

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KİTOSAN ÇÖZELTİLERİNE DALDIRMANIN KOKTEYL SOSİSLERİN
SOĞUKTA DEPOLANMASI SIRASINDA MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNE
ETKİLERİ**

Halime ÖZKAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2016**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Halime ÖZKAN tarafından hazırlanan “**Kitosan Çözeltilerine Daldırmanın Kokteyl Sosislerin Soğukta Depolanması Sırasında Mikrobiyolojik Kalitesine Etkileri**” adlı tez çalışması 10/02/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman :Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Nuray KOLSARICI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Halil VURAL
Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim DEMİR
Enstitü Müdür Vekil

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

10/02/2016

Halime ÖZKAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KİTOSAN ÇÖZELTİLERİNE DALDIRMANIN KOKTEYL SOSİSLERİN SOĞUKTA DEPOLANMASI SİRASINDA MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNE ETKİLERİ

Halime ÖZKAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Çalışmanın amacı, iki farklı kitosan (% 0.5 KS1 ve % 1, KS2, w/w) ve laktik asit çözeltisine (%2, LA) daldırmanın, frankfurterlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Sosisler, modifiye atmosferde (70 % N₂ ve 30 % CO₂) ambalajlanmış ve 90 gün boyunca, 4±1°C’de depolanmıştır. Sonuçlar, kontrol (daldırmasız) ve destile suya (DS) daldırılmış örneklerle kıyaslanmıştır. Depolama sırasında mikrobiyolojik (toplam aerob mezofil bakteri (TAMB), toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB), laktik asit bakteri (LAB), *Enterobacteriaceae*, küf ve maya), fizikokimyasal (pH ve a_w) ve duyuusal parametreler izlenmiştir.

Depolama sırasında, % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltisine daldırılmış sosislerde mikrobiyel sayıda (P<0.05) önemli ölçüde azalma olmuştur. Soyulmuş sosisleri kitosan çözeltisine (% 1) daldırma, 4°C derecede 90 gün boyunca, TAMB ve LAB sayısını yaklaşık 2.5-3 log kob/g düşürmüştür. Depolamanın 75. gününde, kitosan çözeltisi uygulanmış (% 0.5 ve % 1) örneklerde TAMB sayısı sırasıyla 4.75 ve 5.20 log kob/g iken, K ve DS ile muamele edilen örneklerde 7 log kob/g’nin üzerinde olmuştur. Kitosan ve laktik asit çözeltilerine daldırma, sosislerin *Enterobacteriaceae* ve maya-küf sayılarını 15 gün sonra önemli düzeyde (P<0.01) azaltmıştır. Kitosan çözeltileriyle muamele edilen sosislerin pH değerleri, destile suya daldırılmış örneklere ve işlem görmemiş kontrole göre önemli düzeyde (P<0.01) daha düşük bulunmuştur.

Mikrobiyolojik ve duyuusal verilere göre, kitosan çözeltileriyle muamele edilen ve modifiye atmosferde (70 % N₂, 30 % CO₂) depolanan sosislerde raf ömrü 75 güne kadar uzatılmıştır.

Şubat 2016, 70 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kitosan çözeltisi, daldırma, kokteyl sosis, soğukta depolama, mikrobiyel kalite

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF DIPPING INTO CHITOSAN SOLUTIONS ON MICROBIAL QUALITY OF COCTAIL SAUSAGES DURING COLD STORAGE

Halime ÖZKAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

The aim of the study was to evaluate the effect of dipping in two different chitosan solutions (0.5 %, KS1 and 1 %, KS2, w/w) and lactic acid solution (2 %, LA) on the quality of frankfurter beef sausages packed under modified atmosphere (70 % N₂ ve 30 % CO₂) during refrigerated storage at 4±1 °C for 90 days. The results were compared to a control (untreated) and distilled water (DS) treated samples. Microbiological (total viable counts (TVC) and psychrotrophs, lactic acid bacteria (LAB), *Enterobacteriaceae* and mould and yeast), physicochemical (pH and a_w) and sensory parameters were monitored during storage.

