.1.1 pH tayini

Marinasyon sıvılarının pH değerleri, Nel Mod 821 marka pH metre kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.9.1.2 Toplam asitlik

Örneklerin toplam asitlik değerleri titrimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar marinasyon sıvıları için tartarik asit cinsinden, et örnekleri için laktik asit cinsinden, g/100 mL olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2007).

3.9.1.3 Toplam fenolik madde içeriği

Marinasyon sıvılarının toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 0.2 µm'lık filtreden geçirilmiş marinasyon sıvılarından alınan 1 mL örnek, 5 mL %10'luk Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich-BCBR8781V) ile balon jojenin içinde karıştırıldıktan sonra 3 dk. boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Ardından karışıma 10 mL doymuş Na_2CO_3 (75 g/L, Horasan Boya ve Kimya Sanayi, İstanbul, Türkiye) eklenmiş ve saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak 90 dk. karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra, örneklerin absorbansı çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Çalışmada standart çözelti olarak gallik asit (Merck-M842649) çözeltisi kullanılmıştır (Şekil 3.3). Elde edilen sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mgGAE/L) olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

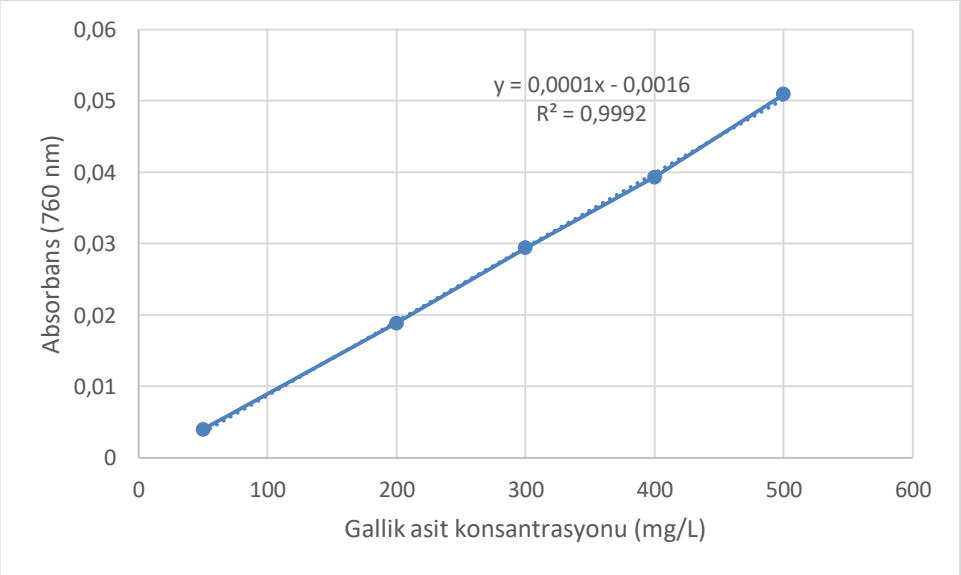
3.9.1.4 Antioksidan kapasite

Örneklerin antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla Singh et al. (2002) tarafından belirlenen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Filtreden (0.2 µm, Minisart Syringe Filter, Sartorius Stedim, Germany) geçirilmiş marinasyon

sıvılarından alınan 0.1 mL örneğin üzerine 5 mL metanolde çözündürülmüş 0.1 Mm DPPH (Sigma-Aldrich-STB68201) çözeltisi eklenip vorteks (Fisons, Whirlimixer, US, 4097-2) yardımıyla karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 15 dk. bekletilmiştir. Süre sonunda çift ışık yollu spektrofotometrede 517 nm dalga boyu ayarlanarak ölçüm yapılmıştır. Örnek yerine saf suyun eklendiği numune kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilen formül kullanılarak yüzde absorbans değeri olarak hesaplanmıştır.

$$Abs\ (\%) = (A_k - A_ö)x100/A_k$$

A_k: kontrol absorbans değeri, $A_ö$: örnek absorbans değeri



Şekil 3. 3 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği

3.9.1.5 Pişme kaybı

Et örneklerinin pişme öncesi ve sonrası ağırlıkları alınarak hesaplanmıştır (Rodrigues et al., 2016).

Pişme Kaybı (%) = [(pişme öncesi ağırlık - pişme sonrası ağırlık) / pişme öncesi ağırlık] x 100

3.9.1.6 Renk

Örneklerin renk özelliklerini (*L*, a*, b**) belirlemek amacıyla HunterLab Colorflex (CFLX 45–2 Model Colorimeter, HunterLab, Reston) renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Cihazın beyaz ve siyah standart levhaları ile kalibre edilmesinin ardından örneklerin dış yüzey ve iç kesitlerinde renk ölçümleri yapılmıştır. Her örnek için dört ölçüm yapılmış ve her örnek grubundan 3 örnek değerlendirilmiştir (Kramer and Twigg, 1984).

3.9.2 Mikrobiyolojik analizler

Marine edilmiş et örnekleri gıda homojenatı hazırlamak amacıyla steril stomacher poşetlerine alınmış, üzerine 225 mL %0.1 peptonlu su (PW, pH 6.8±0.2, Oxoid Ltd. Basignstoke, Hampshire, England, L37) ilave edilerek Stomacher'da 1 dk. boyunca karıştırılmıştır. Böylelikle mikrobiyolojik analizlerde kullanılmak üzere örneğin homojenize edilmiş 1. dilüsyonu elde edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan ekim yapmak amacıyla gıda homojenatı içinden alınan 1 mL sıvı 9 mL PW içine aktarılarak seyreltilmiştir. Ön zenginleştirme yapılması gereken analizlerde örnekler aseptik koşullar altında ön zenginleştirme besiyerlerine aktarılmış ve uygun koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

3.9.2.1 *L. monocytogenes* aranması

25 g örnek ve 0.5 mL LMX Supplementi 225 mL ön zenginleştirme sıvısına aktarılarak 37°C'de 26-30 sa. inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, 250 mL inokülüm alınmış, Vidas LMX stribine (BioMerieux, Ref. 30123) aktarılmış ve ısınması amacıyla Vidas Heat & Go (BioMerieux)'da 5 dk. tutulmuştur. Strip 10 dk. boyunca 20°C'de soğumaya bırakılmasının ardından mini VİDAS (BioMerieux) cihazına yerleştirilmiştir. 80 dk. sonunda testin sonucu alınmıştır (ISO 11290-1, 2017).

3.9.2.2 *E. coli* O157:H7 aranması

Ön zenginleştirme yapmak amacıyla 25 g örneğin üzerine 225 mL tamponlanmış peptonlu su eklenmiş, hazırlanan gıda homojenatı 41.5°C'de 16-24 sa. inkübasyona bırakılmıştır. Ardından 0.5 mL inokülüm Vidas ECPT stribine (BioMerieux, Ref. 30122) aktarılmış ve Vidas Heat & Go (BioMerieux) cihazında 5 dk. ısıtılmıştır. Daha sonra 10 dk. boyunca soğutulan strip, VİDAS (BioMerieux) cihazına tanıtılıp yerleştirilmiş ve 50 dk. sonunda analiz sonucu alınmıştır.

3.9.2.3 *Salmonella* spp. aranması

Ön zenginleştirme yapmak amacıyla 25 g örneğin üzerine 225 mL tamponlanmış peptonlu su ve *Salmonella* Supplementi (BioMerieux, Ref. 412498) eklenmiş, hazırlanan gıda homojenatı 41.5°C' de 18-24 sa. inkübasyona bırakılmıştır. Ardından homojenattan alınan 0.5 mL inokülüm Vidas Up *Salmonella* stripine (SPT, BioMerieux, Ref. 30707) aktarılmış ve ısıtılması amacıyla Vidas Heat & Go (BioMerieux) cihazında 5 dk. bekletilmiştir. Isıtma işleminin ardından 10 dk. boyunca soğumaya bırakılan strip, mini VİDAS cihazına (BioMerieux) tanıtılmasının ardından cihaza yerleştirilmiştir. Testin sonucu 48 dk. sonunda alınmıştır (ISO 6579-1 2017).

3.9.2.4 *L. monocytogenes* sayımı

Et örneklerine inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısını belirlemek amacıyla 50 ppm nalidiksik asit içeren Palcam Agar (PALCAM, pH 7.2±0.2, Oxoid, CM0877) besiyerine yayma plak yöntemi kullanılarak uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 30°C'de 48 sa. inkübasyona bırakılmıştır (Rhoades et al., 2013).

3.9.2.5 *E. coli* O157:H7 sayımı

Et örneklerine inoküle edilen *E. coli* O157:H7 sayısını belirlemek amacıyla 50 ppm nalidiksik asit içeren Sorbitol MacConkey Agar (SMAC, pH 7.1±0.2,

Oxoid, CM0813) besiyerine yayma plak yöntemi kullanılarak uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37ºC'de 24 sa. inkübasyona bırakılmıştır (Cho et al., 2016).

3.9.2.6 *S.* Typhimurium sayımı

Et örneklerine inoküle edilen *S.* Typhimurium sayısını belirlemek amacıyla 50 ppm nalidiksik asit içeren Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD, pH 7.4±0.2, Oxoid, CM0469) besiyerine yayma plak yöntemi kullanılarak uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37ºC'de 24 sa. inkübe edilmiştir (Rhoades et al., 2013).

3.9.2.7 Antimikrobiyal aktivite testi

Marinasyon sıvılarının *B. cereus* No 8, *B. subtilis* ATCC 6037, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* ATCC 49594, *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S.* Typhimurium ATCC 13311, *S.* Typhimurium ATCC 14028 ve *S. aureus* 6538P kültürlerine karşı antimikrobiyal aktivitesi, Deng et al. (2014) tarafından yapılan disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan bakteriyel kültürler Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Gliserol stok kültürler aktivasyon amacıyla Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid, CM0129) besiyerine aktarılmış ve 37ºC'de 24 sa. inkübe edilmiştir. Kültürlerin yoğunluğu Mc Farland standart bulanıklık derecesine göre 0.5 olacak şekilde DEN-1 Mc Farland Densitometer (Grantbio) cihazında ayarlandıktan sonra analizlerde kullanılmıştır.

Yoğunluğu ayarlanan kültürler yayma plak yöntemi kullanılarak Mueller Hinton Agar'a (MHA, pH 7.3±0.2, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) yayılmış, inokülümün besiyeri tarafından emilmesi amacıyla 20 dk. bekletilmiştir. Marinasyon sıvıları 0.2 µm'lık filtreden (Minisart Syringe Filter, Cellulose Asetate, Sartorious Stedim Biotech) geçirilmiş, ardından 6 mm çapındaki steril boş disklere

(Oxoid) 20 µL olacak şekilde emdirilmiştir. Marinasyon sıvıları emdirilen diskler eşit aralıklarla petrilere yerleştirilmiştir. Ekim yapılan petriler 37ºC'de 24 sa. inkübe edildikten sonra oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

3.9.3 Duyusal değerlendirme

Marine edilen et örneklerinin doku, renk, lezzet, görünüm ve genel kabul özellikleri hedonik test ile belirlenmiştir. Paneller Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği bölümü Duyusal Test Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğrenci ve personellerinden oluşan 10 kişilik gruba değerlendirilecek ürünler ile ilgili olarak bir eğitim verilmiştir. Örnekler ızgara tavada 10 dk. pişirildikten sonra panelistlere sunulmuş ve panelistler örnekleri 9 puanlık hedonik test uygulayarak değerlendirmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2005).

3.9.4 İstatistiksel değerlendirme

Tüm denemeler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları SPSS 22 paket programı kullanılarak tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma metotları ile $P \leq 0.05$ önem seviyesinde değerlendirilmiştir (SPSS, 2004).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu tez çalışmasında et marinasyonunda kullanılmak üzere koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik katkılı olacak şekilde farklı formülasyonlara sahip marinasyon sıvıları yapılan ön denemelerden elde edilen veriler doğrultusunda hazırlanmıştır.

A. ÖN DENEMELER

Tez çalışması kapsamında yapılan ön denemelerde, koruk suyu (%50) ve soğan suyu (%50) içeren karışımlara 3 farklı probiyotik (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*) eklenmiş, hazırlanan marinasyon sıvıları marinasyon koşulları olarak belirlenen şartlarda (4°C'de 2, 24 ve 48 sa.) bekletilmiş ve probiyotiklerin marinasyon süresince canlılıkları incelenmiştir. Soğan suyu yerine su içeren örnekler kontrol grubu olarak kullanılmıştır (Çizelge 4.1). Probiyotik kültürler, yağsız süt tozu besiyeri (%10 h/h) kullanılarak, 37°C'de 30 dk. ve 18 sa. olmak üzere iki farklı sürede aktive edilmiştir.

Çizelge 4.1 Probiyotik canlılığını belirlemek üzere hazırlanan marinasyon sıvılarına ait formülasyonlar

Marinasyon içeriği (mL)	**AO**	**AW**	**CO**	**CW**	**RO**	**RW**	**KO**	**KW**
Koruk suyu	5	5	5	5	5	5	5	5
Soğan suyu	5		5		5		5	
Su		5		5		5		5
L. acidophilus LA5	0.2	0.2						
L. casei 01			0.2	0.2				
L. rhamnosus HN001					0.2	0.2		

*AO: koruk suyu + soğan suyu + *L. acidophilus* LA5; AW: koruk suyu + su + *L. acidophilus* LA5; CO: koruk suyu + soğan suyu + *L. casei 01*; CW; koruk suyu + su + *L. casei 01*; RO: koruk suyu + soğan suyu + *L. rhamnosus* HN001; RW: koruk suyu + su + *L. rhamnosus* HN001; KO: koruk suyu + soğan suyu; KW: koruk suyu + su.

Ön denemelerden elde edilen veriler doğrultusunda, probiyotik kültürlerin başlangıç sayılarının 7.30 log kob/mL ile 8.92 log kob/mL arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Probiyotik kültürlerin marinasyon sıvılarında canlı kalma durumları

***Örnekler**	**Probiyotik sayıları (log kob/mL)**			
	0 sa.	**2 sa.**	**24 sa.**	**48 sa.**
AW (30 dk)	$7.81\pm0.17^{e,A}$	$7.75\pm0.00^{d,A}$	$6.70\pm0.01^{f,B}$	$6.11\pm0.21^{f,C}$
AO (30 dk)	$8.15\pm0.01^{cd,C}$	$8.27\pm0.01^{c,A}$	$8.19\pm0.01^{b,B}$	$7.54\pm0.01^{c,C}$
AW (18 sa.)	$8.26\pm0.00^{c,A}$	$7.82\pm0.31^{d,A}$	$7.20\pm0.02^{e,B}$	$6.29\pm0.30^{f,C}$
AO (18 sa.)	$8.23\pm0.00^{c,B}$	$8.31\pm0.42^{c,A}$	$8.03\pm0.02^{c,C}$	$7.98\pm0.15^{b,C}$
CW (30 dk)	$7.48\pm0.00^{f,A}$	$6.70\pm0.00^{e,B}$	$4.35\pm0.04^{h,C}$	$4.32\pm0.11^{g,C}$
CO (30 dk)	$7.30\pm0.01^{g,A}$	$6.78\pm0.00^{e,C}$	$5.23\pm0.00^{g,D}$	$7.20\pm0.00^{de,B}$
CW (18 sa.)	$8.90\pm0.00^{a,A}$	$8.15\pm0.05^{c,B}$	$7.65\pm0.00^{d,C}$	$7.38\pm0.01^{cd,D}$
CO (18 sa.)	$8.43\pm0.07^{b,C}$	$9.12\pm0.05^{a,A}$	$8.61\pm0.00^{a,B}$	$8.48\pm0.01^{a,C}$
RW (30 dk)	$8.08\pm0.01^{d,A}$	$7.81\pm0.01^{d,A}$	$4.31\pm0.19^{h,B}$	$2.65\pm0.28^{h,C}$
RO (30 dk)	$8.46\pm0.00^{b,B}$	$8.77\pm0.03^{b,A}$	$8.24\pm0.01^{b,C}$	$8.08\pm0.01^{b,D}$
RW (18 sa.)	$8.51\pm0.02^{b,A}$	$7.72\pm0.19^{d,B}$	$7.75\pm0.00^{d,B}$	$7.04\pm0.00^{e,C}$
RO (18 sa.)	$8.92\pm0.00^{a,A}$	$8.34\pm0.09^{c,C}$	$8.63\pm0.00^{a,B}$	$7.45\pm0.00^{cd,D}$

Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d, e, f, g, h) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C, D) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

*AW: *L. acidophilus* LA5 + koruk suyu + su; AO: *L. acidophilus* LA5 + koruk suyu + soğan suyu; CW: *L. casei* 01 + koruk suyu + su; CO: *L. casei* 01 + koruk suyu + su; RW: *L. rhamnosus* HN001 + koruk suyu + su; RO: *L. rhamnosus* HN001 +koruk suyu + soğan suyu.

48 sa. sonunda soğan suyu içeren marinasyon sıvılarında probiyotiklerin sayısının 7.20 log kob/mL ile 8.48 log kob/mL arasında değiştiği, tüm işlem sürelerinde probiyotiklerin sayısının, soğan suyu içeren marinasyon sıvılarında su içeren kontrol sıvılarına kıyasla daha yüksek olduğu ($P<0.05$) ve bu nedenle soğan

suyunun probiyotik gelişimini desteklediği tespit edilmiştir. Ayrıca, 18 sa. aktive edildikten sonra marinasyon sıvılarına inoküle edilen probiyotiklerin, 30 dk. aktive edildikten sonra inoküle edilen probiyotiklere kıyasla, işlem süreleri boyunca canlılıklarını daha fazla sürdürdüğü saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, çalışma kapsamında kullanılacak probiyotiklerin 37°C'de 18 sa. aktive edilmesine karar verilmiştir.

Yine ön denemeler kapsamında, koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik içeren formülasyonların *S.* Typhimurium'un inaktivasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı oranlarda koruk suyu, soğan suyu ve/veya su içeren marinasyon sıvılarına probiyotik kültür (ayrı ayrı veya karışık kültür olarak, 10^9 kob/mL), *S.* Typhimurium (8.3 log kob/mL) ve Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) ilave edilmiştir (Çizelge 4.3). Karışımlar toplam 10 mL olacak şekilde hazırlanmış ve marinasyon koşullarını temsilen 4°C'de depolanarak 0 ve 24. saatlerde analize alınmıştır.

Çizelge 4.3 *S.* Typhimurium inaktivasyonunda kullanılmak üzere hazırlanan marinasyon sıvılarına ait formülasyonlar (mL)

***Marinasyon sıvıları**	**KS**	**SS**	**Su**	**TSB**	***S.* Typhimurium**	***L. acidophilus***	***L. casei***	***L. rhamnosus***	****Karışık Kültür**
MS1a	4.70	4.70	-	0.3	0.1	0.2	-	-	-
MS1b	2.35	2.35	4.70	0.3	0.1	0.2	-	-	-
MS2a	4.70	4.70	-	0.3	0.1	-	0.2	-	-
MS2b	2.35	2.35	4.70	0.3	0.1	-	0.2	-	-
MS3a	4.70	4.70	-	0.3	0.1	-	-	0.2	-
MS3b	2.35	2.35	4.70	0.3	0.1	-	-	0.2	-
MS4a	4.70	4.70	-	0.3	0.1	-	-	-	0.2
MS4b	2.35	2.35	4.70	0.3	0.1	-	-	-	0.2
MS5a	4.70	4.70	-	0.3	0.1	-	-	-	-
MS5b	2.35	2.35	4.70	0.3	0.1	-	-	-	-

%50 ve %25 oranında koruk suyu içerecek şekilde hazırlanan marinasyon sıvılarına yaklaşık olarak 8.3 log kob/mL olacak şekilde inoküle edilen *S.* Typhimurium sayısının, inokülasyonun hemen ardından (0. sa.) 2.652-4.601 log kob/mL aralığında değişen seviyelerde azaldığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4). %50 oranında koruk suyu içeren örneklerde 24 saatin sonunda *S.* Typhimurium sayısının tespit limitinin altında olduğu belirlenmiştir. 24 sa. depolamanın ardından %25 oranında koruk suyu içeren marinasyon sıvılarındaki *S.* Typhimurium sayısının ise 5.785 log kob/mL-6.124 log kob/mL arasında değişen düzeylerde azaldığı gözlemlenmiştir. Yapılan ön denemeler sonucunda koruk suyu, soğan suyu ve probiyotiklerin birlikte kullanımının, *S.* Typhimurium üzerine yüksek seviyede inhibitif etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, %50 oranında koruk suyu ile hazırlanan formülasyonların, *S.* Typhimurium sayısını tespit limitinin altına düşürmesi nedeniyle, tez çalışması kapsamında kullanılan marinasyon sıvısının etkisini tam olarak belirleyebilmek adına, %25 koruk suyu, %25 soğan suyu, %50 su ve probiyotik (*L. acidophilus, L. casei* ve *L. rhamnosus*) içeren marinasyon sıvılarının kullanımı uygun görülmüştür.

Çizelge 4.4 Farklı formülasyona sahip marinasyon sıvılarına inoküle edilen S. Typhimurium'un sayıları (log kob/mL)

Marinasyon Formülasyonları	0. Saat	24. saat
MS1a	5.648	<2
MS1b	5.021	2.352
MS2a	4.903	<2
MS2b	4.845	2.176
MS3a	4.699	<2
MS3b	4.699	2.267
MS4a	4.301	<2
MS4b	4.000	2.332
MS5a	3.699	<2
MS5b	4.602	2.515

B. ANA DENEMELER

Marinasyon sıvıların öncelikle pH, asitlik, toplam fenolik madde, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite özellikleri incelenmiştir. Marinasyon işlemin et örneklerine inoküle edilen patojen mikroorganizmalar üzerine etkisini belirlemek üzere patojenlerle (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.* Typhimurium) ayrı ayrı inoküle edilen dana eti örnekleri marinasyon sıvıları ile farklı sürelerde marine edilmiştir. Proje kapsamında et örneklerine uygulanan marinasyon işleminin ürün kalitesi üzerine etkilerini belirlemek üzere, dana eti örnekleri herhangi bir inokülasyon işlemine tabi tutulmadan doğrudan marinasyon sıvıları ile marine edilmiş, işlem etkisi fiziksel ve kimyasal (pH, toplam asitlik, renk, pişme kaybı) ve duyusal analizlerle belirlenmiştir.

Marinasyon sıvıları 5 farklı formülasyonda üretilmiş olup, MS kısaltmasıyla tanımlanmıştır. Formülasyonların içeriği şu şekilde hazırlanmıştır;

MS1: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. acidophilus* (10^9 kob/mL) + 25 mL su

MS2: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. casei* (10^9 kob/mL) + 25 mL su

MS3: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. rhamnosus* (10^9 kob/mL) + 25 mL su

MS4: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL karışık kültür (*L. acidophilus* + *L. casei* + *L. acidophilus*) (10^9 kob/mL) + 25 mL su

MS5: 12.5 mL koruk suyu + 37.5 mL su

Çalışmada MS5 kodlu marinasyon sıvısı kontrol grubu olarak kullanmıştır. Et örnekleri marinasyon sıvılarında 4^oC'de 2, 24 ve 48 sa. bekletilmiş ve işlem gören bu örnekler EMS1, EMS2, EMS3, EMS4 ve EMS5 olarak kodlanmıştır.

4.1 Marinasyon Sıvılarının pH ve Asitlik Değerleri

Tez çalışmasında hazırlanan beş farklı marinasyon sıvısının pH değerleri, 4^{o}C'de 0, 2, 24 ve 48 sa. bekletildikten sonra belirlenmiş Tez çalışmasında hazırlanan beş farklı marinasyon sıvısının pH değerleri, 4^{o}C'de 0, 2, 24 ve 48 sa. bekletildikten sonra belirlenmiş ve bekleme sürelerinin sonunda pH değerlerinin sırasıyla 3.57-3.68, 3.66-3.86, 3.70-3.86 ve 3.64-3.85 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Marinasyon sıvılarına probiyotik ve soğan suyu ilavesinin (MS1, MS2, MS3 ve MS4) pH değerlerini arttırdığı ve MS5 örneğinin tüm zaman dilimlerinde diğer marinasyon sıvılarına kıyasla daha düşük pH değerine sahip olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Bununla birlikte, 4^{o}C'de 48 sa. bekletilen örneklerdeki pH değerlerinin başlangıç pH değerlerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).

Ozturk and Sengun (2019) tarafından yapılan bir çalışmada %50 ve %25 oranında koruk suyu içeren marinasyon sıvılarının pH değerleri sırasıyla 3.21 ve 3.33 olarak belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada zeytinyağı ve/veya tuz ilave edilerek hazırlanan beş farklı koruk suyu örneğinin pH değerlerinin 2.35-2.60 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Karabiyikli and Öncül, 2016).

Çizelge 4.5 Marinasyon sıvılarının 48 saatlik bekleme sürecinde pH değerleri

Örnekler	**0. Saat**	**2. Saat**	**24. Saat**	**48. Saat**
MS1	$3.68\pm0.01^{b,B}$	$3.86\pm0.04^{b,A}$	$3.86\pm0.01^{b,A}$	$3.85\pm0.04^{b,A}$
MS2	$3.66\pm0.00^{b,C}$	$3.80\pm0.01^{b,B}$	$3.81\pm0.00^{b,B}$	$3.85\pm0.02^{b,A}$
MS3	$3.67\pm0.02^{b,B}$	$3.79\pm0.02^{b,A}$	$3.85\pm0.06^{b,A}$	$3.79\pm0.04^{b,A}$
MS4	$3.67\pm0.01^{b,B}$	$3.82\pm0.02^{b,A}$	$3.84\pm0.03^{b,A}$	$3.82\pm0.02^{b,A}$
MS5	$3.57\pm0.01^{a,B}$	$3.66\pm0.06^{a,AB}$	$3.70\pm0.02^{a,A}$	$3.64\pm0.02^{a,AB}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B, C) depolama periyotları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

Marinasyon sıvılarının 48 saatlik bekletme süresince toplam asitlik değerlerinin 0.701-0.917 g tartarik asit/100 mL aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6). En yüksek toplam asitlik değerine sahip marinasyon sıvısının 4°C'de 48 sa. bekletilen MS3 örneği (0.917 g tartarik asit/100 mL) olduğu tespit edilmiştir. 48 saatlik bekletmenin sonunda probiyotik ve soğan suyu içeren marinasyon sıvılarının (MS1, MS2, MS3 ve MS4) toplam asitlik değerlerinin başlangıç değerlerine kıyasla artış gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, sadece koruk suyu ve su içeren marinasyon sıvısının (MS5) toplam asitlik değerinin zamana bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Ozturk and Sengun (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, koruk suyu kullanılarak katkılı (tuz ve kekik) veya katkısız olacak şekilde hazırlanan marinasyon sıvılarının toplam asitlik değerlerinin 0.957-1.989 g tartarik asit/100 mL aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiş ve bu tez çalışmasında kullanılan kontrol grubu (MS5) ile aynı formülasyona sahip marinasyon sıvısının toplam asitlik değerinin 1.003 g tartarik asit/100 mL olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç ile tez çalışması kapsamında elde edilen sonuç arasındaki farkın, her iki çalışmada kullanılan koruğun kimyasal bileşimindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada koruk suyunun toplam asitlik değeri 3.46 g tartarik asit/100 mL olarak belirlenmiştir (Sengun et al., 2019). de Matos et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise koruk sularının toplam asitlik değerlerinin 0.551-1.405 g tartarik asit/100 mL aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6 Marinasyon sıvılarının 48 saatlik bekletme sürecinde toplam asitlik değerleri (g/100 mL)

Örnekler	0. saat	2. saat	24. saat	48. saat
MS1	$0.862\pm0.007^{ab,B}$	$0.867\pm0.000^{a,B}$	$0.882\pm0.021^{a,AB}$	$0.902\pm0.007^{a,A}$
MS2	$0.852\pm0.007^{b,BC}$	$0.867\pm0.000^{a,B}$	$0.837\pm0.014^{b,B}$	$0.897\pm0.014^{a,A}$
MS3	$0.857\pm0.000^{ab,B}$	$0.872\pm0.021^{a,B}$	$0.857\pm0.000^{ab,B}$	$0.917\pm0.014^{a,A}$
MS4	$0.867\pm0.000^{a,B}$	$0.857\pm0.000^{a,B}$	$0.852\pm0.007^{ab,B}$	$0.902\pm0.021^{a,A}$
MS5	$0.796\pm0.000^{c,A}$	$0.791\pm0.007^{b,A}$	$0.761\pm0.007^{c,B}$	$0.701\pm0.007^{b,C}$

*Aynı sütunda yer alan küçük harfler (a, b, c) marinasyon sıvıları arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan büyük harfler (A, B, C), depolama periyotları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

4.2 Marinasyon Sıvılarının Fenolik Madde İçeriği

Tez kapsamında üretimi gerçekleştirilen marinasyon sıvılarının 4°C'de 0, 2, 24 ve 48 sa. bekletme sonunda toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar gallik asit cinsinden mg/L olarak verilmiştir.

Çalışma kapsamında hazırlanan marinasyon sıvılarının farklı sürelerde bekletilmesi durumunda fenolik madde miktarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda marinasyon sıvılarının toplam fenolik madde içeriklerinin 331.0 ile 513.8 mg GAE/L arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Koruk suyu ve su içeren marinasyon sıvısına (MS5) probiyotik ve soğan suyu ilavesinin (MS1, MS2, MS3 ve MS4) fenolik madde içeriğini azalttığı ve MS5 örneğinin tüm zaman dilimlerinde diğer marinasyon sıvılarına kıyasla daha fazla toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar, 48 sa. sonunda MS1 ve MS5 örneklerinde toplam fenolik madde miktarının başlangıca kıyasla arttığını ($P<0.05$), diğer tüm marinasyon sıvılarında ise süreye bağlı anlamlı bir değişim olmadığını ortaya koymuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.7 Marinasyon sıvılarının 48 saat'lik bekletme sürecinde toplam fenolik madde içerikleri (mg GAE/L)

MS	0 saat	2 saat	24 saat	48 saat
MS1	337.10±5.90^{b,B}	351.00±19.90^{b,AB}	346.50±5.80^{c,AB}	372.10±11.70^{b,A}
MS2	346.00±5.40^{b,A}	375.60±16.00^{b,A}	351.90±3.50^{c,A}	337.80±50.80^{b,A}
MS3	331.00±29.30^{b,A}	349.70±40.80^{b,A}	380.80±4.60^{b,A}	345.90±3.50^{b,A}
MS4	376.20±18.90^{b,A}	372.00±2.00^{b,A}	378.40±9.30^{b,A}	365.40±14.40^{b,A}
MS5	445.50±25.20^{a,B}	490.50±23.90^{a,AB}	466.50±18.20^{a,AB}	513.80±4.00^{a,A}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

Yapılan bir çalışmada, Yediveren cinsinden elde edilen koruk suyunun toplam fenolik madde içeriği 996.5 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (Ozturk and Sengun, 2019). Güler ve Candemir (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Cabernet Sauvignon, Emir, Kabarcık, Narince, Sultana, Muskat, Öküzgözü ve Boğazkere türlerinden elde edilen sekiz farklı koruk suyunun toplam fenolik madde içeriğinin 152.11 mg GAE/L ile 317.71 mg GAE/L aralığında olduğu belirlenmiştir. Sharma et al. (2015) tarafından yapılan çalışmada, altı çeşit soğanın toplam fenolik madde içeriği incelenmiş ve bu değerin 2389.3 mg GAE/g ile 6631.3 mg GAE/g aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer bir çalışma Marinova et al. (2005) tarafından dört farklı soğan türü üzerinde yapılmış ve örneklerde toplam fenolik madde içeriğinin 365.0 mg GAE/L ile 1600.0 mg GAE/L aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bununla birlikte, bu tez çalışması kapsamında ilk kez üretimi gerçekleştirilen koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik içerikli marinasyon sıvılarının toplam fenolik madde içerikleri ilk kez incelenmiştir.