Franfurters treated with chitosan solutions in both concentrations resulted in significant (P<0.05) inhibition of microbial growth during storage. Dipping of skinless frankfurters in chitosan solution (1 %) reduced TVC and LAB counts by approximately 2.5-3 log cfu/g for 90 days at 4 °C. TVC were between 4.75-5.20 log cfu/g on day 75 of storage in the samples treated with 1 % and 0.5 % chitosan, respectively vs. the samples treated with distilled water and untreated control which was over 7 log cfu/g. Yeast and mold and *Enterobacteriaceae* were significantly reduced by the chitosan and lactic acid treatment after day 15 of storage. pH values of the frankfurters treated with chitosan solutions had lower than those of the samples treated with distilled water and untreated control during storage.

Based on the microbiological and sensory data, shelf-life of chitosan treated sausages under modified atmosphere (70 % N₂, 30 % CO₂) extended to 75 days.

February 2016, 70 pages

Key Words: Chitosan solution, dipping, cocktail sausage, cold storage, microbial quality

TEŞEKKÜR

Tez araştırma ve deney sürecimin her anında titizlikle çalışmalarına yön veren ve yardımını esirgemeyerek, bilgi, öneri ve düşüncelerini benimle paylaşan, akademik ve sosyal ilişkilerimde başarının yanısıra mesleki anlamda gıda mühendisliğine katkı sağlayacak düşünce yapısını bana kazandıran önce sayın danışman hocam Prof. Dr. Ayla SOYER'e, (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) istatistik analizleri yapan Sayın Dr. Berna ÖZALP ÖZEN'e, tez çalışmalarında yardımcı olan Gülay EVİRGEN'e, çalışmanın gerçekleştirildiği Aytaç A.Ş. yetkilileri ve çalışanlarından Emin ÇALIŞKAN, Fırat KABAÇAM, Fatih ÇETİN, Musa KAPUKIRAN ve Ali ŞENGÖNÜL'e; çalışma sürecimde birçok fedakarlıklar göstererek beni destekleyen aileme, özellikle canım kardeşim Ali ÇİÇEK'e ve sevgili eşim Hasan Emre ÖZKAN'a, maddi ve manevi destekleri için en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Halime ÖZKAN

Ankara, Şubat 2016

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Antimikrobiyel Aktivite.....	16
2.2 Kitosan Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesini Etkileyen Faktörler	18
2.2.1 pH'nın etkisi	18
2.2.2 İç faktörler	19
2.3 Kitosanın Gıda Uygulamalarındaki Antimikrobiyel Etkinliği	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Materyal	27
3.1.1 Dana eti	27
3.1.2 Sosis ingredyenleri ve kılıf materyali	27
3.1.3 Kitosan ve laktik asit.....	27
3.2 Yöntem	28
3.2.1 Daldırma çözeltilerinin hazırlanması	28
3.2.2 Sosis örneklerinin hazırlanması ve deneme planı	28
3.3 Analiz Yöntemleri	30
3.3.1 Nem miktarı.....	30
3.3.2 Yağ miktarı	30
3.3.3 Protein miktarı	30
3.3.4 Kül miktarı	31
3.3.5 pH değeri.....	31
3.3.6 Su aktivitesi (a_w) değeri	31

3.3.7 Mikrobiyolojik analizler	31
3.3.7.1 Toplam aerob mezofil mikroorganizma sayımı	32
3.3.7.2 Toplam aerob psikrotrof mikroorganizma sayımı.....	32
3.3.7.3 Laktik asit bakteri sayımı.....	32
3.3.7.4 <i>Enterobacteriaceae</i> sayımı.....	32
3.3.7.5 Maya-küf sayımı.....	33
3.3.8 Duyusal analiz	33
3.3.9 İstatistik analiz	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1 pH Değeri	34
4.2 Su Aktivitesi (a_w) Değeri	37
4.3 Mikrobiyolojik Sonuçlar	39
4.3.1 Toplam aerob mezofilik bakteri sayısı	39
4.3.2 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı	43
4.3.4 <i>Enterobacteriaceae</i> sayısı	48
4.3.5 Maya-Küf sayısı.....	50
4.4 Duyusal Değerlendirme	53
5. SONUÇ	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ.....	70