4.3 Marinasyon Sıvılarının Antioksidan Aktivitesi

Bu tez çalışmasında üretimi gerçekleştirilen marinasyon sıvılarının 4°C'de 0, 2, 24 ve 48 sa. sonunda antioksidan aktivite değerleri DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmada farklı formülasyonlarla üretilen marinasyon sıvılarının DPPH radikalini %71.10 ile %93.37 arasında inhibe ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Tüm depolama periyotları boyunca en yüksek antioksidan aktiviteye sahip marinasyon sıvısının MS5 olduğu tespit edilmiş (P<0.05). Elde edilen bu sonuç, örneklerin toplam fenolik madde içerikleri ile de paralellik göstermektedir. Tek tip probiyotik içeren marinasyon sıvıları (MS1, MS2, MS3) incelendiğinde, 2 sa. bekletilen örnekler dışında, tüm işlem sürelerinde en yüksek antioksidan aktiviteye sahip marinasyon sıvısının MS3 olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Bununla birlikte, 48 sa. sonunda MS3 ile MS1 örneklerinin antioksidan aktiviteleri arasında anlamlı bir farklılık kalmadığı tespit edilmiştir (P>0.05).

Çizelge 4.8 Marinasyon sıvılarının 48 saat'lik bekletme sürecinde antioksidan aktivite değerleri (%)

MS	0 saat	2 saat	24 saat	48 saat
MS1	$77.78\pm3.60^{c,A}$	$74.48\pm1.78^{b,AB}$	$71.10\pm0.45^{c,B}$	$75.13\pm1.06^{bc,AB}$
MS2	$79.41\pm2.29^{c,A}$	$77.55\pm5.11^{b,A}$	$82.18\pm0.39^{b,A}$	$72.31\pm3.14^{c,B}$
MS3	$86.01\pm0.36^{b,A}$	$73.07\pm0.08^{b,AB}$	$83.41\pm5.28^{ab,A}$	$76.64\pm4.17^{bc,AB}$
MS4	$82.15\pm0.56^{bc,A}$	$76.91\pm3.19^{b,A}$	$78.20\pm5.30^{bc,A}$	$79.82\pm0.90^{b,A}$
MS5	$93.37\pm0.03^{a,A}$	$87.69\pm2.31^{a,B}$	$91.90\pm0.47^{a,A}$	$92.15\pm1.07^{a,A}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

Güler ve Candemir (2017) tarafından yapılan bir çalışmada koruk suyunun antioksidan aktivite değerinin 1.36 ile 4.04 mg DPPH/mL aralığında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada farklı koruk suyu ve soslarının antioksidan aktivite değerlerinin 0.035-0.860 µmol TE/mL aralığında olduğu belirlenmiştir (Öncül and Karabiyikli, 2015).

Nuutila et al. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, soğanın iç kısım ve kabuğunda antioksidan aktivite değerinin sırasıyla 67 mg/mL ve 4.7 mg/mL olduğu tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada soğanın DPPH yöntemi kullanılarak belirlenen antioksidan aktivite değeri 43.24 µg/mL olarak belirlenmiştir (Ouyang et al., 2018).

Öztürk (2018) tarafından yapılan bir çalışmada Yediveren cinsi koruk suyunun DPPH radikalini %90.7 inhibe ettiği belirtilmiş, bu sonuç ile tez çalışmasında kullanılan kontrol grubunun (MS5: %25 koruk suyu + %75 su) antioksidan aktivite değerinin benzer olduğu, buna ek olarak koruk suyuna probiyotik ve soğan suyu ilavesinin antioksidan aktivite değerini azalttığı tespit edilmiştir.

4.4 Marinasyon Sıvılarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Marinasyon sıvılarının 11 farklı mikroorganizmaya (*B. cereus* No 8, *B. subtilis* ATCC 6037, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* ATCC 49594, *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S.* Typhimurium ATCC 13311, *S.* Typhimurium ATCC 14028 ve *S. aureus* 6538P) karşı antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Marinasyon sıvılarının oluşturduğu zonlar bekletme süresi ve test kültürüne bağlı olarak 6.5 mm ile 10 mm arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.9). Çalışmada kullanılan marinasyon sıvılarının *E. coli* ATCC 1103 ve *L. monocytogenes* ATCC 13932 dışındaki bakterilere karşı oluşturduğu zonlar arasında istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır (P>0.05). 48 sa. bekletilen MS2 örneğinin *L. monocytogenes* ATCC 13932'e karşı oluşturduğu zon (10mm), çalışmada elde edilen en yüksek inhibisyon zonu olarak belirlenmiştir.

Ozturk (2018) tarafından yapılan bir çalışmada mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak koruk suyunun 12 farklı mikroorganizmaya (*S.* Typhimurium ATCC 13311, *S.* Typhimurium ATCC 14028, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *L. monocytogenes* ATCC 49594, *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S. aureus* 6538P, *B. cereus* No 8, *B. subtilis* ATCC 6037, *E. coli* ATCC 1103, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *P. acidilactici* ATCC 8042) karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiş, MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerinin test edilen mikroorganizmaya bağlı olarak %12.5 ile %3.125 aralığında değiştiği bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, koruk suyu örneklerinin *E. coli, S.* Typhimurium, *B. cereus, L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı MİK değerlerinin %25-%50 aralığında olduğu belirtilmiştir (Öncül and Karabiyikli, 2016).

Ye et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada soğandan elde edilen uçucu yağların *E. coli, B. subtilis, S. aureus, Rhodotorula glutinis, Saccaromyces cerevisiae, Candida tropicalis, Aspergillus niger, Monascus purpureus* ve *Aspergillus terreus* üzerine antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiş, oluşan zonların 4.1 mm ile 19.3 mm arasında değiştiği, bununla birlikte test edilen soğan uçucu yağına karşı en dirençli mikroorganizmanın *A. niger*, en duyarlı mikroorganizmanın ise *B. subtilis* olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada, probiyotik mikroorganizmalardan (*L. acidophilus* EMCC 1324, *L. helveticus* EMCC 1654, *L. plantarum* ss. *Plantarum* EMCC 1027, *L. rhamnosus* EMCC 1105, *B. longum* EMCC 1547 ve *B. bifidum* EMCC 1334) elde edilen süpernatantların farklı *E. coli* suşlarına (IC2, IC3, IC4, WW1 ve WW2) karşı antimikrobiyal etkisi agar spot yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda oluşan inhibisyon zonlarının 11.70 mm ile 23.10 mm arasında olduğu belirtilmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak *L. fermentum* SK5 suşundan elde edilen süpernatantın gastropatojenik *E. coli* ve vajinal patojenik *Gardnerella vaginalis* üzerine antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, oluşan inhibisyon zonlarının sırasıyla 13.75 mm ile 9.75 mm olduğu belirtilmiştir (Kaewnopparat et al., 2013).

Sonuç olarak, literatürde koruk suyu, soğan uçucu yağı ve farklı probiyotiklerden elde edilen süpernatantların antimikrobiyal etkilerinin belirlendiği çalışmalar yer almaktadır. Buna karşın, bu tez çalışması kapsamında antimikrobiyal etkisi incelenen koruk suyu, soğan suyu ve farklı probiyotikleri içerecek şekilde hazırlanan marinasyon sıvılarının daha önceki çalışmalar kapsamında incelenmiştir.

Çizelge 4.9 Marinasyon sıvılarının antimikrobiyal aktivite sonuçları (mm)

MS		*B. cereus* No 8	*B. subtilis* ATCC 6037	*E. coli* O157:H7 ATCC 43895	*E. coli* ATCC 1103	*E. coli* O157:H7 ATCC 43888	*Enterococcus faecalis ATCC 29212*	*L.monocytogenes* ATCC 49594	*L.monocytogenes* ATCC 13932	*S.*Typhimurium ATCC 13311	*S.*Typhimurium ATCC 14028	*S. aureus* 6538P
MS1	0. saat	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$7.0\pm1.4^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$8.5\pm0.7^{a,A,x}$
	2. saat	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,A,x}$
	24. saat	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$
	48. saat	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$7.0\pm0.0^{a,A,xy}$	$7.0\pm0.0^{a,A,xy}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$8.0\pm1.4^{a,A,x}$	$7.5\pm0.7^{bc,A,xy}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$7.0\pm0^{a,A,xy}$
MS2	0.saat	$7.5\pm2.1^{a,A,y}$	$7.0\pm1.4^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,B,z}$	$7.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$8.5\pm0.7^{a,A,x}$
	2. saat	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,AB,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.0.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,AB,x}$
	24. saat	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,AB,x}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$6.5\pm0.7^{a,A,xy}$	$6.0\pm0.0^{a,B,y}$
	48. saat	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$7.5\pm0.7^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$6.0\pm0.0^{a,A,y}$	$7.5\pm2.1^{a,A,y}$	$10.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$6.5\pm0.7^{a,A,y}$	$7.0\pm0.0^{a,AB,y}$
MS3	0. saat	$8.0\pm2.8^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{ab,A,x}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,B,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,A,x}$
	2. saat	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,B,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,A,x}$
	24. saat	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$7.0\pm1.4^{a,A,x}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$7.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.5\pm0.7^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,B,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$	$6.0\pm0.0^{a,A,x}$
	48. saat	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$7\pm0.0^{a,A,yz}$	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$	$6.0\pm0.0^{a,A,z}$	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$	$8.5\pm0.7^{a,A,x}$	$8.0\pm0.0^{b,A,xy}$	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$	$6.5\pm0.7^{a,A,z}$

Çizelge 4.9'un devamı

MS4	0. saat	7.5±2.1^{a,A,x}	7.5±2.1^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,B,x}	7.0±0.0^{a,A,x}	7.0±1.4^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	7.5±2.1^{a,A,x}
	2. saat	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,AB,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.^{0a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	7.0±2.1^{a,A,x}
	24. saat	6.5±0.7^{a,A,xy}	6.0±0.0^{a,A,y}	7.5±0.7^{a,A,x}	7.0±0.0^{a,A,xy}	6.0±0.^{0a,A,y}	6.5±0.7^{a,A,xy}	6.0±0.0^{a,A,y}	6.5±0.7^{a,A,xy}	6.5±0.7^{a,A,xy}	6.0±0.0^{a,A,y}	6.5±0.7^{a,A,xy}
	48. saat	6.0±0.0^{a,A,y}	6.0±0.0^{a,A,y}	7.0±0.0^{a,AB,x}	7.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,y}	6.0±0.0^{a,A,y}	7.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{d,A,y}	6.5±0.7^{a,A,xy}	6.5±0.0^{a,A,xy}	7.0±0.0^{a,A,x}
MS5	0. saat	8.0±2.8^{a,A,x}	7.5±2.1^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{b,A,x}	7.0±1.4^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	7.0±1.4^{a,A,x}
	2. saat	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	7.0±1.4^{a,A,x}
	24. saat	6.5±0.7^{a,A,x}	7.5±2.1^{a,A,x}	7.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}
	48. saat	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}	6.5±0.7^{cd,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.0±0.0^{a,A,x}	6.5±0.7^{a,A,x}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a,b,c,d) farklı örneklerin aynı bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05). Aynı sütünda yer alan büyük harfler (A,B) aynı örneğin faklı sürelerde marinasyon boyunca test kültürleri üzerine oluşturduğu inhibisyon zonları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05). Aynı satırda yer alan küçük harfler (x,y,z) aynı örneklerin test kültürleri üzerine etkinlikleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

4.5. Marinasyon Sıvılarının Dana Etine İnoküle Edilen Patojenlere Karşı İnaktivasyon Etkisi

Çalışmada, farklı formülasyonlarda üretilen marinasyon sıvılarının ete inoküle edilen *L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 *ve S.* Typhimurium üzerine inhibisyon etkileri her bir patojen için ayrı ayrı incelenmiştir. Marinasyon sıvılarının test kültürleri üzerine inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla marine edilmiş et örneklerinde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes ve S.* Typhimurium sayımları yapılmış, bu amaçla 50 ppm nalidiksik asit içeren SMAC, PALCAM ve XLD besiyerleri kullanılmıştır.

E. coli O157:H7, dana etine yüksek dozda (yaklaşık 6 log) inoküle edilmiş ve hücrelerin ete tutunmasını sağlamak amacıyla 20℃'de 30 dk. bekletilen et örneklerinde *E. coli* O157:H7 başlangıç yükü 6.133±0.057 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ardından, etler farklı marinasyon sıvıları kullanılarak 4℃'de 2, 24 ve 48 sa. süreyle marine edilmiştir. Marinasyon süresince et örneklerine inoküle edilen *E. coli* O157:H7 sayısının kullanılan marinasyon sıvısı ve marinasyon süresine bağlı olarak 0.676 ile 2.719 logaritmik birim arasında azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4℃'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *E. coli* O157:H7 sayıları

Et Örnekleri	***E. coli* O157:H7 sayısı (log kob/g)**		
	2 saat	**24 saat**	**48 saat**
EMS1	$5.361\pm0.115^{a,A}$	$5.047\pm0.517^{a,A}$	$4.660\pm0.572^{a,A}$
EMS2	$5.393\pm0.043^{a,A}$	$4.852\pm0.641^{a,A}$	$3.414\pm0.129^{b,B}$
EMS3	$5.457\pm0.163^{a,A}$	$5.045\pm0.426^{a,A}$	$3.871\pm0.064^{ab,B}$
EMS4	$5.157\pm0.375^{a,A}$	$4.623\pm0.592^{a,A}$	$3.896\pm0.117^{ab,A}$
EMS5	$5.161\pm0.421^{a,A}$	$4.355\pm0.533^{a,A}$	$4.716\pm0.402^{a,A}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

2 ve 24 sa. boyunca marine edilen et örneklerinin *E. coli* O157:H7 sayılarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). *E. coli* O157:H7 sayısında en fazla azalmanın (2.719 log kob/g), 48 sa. boyunca MS2 sıvısı ile işlem gören et örneğinde olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ayrıca MS5 (kontrol sıvısı) ile marine edilen et örnekleri dışındaki diğer sıvılar ile marine edilen et örneklerinde, 48 sa. sonunda *E. coli* O157:H7 sayılarında istatistiksel açından farklılık yaratacak şekilde azalma olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çalışmanın bir sonraki aşamasında, et örnekleri *L. monocytogenes* ile inoküle edilmiş (yaklaşık 6 log), 20°C'de 30 dk. bekletilmesinin ardından et örneklerinde başlangıç *L. monocytogenes* yükü 6.048±0.204 log kob/g olarak belirlenmiştir. İnoküle edilen etler farklı marinasyon sıvıları kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 sa. süreyle marine edilmiş ve işlem sırasında *L. monocytogenes* sayısında 2.127 ile 3.34 logaritmik birim aralığında değişen seviyelerde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *L. monocytogenes* sayıları