SİMGELER DİZİNİ

μ	mikron
$^{\circ}\text{C}$	santigrat
%	yüzde birimi
akb	atomik kütle birimi
Da	dalton
g	gram
kDa	kilodalton
kg	kilogram
log	logaritma
mg	miligram

Kısaltmalar

GlcNAc	N-asetil-D-glukozamin
NaOH	Sodyum Hidroksit
HCl	Hidroklorik asit
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
a_w	Su aktivitesi
CM	Kitosan-Nane ekstraktı karışımı
DS	Destile suya daldırılan grup
GRAS	Generally Recognized as Safe
K	Kontrol grubu
kob	Koloni oluşturan birim
KS1	% 0.5 oranında kitosan solüsyonuna daldırılan grup
KS2	% 1 oranında kitosan solüsyonuna daldırılan grup
LA	Laktik asit solüsyonuna daldırılan grup
MA	Molekül ağırlığı
MMW	Medium Molecular Weight
TBA	Tiyobarbiturik asit
USFDA	U.S. Food and Drug Administration

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Selüloz, kitin ve kitosanın yapısı	11
Şekil 2.2 Kitosan molekül yapısı	12
Şekil 2.3 Kitinden kitosan elde edilmesi.....	13
Şekil 4.1 Depolama sırasında sosislerin pH değerindeki değişim	36
Şekil 4.2 Depolama sırasında sosislerin a_w değerindeki değişim	38
Şekil 4.3 Depolama sırasında sosislerin TAMB sayısındaki değişim.....	41
Şekil 4.4 Depolama sırasında sosislerin TAPB sayısındaki değişim.....	44
Şekil 4.5 Depolama sırasında sosislerin LAB sayısındaki değişim	47
Şekil 4.6 Depolama sırasında sosislerin <i>Enterobacteriaceae</i> sayısındaki değişim.....	49
Şekil 4.7 Depolama sırasında sosislerin maya-küf sayısındaki değişim.....	51
Şekil 4.8 Sosislerin duyusal puanlarında depolama sırasında meydana gelen değişim..	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Isıl işlem görmüş sosis ve salam gibi et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler	6
Çizelge 2.2 Vakum ambalajlı sosislerde meydana gelen bozulma tipleri.....	8
Çizelge 3.1 Sosis gruplarının muamele edildiği çözeltiler.....	29
Çizelge 4.1 Sosis bileşimi	34
Çizelge 4.2 Sosislerin pH değerine farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi	35
Çizelge 4.3 Sosislerin a_w değerine farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi	37
Çizelge 4.4 Sosislerin TAMB sayısına farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)	39
Çizelge 4.5 Sosislerin TAPB sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g).....	43
Çizelge 4.6 Sosislerin LAB sayısına farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)	46
Çizelge 4.7 Sosislerin <i>Enterobacteriaceae</i> sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)	49
Çizelge 4.8 Sosislerin maya-küf sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)	50
Çizelge 4.9 Sosislerin duyuşal özelliklerine kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi	54

1. GİRİŞ

Beslenmemizde içerdği besin ögeleri sebebiyle büyük öneme sahip olan etin, mikroorganizmaların gelişmesi için de uygun bir ortam olması, insanoğlunu çok eski çağlardan beri bu ürünün hem dayanıklılığını artırmaya hem de aroma ve lezzet kazandırmak amacıyla değişik ürünlere işlenmesine yöneltmiş olup bu ürünlerden bir tanesi de sosistir.

“Sausage” terimi Latince bir kelime olan ve tuz anlamına gelen “salsus” kelimesinden gelmektedir, parçalanmış ya da kıyma haline getirilmiş etin tuzlama ile korunması anlamındadır. Bugün dünyada 250 kadar değişik tip, şekil ve yapıda sosis üretilmektedir. Ancak genel olarak bileşim ve proses farklılıkları ile birlikte üretilen sosis çeşidi birkaç bini bulabilmektedir (Yörük ve Güner 2012).

Dünya’da “sausage” adı altında farklı teknolojiler kullanılarak üretilen çok çeşitli ürünler olmasına rağmen Türkiye’de sosis olarak adlandırılan et ürünleri; emülsiyon teknolojisi kullanılarak elde edilen hamurun kılıflara doldurulmasından sonra dumanlama ve pişirme işlemleri uygulanması ile üretilmiş olanlardır. Genel olarak, şekil ve büyüklük bakımından sosis ve salam diye iki sınıfa ayrılarak işlenen bu ürünler; ürünün doldurulduğu kılıfların kalibresine göre 18 - 32 kalibre arasında olanlar sosis olarak adlandırılmaktadır (Yörük ve Güner 2012).

TÜİK’in Sanayi Ürünleri Yıllık Üretim ve Satış İstatistikleri verilerine göre; ülkemizdeki sosis ve benzeri et ürünleri üretimi ve satış miktarlarına yönelik rakamlar değerlendirildiğinde, 2013 yılında 108.365,170 kg sosis ve benzeri ürünler üretilmiş, 107.336,256 kg’ı ise satışa sunulmuş olup aynı yıl için bu üretim miktarının 21.163,218 kg’ını sosis ürünleri oluşturmaktadır (Anonim 2015).

Son yıllarda et ürünleri üretiminde tüketici beğenisine yönelik düzenlenen formülasyonların yanı sıra tüketici sağlığına yönelik olarak da düzenlemeler yapılmaktadır. Bu amaçla et ürünlerinde bulunan yağ, doymuş yağ asitleri, tuz, nitrit ve

diğer antimikrobiyal katkı maddelerinin kullanım miktarlarının azaltılması ve ürün formülasyonunda tahıl ve meyve-sebze lifleri, bitkisel ve hayvansal proteinler, doymamış yağ asitleri gibi çeşitli fonksiyonel katkıların kullanımı et endüstrisinde yaygınlaşmaktadır (Jimenez-Colmenero 2000, Jimenez-Colmenero vd. 2001, Valsta vd. 2005).

Gerek et ve et ürünleri, gerekse diğer besin maddelerine olan talebin dünya nüfusuna paralel olarak hızla artması, bu ürünlerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrünün artırılması için birçok uygulamayı gündeme getirmiştir. Bu amaçla, gerek fiziksel (düşük ısı, yüksek ısı, kurutma, yoğunlaştırma, ışınlama, paketlenme), gerekse kimyasal (asitlendirme, tuzlama, dumanlama, koruyucu katkı maddeleri) yöntemler gündeme gelmiştir.

Frankfurter tipi sosislerde ısıl işlem sonrası kabuk soyma ve ambalajlama gibi işlemler sırasında kontaminasyon önemli bir problemdir (Tompkin 2002). Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde, ambalajlanmış frankfurterlerin % 1.6' sının bu işlem sırasında *Listeria monocytogenes* ile kontamine olduğu tahmin edilmektedir (Wallace vd. 2003). Ambalajlama sırasında mikrobiyel kontaminasyona açık bir ürün olması, market raflarında uygun olmayan sıcaklık koşullarında satışa sunulması nedenleriyle frankfurter tipi sosisler kısa süreli bir raf ömrüne sahip olmaktadır. Soğukta depolanan ürünlerde vakum veya modifiye atmosferde ambalajlama (MAP), raf ömrünü nispeten uzatan uygulamalardır. Ancak çoğu zaman bu uygulamalar bozulmayı tam olarak önleyememektedir. Bu tip ürünler tekrar ısıl işlem görmeden tüketildiklerinde önemli bir risk oluşturmaktadırlar. Patojen mikroorganizmalarla kontaminasyonu en aza indirmek amacıyla bu tip ürünler farklı antimikrobiyel maddelerle muamele edilmektedir. Bunlar içerisinde en çok kullanılanlar sodyum ve potasyum laktatlar, laktik asit, sitrik asit, sodyum metabisüfit gibi kimyasallardır (Banks vd. 1987, Sommers vd. 2003, 2003a, Stekelenburg 2003, Byelashov vd. 2010).