Et Örnekleri	***L. monocytogenes* sayısı (log kob/g)**		
	2 saat	**24 saat**	**48 saat**
EMS1	$3.921\pm0.289^{a,A}$	$3.423\pm0.035^{a,AB}$	$3.262\pm0.142^{ab,B}$
EMS2	$3.365\pm1.504^{a,A}$	$3.398\pm0.563^{a,A}$	$2.933\pm0.124^{ab,A}$
EMS3	$3.405\pm0.791^{a,A}$	$3.205\pm0.780^{a,A}$	$2.968\pm0.132^{ab,A}$
EMS4	$3.293\pm1.154^{a,A}$	$3.326\pm0.828^{a,A}$	$3.591\pm0.066^{a,A}$
EMS5	$3.483\pm1.108^{a,A}$	$3.354\pm0.720^{a,A}$	$2.708\pm0.575^{b,A}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

E. coli O157:H7 ile yapılan denemeden farklı olarak et örneklerine inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında anlamlı farklılığı sağlayan marinasyon uygulamasının, 24 ve 48 sa. süre ile MS1 ile işlem gören etlerde meydana geldiği ($P<0.05$), bununla birlikte en fazla azalmanın (3.34 log kob/g azalma), 48 sa. boyunca MS5 sıvısı ile işlem görmüş et örneğinde olduğu ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Tüm işlem sürelerinde, MS1 sıvısı dışındaki diğer sıvılar ile marine edilen et örneklerinin *L. monocytogenes* sayısında istatistiksel açıdan bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Çalışmada son olarak *S.* Typhimurium ile inoküle edilen (yaklaşık 6 log) et örnekleri, 20°C'de 30 dk. bekletme işleminin ardından marinasyon işlemine tabi tutulmuştur. Başlangıç *S.* Typhimurium sayısı 5.254±0.273 olarak belirlenen et örnekleri, işlem süresince kullanılan marinasyon sıvısı ve bekletme süresine bağlı olarak 0.781 ile 1.987 log kob/g aralığında değişen seviyelerde azalma göstermiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 Farklı formülasyonlar kullanılarak 4°C'de 2, 24 ve 48 saat süreyle marine edilen et örneklerinde *S.* Typhimurium sayıları

Et Örnekleri	***Salmonella* Typhimurium sayısı (log kob/g)**		
	2 saat	**24 saat**	**48 saat**
EMS1	$4.473\pm0.144^{a,A}$	$3.657\pm0.078^{a,B}$	$3.506\pm0.274^{a,B}$
EMS2	$4.261\pm0.257^{a,A}$	$3.745\pm0.303^{a,AB}$	$3.267\pm0.000^{a,B}$
EMS3	$4.267\pm0.106^{a,A}$	$4.084\pm0.095^{a,A}$	$3.908\pm0.214^{a,A}$
EMS4	$4.293\pm0.030^{a,A}$	$3.533\pm0.343^{a,AB}$	$3.374\pm0.345^{a,B}$
EMS5	$4.312\pm0.134^{a,A}$	$3.914\pm0.143^{a,A}$	$3.613\pm0.411^{a,A}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) bekletme süreleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

S. Typhimurium ile inoküle edilen ve ardından marinasyon işlemine tabi tutulan et örneklerinde, hedef mikroorganizma sayısında en fazla azalmayı (1.987 log kob/g), 48 saat'lik MS2 uygulaması sağlamıştır. Bununla birlikte 48 sa.

boyunca MS3 ve MS5 dışında diğer marinasyon sıvıları ile marine edilen etlerde *S.* Typhimurium sayısında meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çalışma kapsamında kullanılan marinasyon sıvılarının, farklı patojenler üzerine etkilerinin incelendiği bu bölümde elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, kullanılan marinasyon sıvılarına karşı en duyarlı patojenin *L. monocytogenes* olduğu görülmektedir. Bununla birlikte marinasyon sıvılarına karşı en dirençli mikroorganizmanın *S.* Typhimurium olduğu tespit edilmiştir. Hazırlanan marinasyon sıvılarının test kültürleri üzerine antimikrobiyal etkileri karşılaştırıldığında, en etkili marinasyon uygulamasının MS2 olduğu belirlenmiştir.

Literatürde koruk suyunun marinasyon sıvısı olarak kullanıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ozturk ve Sengun (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda koruk suyu (%25 ve %50) ve kurutulmuş koruk posası (%1 ve%2) ile katkılı (%1 tuz ve %0.1 kekik) ve katkısız olacak şekilde hazırlanan marinasyon sıvılarının dana etine 6 log düzeyinde inoküle edilen patojenlere (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S.* Typhimurium) karşı inaktivasyon etkisi incelenmiş, et örnekleri 4℃ de 2, 24 ve 48 sa. süresince marine edilmiştir. Yapılan bu çalışmada, marinasyon sıvılarının, yüksek dozda inoküle edilen dana etlerinde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.* Typhimurium sayılarını sırasıyla 0.264–3.37 log kob/mL, 0.023–2.781 log kob/mL ile 0.109–2.648 log kob/mL arasında azalttığı tespit edilmiştir. Çalışmada, bu tez çalışması kapsamında kullanılan kontrol grubu (MS5: %25 koruk suyu + %75 su) ile aynı formülasyona sahip marinasyon sıvısının *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.* Typhimurium sayılarını sırasıyla 1.462-1.899 log kob/mL, 1.822-2.457 log kob/mL, 1.053-1.753 log kob/mL aralığında inhibe ettiği belirtilmiştir. Araştırmacıların elde ettiği bu sonuç, bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, %25 koruk suyu içeren marinasyon sıvılarına probiyotik ve soğan suyu ilavesi ile bu sıvıların test patojenlerine (*L. monocytogenes, E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium) karşı inhibisyon etkisinin arttırıldığı tespit edilmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda koruk suyu, zeytinyağı ve/veya su ilaveli marinasyon sıvılarının, kanatlı etine inoküle edilen *S.*

Typhimurium üzerine inaktivasyon etkisi incelenmiştir. Bu amaçla et örnekleri 1, 2 ve 18 sa. boyunca 4℃'de marinasyon işlemine tabi tutulmuştur. Marinasyon uygulaması sonunda hedef patojen sayısında, kullanılan marinasyon sıvısı ve uygulama süresine bağlı olarak, 0.113-3.476 log kob/mL azalma olduğu ve en etkili marinasyon sıvısının %100 koruk suyu içeren sıvı olduğu belirlenmiştir (Sengun et al., 2019).

Literatürde probiyotiklerin kırmızı ette çeşitli patojenler üzerine inaktivasyon etkisinin incelendiği bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada probiyotik özelliğe sahip *Enterococcus faecalis* CECT7121 kültürünün (10^4 kob/mL) kırmızı ete 10^3 kob/g seviyesinde inoküle edilen *E. coli* O157:H7, *S. aureus, C. perfringens* ve *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon etkisi incelenmiştir. Patojenler, ete probiyotik kültür ile aynı anda, 24 sa. önce ve 24 sa. sonra olmak üzere üç farklı zamanda inoküle edilerek 5℃'de depolanmış ve örnekler 0, 24, 48 ve 72. saatler sonunda analize alınmıştır. Eş zamanlı inoküle edilen örneklerde *E. coli* O157:H7 sayısı 72 sa. sonunda tespit seviyesinin altına düşmüştür. *C. perfringens* ve *S. aureus* sayısı 48 sa. sonunda, *L. monocytogenes* sayısı ise 24 saatlik depolamanın ardından, probiyotiğin inokülasyon süresinden etkilenmeyerek, tespit limitinin altına düşmüştür (Sparo et al., 2013). Yapılan bir diğer çalışmada köftelere ilave edilen *L. fermentum, L. plantarum* ve *L. sakei*'nin 24 saatlik fermentasyonu sonucu *Aspergillus parasiticus, S. aureus, E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium üzerine inaktivasyon etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda fermente köftelerden alınan örneklerin test edilen mikroorganizmalara karşı 15.7-28.5 mm arasında zon oluşturduğu belirtilmiştir (Hashemi et al., 2018). Trza et al. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, sosis starter kültürü olarak probiyotik bir mikroorganizma olan *L. casei* kullanımının, sosislerde mikrobiyolojik kalite üzerine etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda sosisler öncelikle 20℃'de 21 gün fermentasyona bırakılmış, ardından 6 ay boyunca 4℃'de depolanmıştır. Depolama süresinin sonunda elde sonuçlara bağlı olarak, probiyotik kültür ile fermente edilen sosislerde *S. aureus* ve *E. coli* sayılarının, probiyotik içermeyen fermente sosislere kıyasla sırasıyla 0.32 ile 1.48 log kob/g daha az olduğu belirlenmiştir.

Chung ve Yousef (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek basınç (500 MPa- 1 dk.) ve *L. casei* kültüründen elde edilen hücre ekstraktının (20 ve 100 CEAU/g), sosise inoküle edilen (10^5 log/g) *L. monocytogenes* üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. 1 dk. boyunca 500 MPa yüksek basınç ve 100 CEAU/g *L. casei* hücre kültürü ile muamele sonucunda sosise inoküle edilen *L. monocytogenes*'in tamamen inhibe edildiği belirlenmiştir.

Marinasyon işleminin patojenler üzerine inaktivasyon etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada, soya sosu ve kırmızı şarap ile kekik ilaveli veya ilavesiz olmak üzere hazırlanan marinasyon sıvıları sığır etine inoküle edilen *S. enterica* ve *L. monocytogenes* üzerine inaktivasyon etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada 5°C'de 18 sa. marinasyon uygulamasının *L. monocytogenes* ve *S. enterica* sayılarını sırasıyla 3.4 ve 2.1 log kob/cm^2 düzeyinde azalttığı tespit edilmiştir (Rhoades et al., 2013).

4.6 Marine Edilen Etlerin pH ve Asitlik Değerleri

4°C'de 48 sa. boyunca marine edilen pişmemiş ve pişmiş et örneklerinin pH değerlerinin sırasıyla 4.35-4.54 ve 4.43-4.61 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). Elde edilen veriler, MS4 formülasyonu ile marine edilen pişmiş et örneğinin en yüksek pH değerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. MS1 dışında diğer marinasyon sıvıları ile marine edilen etlerde pişirilmeden önce ve sonra pH değerleri arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Probiyotik ve soğan suyu içeren marinasyon sıvıları ile marine edilen et örnekleri kendi aralarında kıyaslandığında, *L. acidophilus* içeren marinasyon sıvısı ile marine edilen etin (EM1) hem pişme öncesi hem de pişme sonrası en düşük pH değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, *L. acidophilus*'un, diğer probiyotiklere kıyasla daha yüksek asit üretebilme kabiliyeti ile ilişkilendirilebilir.

Sengun et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, koruk suyu ile hazırlanan marinasyon sıvıları ile marine edilen etlerin pH değerlerinin 3.82 ve 4.81 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, limon suyu, nar suyu, elma sirkesi ve kombinasyonlarını içeren beş farklı sos ile marine edilen tavuk göğüs etlerinin pH değerlerinin 4.0-5.3 aralığında değiştiği

bildirilmiştir (Lytou et al., 2017). Moon et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, sadece teriyaki sosu veya doğal bileşiklerle (kekik ve timol) karıştırılarak marine edilen sığır etlerinde pH değerinin 5.0-5.2 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan tüm çalışmalar, marine edilen etlerin pH değerlerindeki farklılığın, kullanılan marinasyon sıvılarının bileşiminden önemli ölçüde etkilendiğini göstermektedir.

Çizelge 4.13 Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve pişme sonrası pH değerleri

Et örnekleri	**pH değeri**	
	Pişme öncesi	**Pişme sonrası**
EMS1	$4.35\pm0.02^{a,A}$	$4.43\pm0.01^{a,B}$
EMS2	$4.38\pm0.02^{ab,A}$	$4.56\pm0.14^{a,A}$
EMS3	$4.50\pm0.11^{ab,A}$	$4.59\pm0.05^{a,A}$
EMS4	$4.47\pm0.07^{ab,A}$	$4.61\pm0.04^{a,A}$
EMS5	$4.54\pm0.05^{b,A}$	$4.51\pm0.13^{a,A}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) pişme öncesi ve sonrası arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

4°C'de 48 sa. marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve sonrası toplam asitlik değerlerinin 0.048 ve 0.091 g laktik asit/100 mL aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.14). Pişmemiş örnekler arasında en yüksek toplam asitlik değerine sahip örneğin MS2 formülasyonu ile marine edilen et örneği (0.079 g laktik asit/100 mL) olduğu belirlenmiştir. MS1 ve MS5 formülasyonları ile marine edilen etlerin pişme sonrası en yüksek toplam asitlik değerine sahip örnekler (0.091g laktik asit/100 mL) olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak marine edilen tüm örneklerdeki pişme sonrası toplam asitlik miktarı pişme öncesi toplam asitlik miktarına kıyasla artarken, sadece MS5 ile marine edilen et örneğinde pişme öncesi ve pişme sonrası istatistiksel bir farklılık saptanmıştır (P<0.05). Elde edilen sonuçlar, pişirme işleminin marine edilmiş et örneklerinde toplam asitlik miktarını arttırdığını ortaya koymuştur.

Ozturk and Sengun (2019) tarafından yapılan çalışmada, %25 koruk suyu içeren marinasyon sıvısı ile marine edilen pişmemiş dana etinin toplam asitlik değerinin 0.066 g laktik asit/100 mL olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.14 Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve pişme sonrası toplam asitlik değerleri

Et örnekleri	**Toplam Asitlik (g laktik asit/100mL)**	
	Pişme öncesi	**Pişme sonrası**
EMS1	$0.073\pm0.000^{a,A}$	$0.091\pm0.009^{a,A}$
EMS2	$0.079\pm0.009^{a,A}$	$0.085\pm0.000^{a,A}$
EMS3	$0.060\pm0.000^{ab,A}$	$0.079\pm0.009^{a,A}$
EMS4	$0.060\pm0.017^{ab,A}$	$0.079\pm0.009^{a,A}$
EMS5	$0.048\pm0.000^{b,A}$	$0.091\pm0.009^{a,B}$

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan farklı büyük harfler (A, B) pişme öncesi ve sonrası arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$).

4.7 Marine Edilen Et Örneklerinin Pişme Kaybı Değerleri

4℃'de 48 sa. boyunca marine edilen etlerin pişme kaybı değerlerinin %43.20 - %47.36 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. En düşük pişme kaybı, MS4 formülasyonu ile marine edilen et örneğinde tespit edilmiş, ancak bu örnek ile diğer örnekler arasında istatistiksel açıdan farklılık olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Sengun et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada, farklı oranlarda koruk suyu içeren marinasyon sıvıları ile marine edilmiş tavuk etlerinde pişme kaybının %39.8-%47.4 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, farklı oranlarda sitrik ve laktik asit ile (%0.5, %1.0 ve %1.5) 72 sa. marine edilen karkas etlerinin pişme kaybı değerlerinin %18.06-%43.88 aralığında olduğu tespit edilmiştir (Aktaş et al., 2003)

Çizelge 4. 15 Marine edilmiş et örneklerinde pişme kaybı değerleri

Et örnekleri	**Pişme kaybı (%)**
EMS1	45.17±2.21
EMS2	47.36±7.08
EMS3	46.00±2.11
EMS4	43.20±2.82
EMS5	44.70±2.63

4.8 Marine Edilen Et Örneklerinin Renk Özellikleri

Tez çalışmasında hazırlanan beş farklı marinasyon sıvısı ile 48 sa. boyunca marine edilen et örneklerinin renk özelliklerini belirlemek amacıyla pişme öncesi ve sonrası L^* (karanlık-aydınlık), a^* (kırmızılık-yeşillik) ve b^* (sarılık-mavilik) değerleri tespit edilmiştir.

Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve sonrası L^* değerlerinin sırasıyla 40.46-47.76 ile 33.25-38.89 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.16). Pişme öncesi ve pişme sonrası en yüksek L^* değeri, probiyotik ve soğan suyu içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneklerinde gözlemlenmiştir. Ayrıca, marine edilen tüm örneklerin pişme sonrası L^* değerlerinin azaldığı, bu azalmanın sadece MS3 ile marine edilen et örnekleri arasında istatistiksel bir farklılık yarattığı tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.16 Marine edilen et örneklerinin *L** değerleri

Et örnekleri	*L** değeri	
	Pişme öncesi	**Pişme sonrası**
EMS1	42.47±3.82^{ab,A}	33.25±2.61^{a,A}
EMS2	40.46±2.42^{b,A}	34.32±2.78^{a,A}
EMS3	40.91±1.89^{b,A}	33.34±1.49^{a,B}
EMS4	42.05±2.45^{ab,A}	34.58±0.89^{a,A}
EMS5	47.76±1.48^{a,A}	38.89±6.49^{a,A}

*Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b) örnek çeşitlerinin *L** değerleri arasındaki istatistiksel farklılığı, aynı satırda yer alan büyük harfler (A, B) pişme öncesi ve sonrası *L** değerleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

Marine edilen et örneklerinde pişme öncesi ve pişme sonrası kırmızılık ve yeşilliği ifade eden *a** değerinin sırasıyla 3.10-5.44 ile 4.68-5.36 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.17). Bununla birlikte marine edilen et örnekleri arasında ve örneklerin pişme öncesi ve pişme sonrası *a** değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılık olmadığı belirlenmiştir (P>0.05).

Çizelge 4.17 Marine edilen et örneklerinin *a** değerleri

Et örnekleri	*a** değeri	
	Pişme öncesi	**Pişme sonrası**
EMS1	3.83±1.80	4.81±0.40
EMS2	3.10±0.26	4.90±0.60
EMS3	3.45±1.03	5.36±0.13
EMS4	3.35±1.48	4.68±0.04
EMS5	5.44±0.13	5.07±0.47

Marinasyon sıvıları ile marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve pişme sonrası *b** değerlerinin sırasıyla 11.72-13.09 ile 12.75-13.71 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Buna ek olarak pişme işleminin et

örneklerinin mavilik değerlerini arttırdığı, ancak bu artışın sadece EMS2 örneğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yarattığı belirlenmiştir (P<0.05).

Çizelge 4.18 Marine edilen et örneklerinin *b** değerleri

Et örnekleri	***b**** **değeri**	
	Pişme öncesi	**Pişme sonrası**
EMS1	13.09±1.12^{A}	13.48±0.06^{A}
EMS2	11.72±0.38^{B}	13.04±0.15^{A}
EMS3	12.20±0.69^{A}	12.75±0.52^{A}
EMS4	12.26±1.41^{A}	12.87±0.15^{A}
EMS5	12.94±0.22^{A}	13.71±0.56^{A}

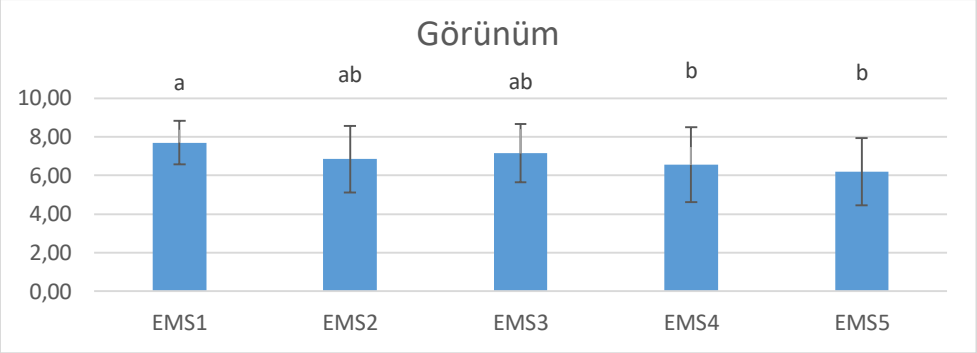
*Aynı satırda yer alan büyük harfler (A, B) örneklerin pişirme öncesi ve sonrası *b** değerleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05).

Zhuang and Bowker (2016) tarafından yapılan bir çalışmada %5 NaCl ve %3 sodyum tripolifosfat ile 4 ve 48 sa. boyunca marine edilen tavuk filetolarının *L**, *a** ve *b** değerlerinin sırasıyla 45.8-62.1, -0.47-1.17, 9.5-13.0 aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada farklı meyve ve sebze suları (kara havuç suyu, karadut suyu, kara üzüm suyu, nar suyu ve karışık meyve suyu) ile 24 ve 48 sa. marine edilen tavuk eti örneklerinin renk özellikleri incelenmiş ve *L**, *a** ve *b** değerlerinin pişme öncesi ve pişme sonrası sırasıyla 20.36-59.85, 6.72-22.73, -1.91-23.83 ile 21.80-61.93, 12.00-20.05, -0.90-32.14 aralığında değiştiği belirlenmiştir (Gök and Bor, 2016). Yapılan çalışmalar, marine edilen etlerin renk özelliklerinin başta marinasyon sıvısının bileşimine ve işlem süresine bağlı olmak üzere birçok faktöre bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir.

4.9 Marinasyonun Dana Etinin Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi

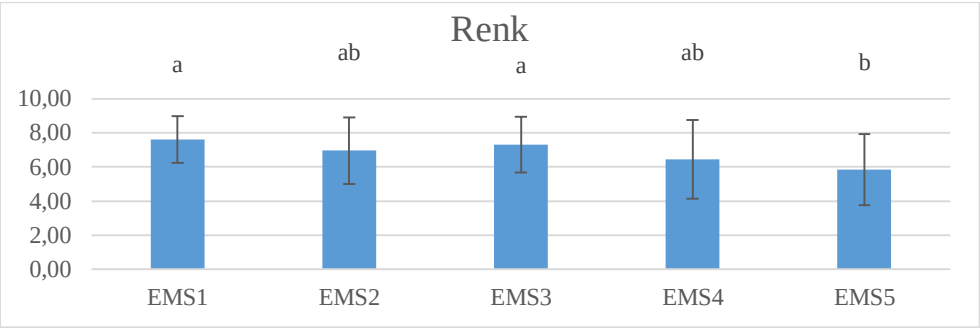
Çalışma kapsamında ete inoküle edilen patojenler üzerine en etkili olduğu belirlenen işlem süresince (48 sa.) marine edilen etler, duyusal olarak da değerlendirilmiştir. Marine edilen et örnekleri ızgara tavada 10 dk. boyunca pişirilip panelistlere sunulmuştur. Panelistler örnekleri görünüm, doku, renk, lezzet ve genel beğeni açısından değerlendirmiştir.

Görünüm açısından en fazla beğenilen örnek EMS1 olarak belirlenirken, en az beğenilen örnek probiyotik ve soğan suyu içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneği olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bununla birlikte EMS4 ve EMS5 örnekleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (P>0.05).



Şekil 4.1 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin görünüm özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları (Farklı küçük harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05)).

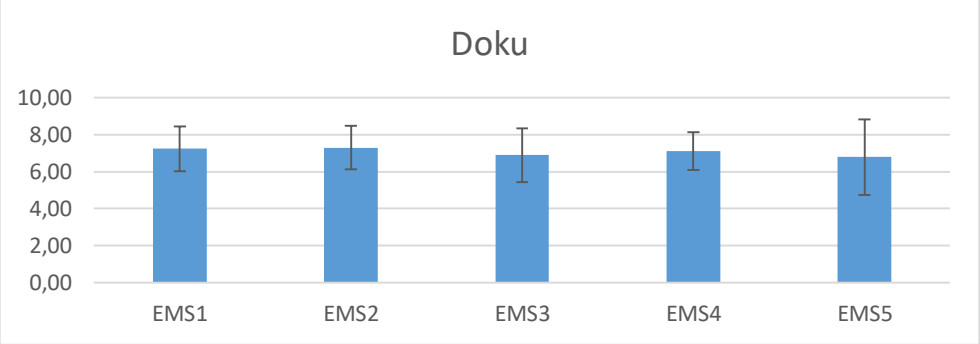
Renk özellikleri açısından değerlendirilen örneklerde en fazla beğenilen örnek görünüm özelliğinde olduğu gibi EMS1 olarak tespit edilmiş ve EMS3 örneği ile arasında istatistiksel açıdan bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (P>0.05) (Şekil 4.2). Bununla birlikte en az beğenilen örnek, probiyotik ve soğan suyu içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneği olarak tespit edilmiştir (P<0.05).



Şekil 4.2 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin renk özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları (Farklı küçük harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05)).

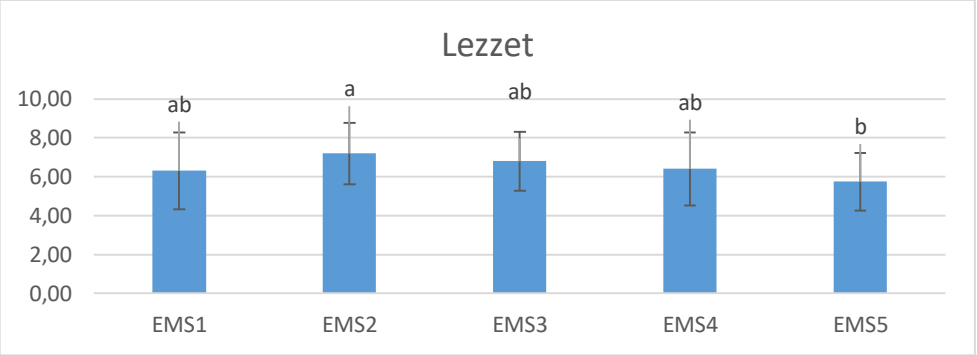
Marinasyon özellikle etlerin gevrekliğini arttırarak doku üzerine önemli etki sağlayan bir işlem olarak bilinmektedir. Çalışma kapsamında hazırlanan

formülasyonların et örneklerinde doku özellikleri üzerine etkisi incelenmiş ve MS2 ile marine edilen örneklerin daha yüksek puan almasına karşın örnekler arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05) (Şekil 4.3).



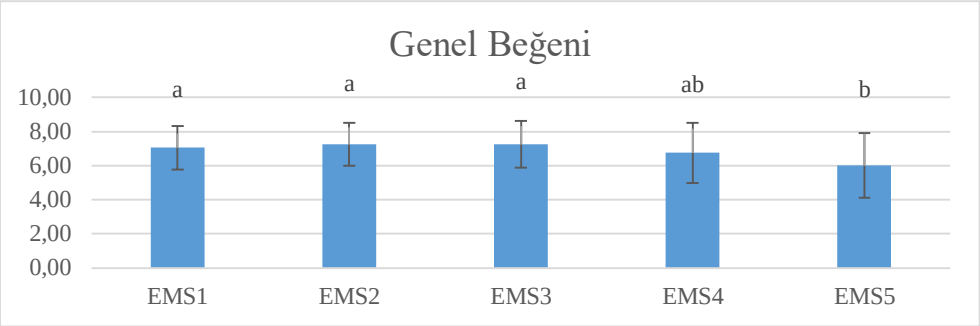
Şekil 4.3 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin doku özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları

Marine edilen örnekler lezzet özellikleri açısından incelendiğinde, en çok beğenilen örneğin EMS2 örneği, en az beğenilen örneğin ise probiyotik ve soğan suyu içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneği olduğu tespit edilmiştir (P<0.05) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin lezzet özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları (Farklı küçük harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05)).

Marine edilen et örnekleri genel beğeni açısından değerlendirildiğinde, en fazla beğenilen örnekler EMS2 ve EMS3 olarak belirlenmiştir (P>0.05) (Şekil 4.5). En az beğenilen örneğin ise, görünüm, renk, lezzet özelliklerinde olduğu gibi, yine probiyotik ve soğan suyu içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneği olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.5 Marinasyon sıvıları ile 48 saat marine edilen örneklerin genel beğeni özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları (Farklı küçük harfler (a, b) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05)).

Örnekler duyusal özellikler (görünüm, lezzet, doku, renk ve genel beğeni) açısından değerlendirildiğinde, doku özelliği dışında, diğer özellikler açısından en az beğenilen örneğin, probiyotik ve soğan suyu içermeyen marinasyon sıvısı (MS5) ile marine edilen et örneği olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, probiyotiklerin ürettiği metabolitler ile soğan suyunun karakteristik aromasının, et marinasyonunda kullanımının etin duyusal özelliklerine önemli katkı sağlayacak potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Ozturk and Sengun (2019) tarafından yapılan çalışmada, dana eti farklı oranlarda koruk suyu (%25 ve %50) ve koruk posası (%1 ve %2) içeren formülasyonlar ile marine edilmiş ve marinasyon amacıyla koruk ürünlerinin kullanımının etin görünüm, lezzet, renk, doku ve genel beğeni özelliklerini geliştirdiği bildirilmiştir. En fazla beğenilen et örneğinin %50 koruk suyu + %50 su + %1 tuz + %0.1 kekik içeren marinasyon sıvısı ile marine edilen et örneği olduğu belirtilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dana eti besleyici değeri sayesinde insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olmasına karşın, zengin besin içeriği ve yüksek su aktivitesi ile mikroorganizmaların gelişimini desteklemekte, bu nedenle mikrobiyolojik açıdan riskli gıdalar arasında yer almaktadır. Bu ürün grubuna sıklıkla kontamine olabilen *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella* gibi patojenlerin gıda kaynaklı hastalıklara yol açtığı bildirilmektedir (CDC, 2013). Bu nedenle, yürütülen tez çalışması kapsamında, marinasyon sıvısı olarak farklı probiyotik türleri (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* ve karışım) ve prebiyotik bir kaynak olarak soğan suyu ilavesi ile hazırlanan koruk suyu karışımlarının dana eti marinasyonunda kullanım potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın birinci aşamasında koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik içeren dört farklı marinasyon sıvısı ve kontrol amacıyla sadece koruk suyu içeren bir marinasyon sıvısı hazırlanmıştır. Bu karışımlara ait formülasyonlar; MS1: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. acidophilus* (10^9 kob/mL) + 25 mL su; MS2: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. casei* (10^9 kob/mL) + 25 mL su; MS3: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL *L. rhamnosus* (10^9 kob/mL) + 25 mL su; MS4: 12.5 mL koruk suyu + 11.5 mL soğan suyu + 1 mL karışık kültür (*L. acidophilus* + *L. casei* + *L. acidophilus*) (10^9 kob/mL) + 25 mL su; MS5: 12.5 mL koruk suyu + 37.5 mL su olarak tanımlanmıştır. Marinasyon sıvılarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH, toplam asitlik, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır. Marinasyon sıvılarının pH değerlerinin 3.57-3.86, toplam asitlik değerlerinin 0.701-0.917 g tartarik asit/100 mL, toplam fenolik madde içeriklerinin 331.0-513.8 mg gallik asit/L ve antioksidan aktivite değerlerinin %71.10-%93.37 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında hazırlanan beş farklı marinasyon sıvısının antimikrobiyal aktivitesi 11 farklı mikroorganizmaya (*B. cereus* No 8, *B. subtilis* ATCC 6037, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* ATCC 49594, *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S.* Typhimurium ATCC 13311, *S.* Typhimurium

ATCC 14028 ve *S. aureus* 6538P) karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Marinasyon sıvılarının mikroorganizmalar üzerine oluşturdukları inhibisyon zonlarının 6.5-10 mm aralığında değişim gösterdiği, en yüksek inhibisyon zonunu oluşturan marinasyon sıvısının (*L. monocytogenes* ATCC 13932 üzerine) 48 sa. bekletilen MS2 örneği olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın üçüncü aşamasında *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.* Typhimurium (≅6 log) ile ayrı ayrı inoküle edilen dana eti örnekleri, koruk suyu, soğan suyu ve probiyotik içeren marinasyon sıvıları ile 4℃'de 2, 24 ve 48 sa. süresince marine edilmiştir. Koruk suyu ve su içeren marinasyon sıvısı kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Uygulanan marinasyon işlemi sonucunda, ete inoküle edilen *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S.* Typhimurium sayılarının sırasıyla 0.676-2.719 log kob/g, 2.127-3.340 log kob/g ve 0.781-1.987 log kob/g aralığında değişen seviyelerde azaldığı belirlenmiştir. MS2 formülasyonu ile 48 sa. marinasyon işlemi, *E. coli* O157:H7 ve *S.* Typhimurium üzerine en etkili uygulama olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, MS5 ile 48 sa. marinasyon işlemi, *L. monocytogenes*'e karşı en etkili uygulama olduğu, buna karşın kullanılan tüm marinasyon sıvılarının *L. monocytogenes* üzerine etkisinin, diğer 2 patojene kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın dördüncü aşamasında, beş farklı marinasyon sıvısı ile marine edilen etlerin kalite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla patojen inokülasyonu yapılmayan et örneklerinin pH, toplam asitlik, renk, pişme kaybı ve duyusal özellikleri belirlenmiştir. Marine edilen et örneklerinin pişme öncesi ve sonrası pH değerlerinin sırasıyla 4.35-4.54 ile 4.43-4.61, toplam asitlik değerlerinin 0.048-0.079 ile 0.079-0.091 g laktik asit/100 mL, L^* değerlerinin 40.46-47.76 ile 33.25-39.89, a^* değerlerinin 3.10-5.44 ile 4.68-5.36 ve b^* değerlerinin 11.72-13.09 ile 12.75-13.71 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Marine edilen etlerin pişme kaybı değerlerinin marinasyon sıvısına bağlı olarak %43.20-%47.36 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, görünüm, doku, lezzet, renk ve genel beğeni açısından değerlendirilen et örnekleri arasında en çok beğenilen örneğin, MS2 ile marine edilen et örneği olduğu, en az beğenilen örneğin ise soğan suyu ve probiyotik içermeyen formülasyon (MS5) ile marine edilen et örneği olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında, koruk suyunun mevcut antimikrobiyal etkisine ek olarak, probiyotikler tarafından üretilecek antimikrobiyal etkili metabolitler sayesinde gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunun arttırılması ve daha güvenilir gıda eldesi, aynı zamanda fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ürün elde edilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, biyoaktif bileşenlerce zengin ve ülkemiz tarımsal zenginliklerinden biri olan koruk suyuna probiyotik ve prebiyotik ilavesi ile et marinasyonunda kullanılabilecek yeni bir marinasyon sıvısının geliştirilebileceği görülmüştür. Bununla birlikte, kullanılan marinasyon formülasyonlarının dana etinin duyusal özelliklerini önemli seviyede geliştirdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçların, gıda endüstrisine ve bilimsel literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Agcam, E., Akyıldız, A. and Evrendilek, G. A., 2014, Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation, *Food Chemistry*, 143, 354-361pp.

Agrawal R., 2005, Probiotics: An emerging food supplement with health benefits, *Food Biotechnology*, 19, 227-246pp.

Aiyegoro, O. A., 2014, Microbial Contamination, Microbial Contamination of Processed Meat, Elsevier Ltd., Pretoria, 285-287pp.

Akman, E., (2009). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, 48s.

Aktaş, N., Aksu, M. I. and Kaya, M., 2003, The effect of organic acid marination on tenderness, cooking loss and bound water content of beef, *Journal of Muscle Foods*, 14(3):181-194pp.

Alahakoon, A. U., Jayasena, D. D., Ramachandra, S. and Jo, C., 2015, Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date, *Trends in Food Science & Technology*, 45(1):37-49pp.

Alarcon-Rojo, A. D., Carrillo-Lopez, L. M., Reyes-Villagrana, R., Huerta-Jiménez, M. and Garcia-Galicia, I. A., 2019, Ultrasound and meat quality: A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 55:369-382pp.

Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C. and Shahidi, F., 2001, Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3):1410-1416pp.

Albayrak, B. ve Elmacı, Ö. L., 2017, Soğanda (*Allium cepa* L.) azot ve kükürt uygulamalarının verim ve bazı kalite kriterleri üzerine etkisinin belirlenmesi, *Bahçe*, 46(1):21-30ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M. and Abadias, M., 2011, Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Food Microbiology*, 28(1):59-66pp.

Alipour, M., Davoudi, P. and Davoudi, Z., 2012, Effects of unripe grape juice (verjuice) on plasma lipid profile, blood pressure, malondialdehyde and total antioxidant capacity in normal, hyperlipidemic and hyperlipidemic with hypertensive human volunteers, *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(45):5677-5683pp.

Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. and Falah, F., 2019, Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy, *Microbial Pathogenesis, 136*:103716pp.

Altuğ, T. ve Elmacı, Y., 2005, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Meta Basım Matbaacılık.

Alvarado, C. and McKee, S., 2007, Marination to Improve Functional Properties and Safety of Poultry Meat, *Journal of Applied Poultry Research*, 16:113-120pp.

Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. and Chevallier, I., 2006, Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1—Screening and characterization of the antibacterial compounds, *Food Control*, 17(6):454-461pp.

AOAC, 2007**,** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18th edition, AOAC International, USA, 326p.

Asif, A., Farooq, U., Akram, K., Hayat, Z., Shafi, A., Sarfraz, F., Sidhu, M.A.I., Rehman, H. and Aftab, S., 2016, Therapeutic potentials of bioactive compounds from mango fruit wastes, *Trends in Food Science & Technology*, 53:102–112pp,

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

AUN, M. V., Mafra, C., Philippi, J. C., Kalil, J., Agondi, R. C. and Motta, A. A., 2011, Aditivos em alimentos, *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, 34(5):177-186pp.

Aymerich, T., Picouet, P. A. and Monfort, J. M, 2008, Decontamination technologies for meat products, *Meat Science*, *78*(1-2):114-129pp.

Aziz, M. and Karboune, S., 2018, Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(3):486-511pp.

Babic, I., Amiot, M. J., Nguyen-The, C. and Aubert, S., 1993, Changes in phenolic content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage, *Journal of Food Science*, 58(2):351-356pp.

Bambace, M. F., Alvarez, M. V. and del Rosario Moreira, M., 2019, Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic lactobacilli incorporated into alginate edible coatings, *Food Research International*, 122:653-660pp.

Bardakci, H., Celep, E., Gözet, T., Kurt-Celep, I., Deniz, I., Şen-Utsukarci, B. and Akaydin, G., 2019, A comparative investigation on phenolic composition, antioxidant and antimicrobial potentials of *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Bentham extracts, *South African Journal of Botany*, 125:72-80.

Bashimov, G., 2017, Türkiye'de Üzüm Üretimi ve İhracat Performansı, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31(2):57-68.

Bender A., 1992, Meat and meat products in human nutrition in developing countries, *Food and Agriculture Organization of The United Nations*, Rome, 27-28pp.

Benhammou, N., Bekkara, F. A. and Panovska, T. K., 2009, Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*, *Comptes Rendus Chimie*, 12(12):1259-1266pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Borah, D., Gogoi, O., Adhikari, C. and Kakoti, B. B., 2016, Isolation and characterization of the new indigenous *Staphylococcus* sp. DBOCP06 as a probiotic bacterium from traditionally fermented fish and meat products of Assam state, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3):232-240pp.

Borch, E., Kant-Muermans, M. L. and Blixt, Y., 1996, Bacterial spoilage of meat and cured meat products, *International Journal of Food Microbiology*, 33(1):103-120.

Boudet, A. M., 2007, Evolution and current status of research in phenolic compounds, *Phytochemistry*, 68(22-24):2722-2735pp.

Bovo, B., Nadai, C., Vendramini, C., Junior, W. J. F. L., Carlot, M., Skelin, Giacomini A. and Corich, V., 2016, Aptitude of *Saccharomyces* yeasts to ferment unripe grapes harvested during cluster thinning for reducing alcohol content of wine, *International Journal of Food Microbiology*, 236:56-64pp.

Bukvički, D., Stojković, D., Soković, M., Vannini, L., Montanari, C., Pejin, B., Veljić M., Grujić S. and Marin, P. D., 2014, Satureja horvatii essential oil: In vitro antimicrobial and antiradical properties and in situ control of *Listeria monocytogenes* in pork meat, *Meat Science*, 96(3):1355-1360pp.

Burt, S., 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94(3):223-253pp..

Castellano, P., González, C., Carduza, F. and Vignolo, G., 2010, Protective action of *Lactobacillus curvatus* CRL705 on vacuum-packaged raw beef, Effect on sensory and structural characteristics, *Meat Science*, 85(3):394-401pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2013, "Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008", https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/3/11-1866_article.pdf (Erişim tarihi: 16 Kasım 2019)

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2015, "Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2015: Annual Report",https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/2015FoodBorneOutbreaks_508.pdf (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2016a, "*Escherichia coli* (*E. coli*), CS267331-A, https://www.cdc.gov/ecoli/pdfs/cdc-e.-coli-factsheet.pdf (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2016b, "Salmonella, CS267331-B", https://www.cdc.gov/salmonella/pdf/cdc-salmonella-factsheet.pdf (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

Cemeroğlu, B., 2013, Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 480s.

Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., 2004, Meyve ve Sebzelerin Bileşimi, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara, 1-188ss.

Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A. and Dicks, L. M., 2018, Functions and emerging applications of bacteriocins, *Current Opinion in Biotechnology*, 49:23-28pp.

Cho, T. J., Kim, N. H., Kim, S. A., Song, J. H. and Rhee, M. S., 2016, Survival of foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio parahaemolyticus*) in raw ready-to-eat crab marinated in soy sauce, *International Journal of Food Microbiology*, 238:50-55pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Chung, H. J. and Yousef, A. E., 2010, Synergistic effect of high pressure processing and *Lactobacillus casei* antimicrobial activity against pressure resistant *Listeria monocytogenes*, *New Biotechnology*, 27(4):403-408pp.

Cintas, L. M., Casaus, M. P., Herranz, C., Nes, I. F. and Hernández, P. E., 2001, Bacteriocins of lactic acid bacteria, *Food Science and Technology International*, 7(4):281-305pp.

Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Zeković, Z., Mašković, P., Đurović, S., Zengin, G., Delerue-Matos, C., Lozano-Sánchez, J. and Jakišić A., 2017, Chemical and biological insights on aronia stems extracts obtained by different extraction techniques: From wastes to functional products, J Supercrit Fluids, 128: 173-181pp.

Daeschel, M. A., 1989, Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives, *Food Technology*, 43(1):164-167pp.

Dastmalchi, K., Wang, I. and Stark, R. E., 2016, Potato wound-healing tissues: A rich source of natural antioxidant molecules with potential for food preservation, *Food Chemistry*, 210:473-480pp.

Dave, D. and Ghaly, A. E., 2011, Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4):486-510.

Davidson, P.M., Sofos J.N. and Branen A.L., 2005, Antimicrobials in Food, 3rd Edn., CRC Press, Boca Raton, FL. pp: 12-17, 29, 68, 116,151, 460-469. ISBN: 0-8247-4037-8.

De Castro, M. L., Jimenez-Carmona, M. M. and Fernandez-Perez, V., 1999, Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 18(11):708-716pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

de Matos, A. D., Marangon, M., Magli, M., Cianciabella, M., Predieri, S., Curioni, A. and Vincenzi, S., 2019, Sensory characterization of cucumbers pickled with verjuice as novel acidifying agent, *Food Chemistry*, 286:78-86pp.

de Oliveira Junior, A. A., de Araújo Couto, H. G. S., Barbosa, A. A. T., Carnelossi, M. A. G. and de Moura, T. R., 2015, Stability, antimicrobial activity, and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices, *International Journal of Food Microbiology*, 211:38-43pp.

de Souza Cândido, E., Sousa, D. A., Viana, J. C., de Oliveira-Júnior, N. G., Miranda, V. and Franco, O. L., 2014, The use of versatile plant antimicrobial peptides in agribusiness and human health, *Peptides*, 55:65-78pp.

Defoirdt, T., Halet, D., Sorgeloos, P., Bossier, P. and Verstraete, W., 2006, Short-chain fatty acids protect gnotobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*, *Aquaculture*, 261(2):804-808pp.

Demir, H., Süfer, Ö. ve Sezer, S., 2017, Soğan dilimlerinin kurutulması esnasında renk değişimine etki eden faktörlerin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi, *Gıda*, 42(6):731-742ss.

Dini, I., Tenore, G. C. and Dini, A., 2008, Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. Var. *tropeana* (red onion) seeds, *Food Chemistry*, 107(2):613-621pp.

do Vale, J. P. C., de Freitas Ribeiro, L. H., de Vasconcelos, M. A., Sá-Firmino, N. C., Pereira, A. L., do Nascimento, Rodrigues M. F. D., Silva P. T. D., Sousa K. C., Silva R. B. D., Nascimento Neto, L. G. D., Saker-Sampaio S., Bandeira P. N., Santos H. S., Souza E. B. and Teixeira E. H., 2019, Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of Vitex gardneriana schauer leaves's essential oil, *Microbial Pathogenesis*, 135:103608p.

Dogan, M. ve Ozpinar, H., 2017.Investigation of Probiotic Features of Bacteria Isolated from Some Food Product, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 23:555-562pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Dorman, H. J. D. and Deans, S. G., 2000, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88(2):308-316pp.

E**dwards, R. A., Dainty, R. H. and Hibbard, C. M.,** 1985, Putrescine and cadaverine formation in vacuum packed beef, *Journal of Applied Bacteriology*, 58(1):13-19pp.

El-Kholy, A. M., El-Shinawy, S. H., Meshref, A. M. S. and Korany, A. M., 2014, Microbiological Quality of Domiati Cheese and the Influence of Probiotics on the Behavior of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in Domiati Cheese, *Journal of Food Safety*, 34(4):396-406pp.

Ergezer, H. ve Gökçe, R., 2004, The Use of Marination Technique in Poultry Meat Processin, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Billimleri Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 10:227-233ss.

Esengül, K. I. R. ve Yünlü, S., 2016, Soğan (*Allium cepa*) ve sarımsaktaki (*Allium sativum*) bazı fenolik bileşiklerin HPLC yöntemiyle tayin edilmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(3):566-574ss.

Espinosa-Martos, I., Rico, E. and Ruperez, P., 2006, Note. Low molecular weight carbohydrates in foods usually consumed in Spain, *Food Science and Technology Internationa*l, 12(2):171-175pp.

Esra Güneş, F., 2014, Sülfitler ve Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılması, *Akademik Gıda*, 12(2)s.

FAO/WHO: Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, Report of a joint FAO/ WHO working group, 2002, London Ontario, Canada.

Fegan, N. and Jenson, I., 2018, The role of meat in foodborne disease: Is there a coming revolution in risk assessment and management?, *Meat Science*, 144:22-29pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Field, D., Ross, R. P. and Hill, C., 2018, Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives, *Current Opinion in Food Science*, 20:1-6pp.

Figueroa-González, I., Cruz-Guerrero, A. and Quijano, G., 2011, The benefits of probiotics on human health, *Journal of Microbial Biochem Technology*, 1:1948-5948pp.