Son yıllarda gıdalarda kimyasal katkı maddelerinin kullanımına karşı gelişen tüketici talebi, bilimsel çalışmaları yeni doğal antimikrobiyel ve antioksidan maddeler üzerine yoğunlaştırmıştır (Wang 1992). Sosis tipi ürünlerde mikrobiyel kontaminasyonu

engellemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla ya formülasyona ya da ısıtım işlem sonrası sosislere bazı uygulamalar yapılmaktadır. Bunlar; kitosan, karanfil yağı ve biberiye gibi doğal kaynaklardan elde edilen katkıların (Sagoo vd. 2002, Mytle vd. 2006, Upadhyay vd. 2013) kullanılmasıdır.

Yapılan çalışmalar kitosanın birçok mikroorganizmanın (*Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Micrococcus* spp. ve *Vibrio* spp.) gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir (Gagne 1993, Tsai ve Su 1999, Tsai vd. 2002, No vd. 2006, Bostan vd. 2007, Hongpattarakere ve Riyaphan 2008). Gerek sosislerin depolanmasında (Jo vd. 2001, Andrés vd. 2005, Martínez vd. 2007, Siripatrawan ve Noipha 2012) gerekse diğer gıdaların depolanmasında (Darmadji ve Izumimoto 1994, Shahidi vd. 1999, Roller ve Covill 2000, Turan ve Soyer 2011, A. Romero vd. 2013) mikroorganizmaların neden olduğu bozulmalar kitosan ilavesi ile geciktirilmiştir.

Son yıllarda kitosanın antimikrobiyel etkisinin yanı sıra kullanıldığı gıdalarda önemli derecede antioksidan etki gösterdiği ve lipid oksidasyonunu geciktirdiği ve etkinin metal iyonları şelatlamayla yakından ilgili olduğu belirlenmiş olup (Kamil vd. 2002, Jeon vd. 2002, Shahidi vd. 1999, Shahidi vd. 2002) kitosanın bu özellikleri ile ilgili çalışmalar her yıl giderek artmaktadır.

Bu açılarından değerlendirildiğinde bu çalışma, doğal bir katkı maddesi olan kitosanın kabuk soyma işleminde sonra frankfurterlere uygulanarak, soğukta depolama (4 ± 1 °C’ de) sırasında mikrobiyolojik kalitesine etkilerini ortaya koymak üzere planlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Türk Standartları Enstitüsü'nün (TSE) tanımına göre sosis; "sağlık kontrolünden geçirilmiş ve insan tüketimine uygun olduğunu belirten sağlık damgasını taşıyan sığır gövde eti, manda gövde eti, koyun gövde eti, kuzu gövde eti, kıl keçi gövde eti, kıl keçi oğlağı gövde etinden sadece birinin veya birkaçının kemik, tendon, fascia, kırık, lef yumruları, büyük sinir ve damarlarından ayıklandıktan sonra, kıyma makinasından geçirilip kuşbaşı çekildikten sonra, çeşidine göre lezzet verici maddeler, çeşni maddeler, aroma maddeleri, kıvam verici maddeler ve katkı maddeleri ile sakkaroz, tuz ilave edilip mikserde karıştırıldıktan sonra, bir kıyma makinasında kıyma çekilip, kuterlenerek emülsiyon haline getirilmesi ile hazırlanan sosis hamurunun kılıflara doldurulması ve belli aralıklarla boğumlanması veya özel cihazlarda elektrik akımı yardımıyla sosis hamurunun yüzeyinde kısmi bir koagülasyonun sağlanması, tütülenmesi ve pişirilmesi suretiyle hazırlanıp, vakumlu veya vakumsuz olarak ambalajlandıktan sonra piyasaya arz edilen bir et ürünü" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2002).