Fooks, L.J., Fuller, R. and Gibson, G.R., 1999, Prebiotics , probiotics and human gut microbiology, *International Dairy Journal*, 9:53-61pp.

Garcia-Lopex, M. L., Prieto, M. and Otero, A., 1998, Physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products, *Microbiology of Meat and Poultry,* 1-34pp.

Garneau, S., Martin, N. I. and Vederas, J. C., 2002, Two-peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria *Biochimie*, 84(5-6):577-592pp.

George, R., Kumar, J., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. and Das, G., 2018, Benefaction of probiotics for human health : A review, *Journal of Food and Drug Analysis*, 26:927-939pp.

Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S. and Brooks, M. S., 2010, Fish spoilage mechanisms and preservation techniques, *American Journal of Applied Sciences*, 7(7):859pp.

Gök, V. and Bor, Y., 2016, Effect of marination with fruit and vegetable juice on the some quality characteristics of turkey breast meat, *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18(3):481-488pp.

Gözener B., Kaya Y. ve Sayılı M., 2014, Erzincan ili Üzümlü ilçesinde cimin üzümü üretimi ve pazarlama durumu, Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 9:74-80ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B. and Givskov, M., 2002, Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, *78*(1-2):79-97pp.

Guan, W., Fan, X. and Yan, R., 2013, Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms, *Food Control*, *34*(2):554-559pp.

Gueimonde, M. and Salminen, S., 2006, New methods for selecting and evaluating probiotics, *Digestive and Liver Disease*, 38:242-247pp.

Guerrero-Legarreta, I., 2014, Spoilage of Cooked Meat and Meat Products. In: C. A. Batt&M. L. Tortorello (Eds). Encyclopedia of Food Microbiology, volume 2, Academic Press, London. 508-513pp.

Guler, A. and Candemir, A., 2017, Polyphenol contents, antioxidant activities, colour and chemical properties of fresh koruk (sour grape) juices in Turkey, Oral presentation at the meeting of the 2nd international balkan agriculture, tekirdağ.

Gutiérrez-Larraínzar, M., Rúa, J., Caro, I., de Castro, C., de Arriaga, D., García-Armesto, M. R. and del Valle, P., 2012, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria, *Food Control*, 26(2):555-563pp.

Gündüz, G. T., 2013, Antimicrobial activity of sloe berry purees on *Salmonella* spp., *Food control*, 32(2):354-358pp.

Hayoglu, I., Kola, O., Kaya, C., Özer, S. and Turkoglu, H., 2009, Chemical and sensory properties of verjuice, a traditional turkish non-fermented beverage from Kabarcik and Yediveren grapes, *Journal of Food Processing and Preservation*, 33:252-263pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Heinz, G. and Hautzinger, P., 2007, Meat processing technology for small to medium scale producers, Food and agriculture organization of the united nations regional office for Asia and the Pacific, Bangkok.

Hernández, A., Pérez-Nevado, F., Ruiz-Moyano, S., Serradilla, M. J., Villalobos, M. C., Martín, A. and Córdoba, M. G., 2018, Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages?, *International Journal of Food Microbiology*, 286:98-110pp.

Hintz, T., Matthews, K. K. and Di, R., 2015, The use of plant antimicrobial compounds for food preservation, *BioMed Research International*, (4):1-12pp.

Huff-Lonergan, E. and Lonergan, S. M., 2005, Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes, *Meat Science*, 71(1):194-204pp.

Hugas, M., Garriga, M. and Monfort, J. M., 2002, New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology, *Meat Science*, 62(3):359-371pp.

Hyldgaard, M., Mygind, T. and Meyer, R. L., 2012, Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components, *Frontiers in Microbiology*, 3:12pp.

Iglesias, M. B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J. and Vi, I., 2017, Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear, *LWT-Food Science and Technology*, 81:243-249pp.

Irkin, R. and Esmer, O. K., 2015, Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents, *Journal of Food Science and Technology*, 52(10):6095-6111pp.

Islam, S. U., 2016, Clinical uses of probiotics. *Medicine*, 95(5)p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

ISO (International Organization for Standardization), 2017, ISO 11290-1:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. -- Part 1: Detection method, https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:11290:-1:ed-2:v1:en (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

ISO (International Organization for Standardization), 2017, ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* -- Part 1: Detection of *Salmonella* spp. https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6579:-1:ed-1:v1:en (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

Jenssen, H., Hamill, P. and Hancock, R. E., 2006, Peptide antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3):491-511pp.

Jiménez-Colmenero, F., Reig, M. ve Toldrá, F., 2006, New Approaches, Advanced technologies for meat processing, Advanced Technologies for Meat Processing, 2nd Edition, Boca Raton, CRC Press.

Jurgiel-Malecka, G., Gibczynska, M. and Nawrocka-Pezik, M., 2015, Comparison of chemical composition of selected cultivars of white, yellow and red onions, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(4):736-741pp.

Kabisch, J., Erl-Hoening, C., Wenning, M., Böhnlein, C., Gareis, M. and Pichner, R., 2016, Spoilage of vacuum-packed beef by the yeast *Kazachstania psychrophila*, *Food Microbiology*, 53:15-23pp.

Kaewnopparat, S., Dangmanee, N., Kaewnopparat, N., Srichana, T., Chulasiri, M. and Settharaksa, S., 2013, *In-vitro* probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* SK5 isolated from vagina of healthy woman, *Anaerobe*, 22:6-13pp.

Kamal, R. M., Alnakip, M. E., El Aal, S. F. A. and Bayoumi, M. A., 2018, Bio-controlling capability of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* against some common foodborne pathogens in yoghurt, *International Dairy Journal*, 85:1-7pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kang, J. H. and Song, K. B., 2019, Antibacterial activity of the noni fruit extract against *Listeria monocytogenes* and its applicability as a natural sanitizer for the washing of fresh-cut produce, *Food Microbiology*, 84:103260p.

Karapinar, M. and Sengun, I. Y., 2007, Antimicrobial effect of koruk (unripe grape—*Vitis vinifera*) juice against *Salmonella* Typhimurium on salad vegetables, *Food Control*, 18(6):702-706pp.

Kareem, K. Y., Ling, F. H., Chwen, L. T., Foong, O. M. and Asmara, S. A., 2014, Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin, *Gut Pathogens*, 6(1):23pp.

Kargiotou, C., Katsanidis, E., Rhoades, J., Kontominas, M. and Koutsoumanis, K., 2011, Efficacies of soy sauce and wine base marinades for controlling spoilage of raw beef , *Food Microbiology*, 28:158-163pp.

Keyvan, E., 2010, Sığır karkaslarında post-mortem değişiklikler, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 81(2):43-46pp.

Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M. B. and Limbo, S., 2018, Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions, *Food and Bioproducts Processing*, 111:1-19pp.

Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E. and Mortazavian, A. M., 2018, Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45:62-72pp.

Kılıç, A., 2008, Uçucu yağ elde etme yöntemleri, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, 10(13):37-45pp.

Kim, S. W., Ko, M. J. and Chung, M. S., 2019, Extraction of the flavonol quercetin from onion waste by combined treatment with intense pulsed light and subcritical water extraction, *Journal of Cleaner Production*, 231:1192-1199pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kim, Y. J., Jin, S. K., Park, W. Y., Kim, B. W., Joo, S. T. and Yang, H. S., 2010, The effect of garlic or onion marinade on the lipid oxidation and meat quality of pork during cold storage, *Journal of Food Quality*, 33:171-185pp.

Kołożyn-Krajewska, D. and Dolatowski, Z. J., 2009, Probiotics in fermented meat products, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 8(2):61-74pp.

Kołożyn-Krajewska, D. and Dolatowski, Z. J., 2012, Probiotic meat products and human nutrition, *Process Biochemistry*, 47(12):1761-1772pp.

Koohmaraie, M., 1994, Muscle proteinases and meat aging, *Meat Science*, *36*(1-2):93-104pp.

Kramer, A. and Twigg, B.A., 1984, Quality Control for the Food Industry (Vol.1). Wesport: The Avi Publishing Company.

Kurt, Ş., Küçüköner, E. ve Zorba, Ö., 2005, Kesim sonrası sığır etinde meydana gelen biyokimyasal değişimler. *Gıda*, *30*(3)s.

Lado, B. H. and Yousef, A. E., 2002, Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms, *Microbes and Infection*, 4(4):433-440pp.

Lai, P. K. and Roy, J., 2004, Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices, *Current Medicinal Chemistry*, 11(11):1451-1460pp.

Łata, B., Trampczynska, A. and Paczesna, J., 2009, Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition, *Scientia Horticulturae*, 121(2):176-181pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Leighton, T., Ginther, C., Fluss, L., Harter, W. K., Cansado, J. and Notario, V., 1992, Molecular characterization of quercetin and quercetin glycosides in Allium vegetables: their effects on malignant cell transformation, *American Chemical Society*, 507:220p.

Li, S., Ma, C., Gong, G., Liu, Z., Chang, C. and Xu, Z., 2016, The impact of onion juice on milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus*, *LWT-Food Science and Technology*, 65:543-548pp.

Liaudanskas, M., Viškelis, P., Kviklys, D., Raudonis, R. and Janulis, V., 2015, A comparative study of phenolic content in apple fruits, *International Journal of Food Properties*, 18(5):945-953pp.

Lytou, A. E., Panagou, E. Z. and Nychas, G. J. E., 2017, Effect of different marinating conditions on the evolution of spoilage microbiota and metabolomic profile of chicken breast fillets, *Food Microbiology*, 66:141-149pp.

Maddox, C. E., Laur, L. M. and Tian, L., 2010, Antibacterial activity of phenolic compounds against the phytopathogen *Xylella fastidiosa*, *Current Microbiology*, 60(1):53pp.

Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005, Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, *40*(3):255-260pp.

Mark, R., Lyu, X., Lee, J. J., Parra-Saldívar, R. and Chen, W. N., 2019, Sustainable production of natural phenolics for functional food applications, *Journal of Functional Foods*, 57:233-254pp.

McMillin, K. W., 2008, Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat, *Meat Science*, 80(1):43-65pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

McMillin, K. W., 2017, Advancements in meat packaging, *Meat Science*, 132:153-162pp.

McMillin, K. W., Huang, N. Y., Ho, C. P. and Smith, B. S., 1999, Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging, *In Quality Attributes of Muscle Foods*, 73-93pp.

McNeill, S. H., 2014, Inclusion of red meat in healthful dietary patterns, *Meat Science*, 98(3):452-460pp.

Mejri, L. and Hassouna, M., 2016, Characterization and selection of *Lactobacillus plantarum* species isolated from dry fermented sausage reformulated with camel meat and hump fat, *Applied Biological Chemistry*, 59(4):533-542pp.

Messaoudi, S., Manai, M., Kergourlay, G., Prévost, H., Connil, N. and Chobert, J., 2013, *Lactobacillus salivarius* : Bacteriocin and probiotic activity, *Food Microbiology*, 36:296-304pp.

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, Ferrant, C., Fernandez, X. and Chemat, F., 2014, Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the *Alliaceae family*, *Molecules*, 19(12):20034-20053pp.

Moon, H., Hee, N., Han, S., Kim, Y., Hoon, J. and Suk, M., 2017, Teriyaki sauce with carvacrol or thymol effectively controls *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and indigenous flora in marinated beef and marinade, *Meat Science*, 129:147-152pp.

Moongngarm, A., Trachoo, N. and Sirigungwan, N., 2011, Low molecular weight carbohydrates, prebiotic content, and prebiotic activity of selected food plants in Thailand, *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(4):269-274pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mor-Mur, M. and Yuste, J., 2010, Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: an overview, *Food and Bioprocess Technology*, 3(1):24pp.

Mpofu, A., Linnemann, A. R., Nout, M. J., Zwietering, M. H., Smid, E. J. and den Besten, H. M., 2016, Inactivation of bacterial pathogens in yoba mutandabota, a dairy product fermented with the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* yoba, *International Journal of Food Microbiology*, 217:42-48pp.

Naghmouchi, K., Baah, J., Hober, D., Jouy, E., Rubrecht, C., Sané, F. and Drider, D., 2013, Synergistic effect between colistin and bacteriocins in controlling Gram-negative pathogens and their potential to reduce antibiotic toxicity in mammalian epithelial cells, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(6):2719-2725pp.

Nawar, W. W., 1995, The use of ionizing radiation in the preservation of food, A.G. Gaonkar (Ed.), Food processing: Recent developments, Elsevier, The Netherlands, 209-226pp.

Nawrot, R., Barylski, J., Nowicki, G., Broniarczyk, J., Buchwald, W. and Goździcka-Józefiak, A., 2014, Plant antimicrobial peptides, *Folia Microbiologica*, 59(3):181-196pp.

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. and De Feo, V., 2013, Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6(12):1451-1474pp.

Nikaido, H., 1994, Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux, *Science*, 264(5157):382-388pp.

Nikfardjam, M. S. P., 2008, General and polyphenolic composition of unripe grape juice (verjus/verjuice) from various producers, *Mitteulingen Klosterneuburg*, 58, 28-31pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Nuutila, A. M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M. and Oksman-Caldentey, K. M., 2003, Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity, *Food Chemistry*, *81*(4):485-493pp.

Ockerman, H. W. and Basu, L., 2004, Carcass chilling and boning. In J. Werner Klinth (Ed.), Encyclopedia of Meat Sciences, Elsevier, Oxford, 144-149pp.

OECD, 2019, Meat consumption (indicator), doi: 10.1787/fa290fd0-en (Accessed on 16 November 2019)

Ouattara, B., Giroux, M., Smoragiewicz, W., Saucier, L. and Lacroix, M., 2002, Combined effect of gamma irradiation, ascorbic acid, and edible coating on the improvement of microbial and biochemical characteristics of ground beef, *Journal of Food Protection*, 65(6):981-987pp.

Ouyang, H., Hou, K., Peng, W., Liu, Z. and Deng, H., 2018, Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of total polyphenols from onion, *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*(7):1509-1513pp.

Ozturk, B. and Sengun, I. Y. (2019), Inactivation effect of marination liquids prepared with koruk juice and dried koruk pomace on *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* inoculated on meat, *International Journal of Food Microbiology*, 304:32-38pp.

Ozturk, B., 2018, Koruk suyu ve kurutulmuş koruk posası ile hazırlanan marinasyon sıvılarının ete bulaştırılan *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* üzerine inaktivasyon etkisi, 141s (yayımlanmamış).

Öncül, N. and Karabıyıklı, Ş., 2016, Survival of foodborne pathogens in unripe grape products, *LWT*, 74:168-175pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Öncül, N. and Karabiyikli, Ş., 2015, Factors affecting the quality attributes of unripe grape functional food products, *Journal of Food Biochemistry*, 39(6):689-695pp.

Papadopoulou, O. S., Argyri, A. A., Varzakis, E. E., Tassou, C. C. and Chorianopoulos, N. G., 2018, Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential, *Food Microbiology*, 74:21-33pp.

Pereira, P. M. D. C. C. and Vicente, A. F. D. R. B., 2013, Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet, *Meat Science*, 93(3):586-592pp.

Pereira, P. M. D. C. C. and Vicente, A. F. D. R. B., 2013, Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet, *Meat Science*, 93(3): 586-592pp.

Pigott, D. C., 2008, Foodborne illness, *Emergency Medicine Clinics of North America*, 26(2):475-497pp.

Pina-Pérez, M. C. and Pérez, M. F., 2018, Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A review, *Trends in Food Science and Technology*, 72:114-124pp.

Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N. K. and Mathe, E., 2018, An overview of natural antimicrobials role in food, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143:922-935pp.

Pösö, A. R. and Puolanne, E., 2005, Carbohydrate metabolism in meat animals, *Meat Science, 70*(3):423-434pp.