Et ve hayvansal yağ sosis üretiminde başlıca ingredyendir. Diğer ingredyenler; su/buz, baharat, yapıcılar (nişasta ve un gibi), katkı maddeleri; tuz, fosfatlar, nitrit, sitrat, glutamat, laktat, askorbat ve glukano-delta laktondur. Sosis üretiminde kullanılan çiğ materyal, baharat ve katkı maddeleri ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir.

Sosis üretimi kütleme, emülsiyon oluşturma, ısıtma, tütüleme gibi birçok gıda prosesi uygulanarak yapılmaktadır. Öncelikle et ve yağ kıyma çekilerek boyutları küçültülmekte, daha sonra baharat ve diğer katkıların ilavesi ile karıştırılmakta ve emülsiyon oluşturulmaktadır. Emülsiyon hamuru değişik boy ve çapta doğal ya da yapay kılıflara doldurulmakta ve sosiler tütüleme ve pişirme işlemine (merkez sıcaklık 68-73°C'ye kadar) alınmaktadır. Isıtma sonrası soğutma yapılmakta ve amaca göre kabuk soyma işlemi yapılarak veya dilimlenerek ambalajlanmaktadır. Ambalajlama vakum veya modifiye atmosferde yapılmaktadır (Korkeala ve Björkroth 1997). Sosilerin ambalajlanması, kontaminasyonu önlemede ve daha uzun raf ömrü sağlamada önemli bir uygulamadır.

Dünyada emülsiyon tipi sosisler sevilerek tüketilen et ürünleridir. Bunlar arasında wiener, Bologna ve frankfurter tipi sosisler üretimlerinde kürlenme, emülsiyon, ısıtma işlemi, tutsüleme işlemleri olan ürünlerdir. Et ve et ürünlerinin mikrobiyel gelişme için iyi bir ortam oluşturması nedeniyle üretimin her aşamasında hijyen ve sıcaklık dikkatle ele alınması gereken hususlardır. Özellikle frankfurter tipi sosisler yüksek pH ve a_w değerleri nedeniyle hızla bozulurlar.

Et ürünleri tebliğine göre (Anonim 2012), Emülsifiye et ürünlerinde;

- Toplam et proteini kütlece en az % 10,
- Kollajen miktarı toplam et proteinlerinin kütlece en fazla % 25,
- Nem miktarının toplam et proteini miktarına oranı kütlece 6.5'in altında,
- Yağ miktarının toplam et proteini miktarına oranı 3.2'nin altında,
- Et proteini hariç olmak üzere protein miktarı ve nişasta miktarı toplamı kütlece en fazla %5 olmalıdır.
- Salam, sosis gibi emülsifiye et ürünlerinde nişasta miktarı kütlece en çok % 4, pH en çok 6.4 olmalıdır.

Sosis tipi ürünlere mikroorganizmalar etten, baharattan ve diğer ingredienlerden, işletme atmosferinden, ekipmanlardan ve işçilerden bulaşmaktadır. Sosisler, ısıtma işlemi gibi proses koşullarında mikrobiyel yükleri azalmasına karşın, proses sonrası işlemler ve depolama sırasında yeniden kontamine olmaktadır. Ürüne kontamine olan patojen mikroorganizmalar sağlığı tehdit ederken, bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ürünün raf ömrünü sınırlamaktadır (Sachindra vd. 2005). Sosis üretiminde, hammaddenin, kullanılan katkı maddelerinin kaliteli ve hijyenik olarak elde edilmemesi, pH değeri, üretim aşamalarının özellikle de ısı-zaman uygulamalarının titizlikle uygulanmaması, personel bilinci ve eğitiminin eksikliğinden kaynaklanan personel kontaminasyonları, ambalajlama ve depolamada yapılan hatalar sonucunda halk sağlığını tehdit eden, ürün kalitesini bozan ve raf ömrünü kısaltan mikroorganizmaların kontaminasyonuna ve/veya gelişmesine neden olmaktadır (Mahan ve Bostan 2007).