Pradhan, D., Mallappa, R. H. and Grover, S., 2019, Comprehensive approaches for assessing the safety of probiotic bacteria, *Food Control*, 106872p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Purohit, A. and Mohan, A., 2019, Antimicrobial effects of pyruvic and succinic acids on *Salmonella* survival in ground chicken, *LWT*, 116:108596p.

Rahelić, S., Puač, S. and Gawwad, A. H., 1985, Structure of beef Longissimus dorsi muscle frozen at various temperatures: Part 1—histological changes in muscle frozen at -10, -22, -33, -78, -115 and -196℃, *Meat Science*, 14(2):63-72pp.

Rastall, R.A., Gibson, G.R., Gill, H.S., Guarner, F., Klaenhammer, T.R., Pot, B., Reid, G., Rowland, I.R. and Sanders, M.E., 2005, Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics , prebiotics and synbiotics to enhance human health : An overview of enabling science and potential applications, 52:145-152pp.

Ray, B., 2005, Fundamental food microbiology (3rd Edition). CRC Press, FL, pp.72 . ISBN: 0-8493-1610-3pp.

Rhoades, J., Kargiotou, C., Katsanidis, E. and Koutsoumanis, K. P., 2013, Use of marination for controlling *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* in raw beef, *Food Microbiology*, 36(2):248-253pp.

Rodrigues, A. S., Pérez-Gregorio, M. R., García-Falcón, M. S., Simal-Gándara, J. and Almeida, D. P., 2010, Effect of post-harvest practices on flavonoid content of red and white onion cultivars, *Food Control*, 21(6):878-884pp.

Rodriguez-Garcia, I., Silva-Espinoza, B.A., Ortega-Ramirez, L.A., Leyva, J.M., Siddiqui, M.W., Cruz-Valenzuela, M.R., Gonzalez-Aguilar, G.A. and Ayala-Zavala, J.F., 2016, Oregano essential oil as an antimicrobial and antioxidant additive in food products, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(10):1717-1727 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Rollema, H. S., Kuipers, O. P., Both, P., De Vos, W. M. and Siezen, R. J., 1995, Improvement of solubility and stability of the antimicrobial peptide nisin by protein engineering, *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8):2873-2878.

Russo, P., Peña, N., de Chiara, M. L. V., Amodio, M. L., Colelli, G. and Spano, G., 2015, Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe, *Food Research International*, 77:762-772pp.

Saarela, M., Mogensen, G. and Fonde, R., 2000, Probiotic bacteria : safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, 84(3):197-215pp.

Sağlam, D. and Şeker, E., 2016, Food-borne bacterial pathogens, Kocatepe Veteriner Dergisi, 9(2):105-113pp.

Saha, A., Lee, Y., Meullenet, J.F. and Owens, C.M., 1993, Consumer acceptance of broiler breast fillets marinated with varying levels of salt, *Poultry Science*, 88(2):415-423pp.

Salaheen, S., Jaiswal, E., Joo, J., Peng, M., Ho, R., OConnor, D., Adlerz, K., Aranda-Espinoza, J.H. and Biswas, D., 2016, Bioactive extracts from berry byproducts on the pathogenicity of *Salmonella* Typhimurium, *International Journal of Food Microbiology*, 237:128-135pp.

Salaheen, S., Kim, S. W., Haley, B. J., Van Kessel, J. A. S. and Biswas, D., 2017, Alternative growth promoters modulate broiler gut microbiome and enhance body weight gain, *Frontiers in Microbiology*, 8:2088pp.

Salminen, S., Ouwehand, A.C. and Isolauri, E., 1998, Clinical Applications of Probiotic Bacteria, *International Dairy Journal*, 8:563-572pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sáyago-Ayerdi, S.G., Brenes, A. and Goñi, I., 2009, Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers, *Food Science and Technology*, 42:971-976pp.

Sebranek, J. G. and Bacus, J. N., 2007, Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?, *Meat Science*, 77(1):136-147pp.

Semerci, A., Kızıltuğ, T., Çelik, A. ve Kiracı, M., 2015, Türkiye bağcılığının genel durumu, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(2)s.

Sengun, I. Y., Goztepe, E. and Ozturk, B., 2019, Efficiency of marination liquids prepared with koruk (*Vitis vinifera* L.) on safety and some quality attributes of poultry meat, *LWT*, 108317p.

Senok, A. C., Ismaeel, A. Y. and Botta, G. A., 2005, Probiotics: facts and myths, *Clinical Microbiology and Infection*, 11(12):958-966pp.

Sentandreu, M. A., Coulis, G. and Ouali, A., 2002, Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness, *Trends in Food Science and Technology*, *13*(12):400-421pp.

Shahidi, F. and Ambigaipalan, P., 2015, Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review, *Journal of Functional Foods*, 18:820-897pp.

Sharma, K., Ko, E. Y., Assefa, A. D., Ha, S., Nile, S. H., Lee, E. T. and Park, S. W., (2015, Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties, *Journal of Food and Drug Analysis*, *23*(2):243-252pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Shen, X., Sun, X., Xie, Q., Liu, H., Zhao, Y., Pan, Y., Hwang, C. and Wu, V. C.H., 2014, Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts against the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis, *Food Control*, 35(1):159-165pp.

S**hin, J. M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H. and Kapila, Y. L.,** 2016, Biomedical applications of nisin, *Journal of Applied Microbiology*, 120(6):1449-1465pp.

Simova, E. D., Beshkova, D. B. and Dimitrov, Z. P., 2009, Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products, *Journal of Applied Microbiology*, 106(2):692-701pp.

Sindelar, J. J. and Milkowski, A. L., 2011, Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use, *American Meat Science Association White Paper Series*, 3:1-14pp.

Singh J.P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H. and Arora, D.S., 2016, In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols, *LWT - Food Science and Technology*, 65:1025–1030pp.

Skandamis, P. N. and Nychas, G. J. E., 2002, Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions, *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2):35-45pp.

Smith, D. A. and Stratton, J. E., 2007, Food preservation, safety, and shelf life extension, Food processing entrepreneurs series, University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, 3p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Smith, D. P. and Acton, J. C., 2010, Marination, cooking, and curing of poultry products, Poultry Meat Processing, CRC Press, Boca Raton, Florida, 311-336pp.

Smith, D., 1999, Marination tender to the bottom line, *Broiler Industry*, 62(6):22-27 pp.

Sparo, M. D., Confalonieri, A., Urbizu, L., Ceci, M. and Sánchez Bruni, S. F., 2013, Bio-preservation of ground beef meat by Enterococcus faecalis CECT7121, *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1):43-49.

Syed, Q. A., Buffa, M., Guamis, B. and Saldo, J., 2016, Factors affecting bacterial inactivation during high hydrostatic pressure processing of foods: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(3):474-483pp.

Şengün, İ. Y. and Öztürk, B., 2018, Bitkisel kaynaklı bazı doğal antimikrobiyaller, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 7(2):256-276.

Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W., 1976, Bacteriocins of gram-positive bacteria, *Bacteriological Reviews*, 40(3):722pp.

Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 2019, Tarım ürünleri piyasa raporları; üzüm verileri TAGEM yayınları 4s. https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2019-Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/2019-Ocak%20%C3%9Cz%C3%BCm.pdf (Erişim Tarihi: 18.10.2019).

Testa, B., Lombardi, S. J., Macciola, E., Succi, M., Tremonte, P. and Iorizzo, M., 2019, Efficacy of olive leaf extract (*Olea europaea* L. cv *Gentile di Larino*) in marinated anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.) process, *Heliyon*, 5(5):e01727pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Toldra F., and Reig M., 2011, Innovations for healtier processed meats, *Trends in Food Science and Technology*, 22:517-522pp.

Tompkin, R. B., 2005, Nitrite, In P. M. Davidson, J. N. Sofos, and A. L., Branen (Eds.), An- timicrobials in food (pp. 169–236) (3rd ed.), Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group.

Tong, Z., Ni, L. and Ling, J., 2014, Antibacterial peptide nisin: a potential role in the inhibition of oral pathogenic bacteria, *Peptides*, 60, 32-40pp.

Trząskowska, M., Kołożyn-Krajewska, D., Wójciak, K. and Dolatowski, Z., 2014, Microbiological quality of raw-fermented sausages with *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain, *Food Control*, 35(1):184-191pp.

Tsushida, T., 1995, Isolation of flavonoid-glycosides in onion and identification by chemical synthesis of glycosides (Flavonoid in fruits and vegetables Part 1), *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 42:100-108pp.

Turkmen, F. U., Takci, H. A. M. and Sekeroglu, N., 2017, Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of traditional unripe grape products, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51:489-493pp.

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2019a, Üzüm, https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2019-Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/2019-Ocak%20%C3%9Cz%C3%BCm.pdf (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2019b, Kuru soğan, https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2019-Ocak%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/2019-Ocak%20Kuru%20So%C4%9Fan.pdf (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

Türk Gıda Kodeksi, 2011, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6-1.pdf (Erişim tarihi: 15 Ocak 2020)

Türk Gıda Kodeksi, 2012, Et ve Et Ürünleri Tebliği, http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/12/20121205-12.htm (Erişim tarihi: 15 Kasım 2019)

Ucak, I., Gokoglu, N., Kiessling, M., Toepfl, S. and Galanakis, C. M., 2019, Inhibitory effects of high pressure treatment on microbial growth and biogenic amine formation in marinated herring (*Clupea harengus*) inoculated with Morganella psychrotolerans, *LWT,* 99:50-56pp.

USDA, 2005., FSRE (Food Safety Regulatory Essentials) Shelf-Stable, Principles of preservation of shelf-stable dried meat products, United State Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, http://www.fsis.usda.gov/PDF/FSRE_SS_7Principl es.pdf .

Uymaz, B., 2010, Probiyotikler ve kullanım alanları, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16(1):95-104pp.

Vaara, M., 1992, Agents that increase the permeability of the outer membrane, *Microbiology and Molecular Biology Reviews,* 56(3):395-411pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Vu, H. T., Scarlett, C. J. and Vuong, Q. V., 2017, Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity from banana (*Musa cavendish*) peel, *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5):e13148pp.

Williams, P., 2007, Section 2: key nutrients delivered by red meat in the diet, *Nutr Dietet*, 64(4):113-119pp.

Wu, G., 2009, Amino acids: metabolism, functions, and nutrition, *Amino Acids*, 37(1):1-17pp.

Xargayó, M., Lagares, L., Fernández, E., Borrell, D. and Juncà, G., 2007, Spray marinating: A definitive solution for improving meat texture, Girona, Spain, 196-199pp.

Xiang, F., Bai, J., Tan, X., Chen, T., Yang, W. and He, F., 2018, Antimicrobial activities and mechanism of the essential oil from *Artemisia argyi* Levl. et Van. var. argyi cv. Qiai, *Industrial Crops and Products*, 125:582-587pp.

Yang, S. C., Lin, C. H., Sung, C. T. and Fang, J. Y., 2014, Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals, *Frontiers in Microbiology*, 5:241pp.

Yang, S., Pei, X., Yang, D., Zhang, H., Chen, Q., Chui, H., Qiao, X., Huang, Y. and Liu, Q., 2018, Microbial contamination in bulk ready-to-eat meat products of China in 2016, *Food Control*, 91:113-122pp.

Ye, C. L., Dai, D. H. And Hu, W. L., 2013, Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.), *Food Control*, 30(1):48-53pp.

Yılmaz, İ. ve Gümüş, T., 2004, Sığır karkaslarının mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi, *Türkiye*, 10:21-23pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G. and Kerry, J. P., 2011, Marinating and enhancement of the nutritional content of processed meat products, *In Processed Meats,* 421-449pp.

Zhou, G. H., Xu, X. L. and Liu, Y., 2010, Preservation technologies for fresh meat–A review, *Meat Science,* 86(1):119-128pp.

Zhuang, H. and Bowker, B., 2016, Effect of marination on lightness of broiler breast fillets varies with raw meat color attributes, *LWT-Food Science and Technology*, 69:233-235pp.

Zoral, S., 2013, İnsan Kaynaklı *Lactobacillus* spp. Suşlarının Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırşehir, 37-38ss.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamın her aşamasında bigi, tecrübe ve fedakârlıklarıyla bana büyük destek veren değerli danışmanım Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN'e teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuar çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen Tekn. Figen BECERİK'e, Tekn. Tülay ÜZEL'e, Gülden KILIÇ'a, Berna ÖZTÜRK'e, Miray Gizem BİNGÖL'e, Ayşegül KIRMIZIGÜL'e, Kıvanç ATLAMA'ya, Yunus YAHŞİ'ye, Melike KASAP'a ve bu süreçte manevi desteğini esirgemeyen değerli hocam sayın Dr. Hüseyin DEĞİRMENCİ'ye çok teşekkür ederim. Son olarak hayatım boyunca maddi-manevi destekleriyle her zaman yanımda olan en büyük destekçilerim annem Aynur KARATAŞ'a, babam Hakkı GARGI'ya, kardeşlerim Miraç GARGI'ya ve Devrim KILIÇ'a, ayrıca Necati KILIÇ ve Gülhan GARGI'ya çok teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Ahmet GARGI 1996 yılında Londra (İNGİLTERE)'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Gazimağusa'da (KIBRIS) tamamladı. 2014 yılında Yakındoğu Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2018 yılında tamamladıktan sonra, aynı yıl Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

EKLER

Ek.1 Koruk suyu üretim aşaması

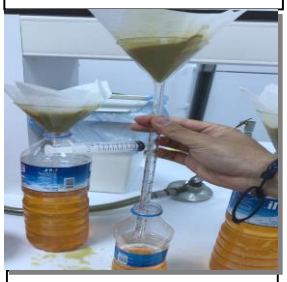
Koruk (Yediveren)

Taneleme, ayıklama ve yıkama

Dezenfeksiyon, Durulama

Parçalama

Kaba filtre



İnce filtre

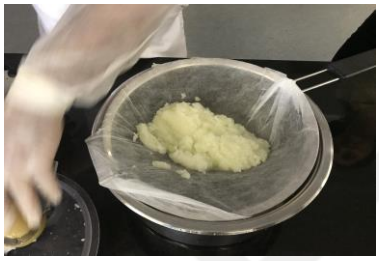
Koruk suyu

Ek 2. Soğan suyu üretimi

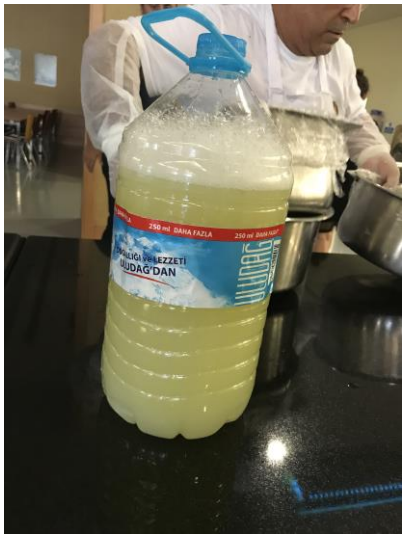
Soğan

Doğrama

Parçalama



Süzme



Soğan suyu

Ek 3: Duyusal değerlendirme formu

HEDONİK TEST

Panelistin adı soyadı: Tarih:

Lütfen aşağıdaki ifadeler içerisinde size sunulan ürün hakkında hissettiğiniz yanıtı işaretleyiniz.

Teşekkürler.

Örnek Kodu	Görünüm	Renk	Doku	Lezzet	Genel Kabul Edilebilirlik
568					
385					
148					
755					
221					

9	Çok fazla beğendim
8	Çok Beğendim
7	Orta derecede beğendim
6	Az beğendim
5	Ne beğendim ne beğenmedim
4	Biraz beğenmedim
3	Orta derecede beğenmedim
2	Çok beğenmedim
1	Hiç beğenmedim