Isıl işlem görmüş sosis tipi ürünlerde olması gereken mikrobiyolojik kriterler çizelge 2.1’de görülmektedir (Anonim 2011).

Çizelge 2.1 Isıl işlem görmüş sosis ve salam gibi et ürünlerinde mikrobiyolojik kriterler

Mikroorganizma	Numune alma planı		Limitler (kob/g-ml)	
	n ¹	c ¹	m ¹	M ¹
Maya-küf	5	2	10 ²	10 ³
<i>S. aureus</i> ²	5	2	10 ²	10 ³
<i>C. perfringens</i>	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-ml	
<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-ml	
<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-ml	

¹n: Partiden bağımsız ve rasgele seçilen numune sayısını,

c: m ve M arasında olmasına izin verilen maksimum numune sayısını (M değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını),

m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla mikrobiyolojik değeri,

M: c sayıdaki numunenin bu değeri aşması halinde uygunsuz olup kabul edilemez olduğunu gösteren mikroorganizma sayısını ifade eder.

²Koagülaz pozitif stafilokoklar

Sosislerde mikrobiyolojik kaliteyi etkileyen ürün özellikleri (Anonim 1999);

- Ürünün su aktivitesi
- Ürünün pH değeri
- Formülasyonda fermente olabilen karbonhidrat tipi/düzeyi
- Ürünün fosfat içeriği
- Üründeki kalıntı nitrit düzeyi
- Üründe kullanılan baharat tipi ve miktarı
- Ürüne uygulanan ısıtma işlem süresi ve miktarı
- Paketleme esnasında ürün ısısı
- Paketlemede uygulanan teknik
- Paketleme materyalinin oksijen geçirgenlik oranıdır.

Sosislerde en sık karşılaşılan bozulma şekli mikrobiyolojik kaynaklı bozulmalardır. Üretimde kabuk soyma işleminden sonra ürünün kontaminasyonunu engellemek ve daha uzun raf ömrü sağlamak amacıyla sosisler vakum veya modifiye atmosferde (MA)

ambalajlanmakta ve soğuk ortamda depolanmaktadır. Vakum ambalajlama, aerobik kaynaklı mikrobiyel çoğalmayı engellemekte ve anaerobik şartlarda (vakum ortamı) çoğalabilen mikroorganizmaların çoğalmasını da soğuk ortamda geciktirerek raf ömrünü uzatmaktadır (Jeremiach 2001). Laktik asit bakterileri, vakum veya modifiye atmosfer ortamlarında çoğalabilen ve bu şartlarda ambalajlanan ürünlerde bozulma nedeni olan mikroorganizmalardır (Sakala vd. 2002, Jones 2004, Nowak ve Krysiak 2005). Bu tip ürünlerde *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella* spp. gibi gıda kaynaklı patojenlerin varlığı ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır (Guang-Hua ve Xiao-Ling 1994, Thevenot vd. 2005, Byelashov vd. 2010, Upadhyay vd. 2013).

MA ambalajlama; oksijen konsantrasyonunu azaltmak, karbon dioksit ve/veya azot konsantrasyonunu artırmak suretiyle ambalaj içerisindeki atmosferi değiştirme işlemidir. Modifiye atmosferde ambalajlama ve soğuk depolama ile sosis gibi bozulmaya hassas ürünlerde daha uzun raf ömrü elde edilmektedir. Et ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmada gerek vakum gerekse modifiye atmosferde ambalajlama, soğuk depolama ile birlikte uygulandığında en çok tercih edilen muhafaza yöntemleri haline gelmiştir (Parry 1993). Bununla birlikte gerek vakum gerekse MA ambalajlama ile de daha uzun fakat sınırlı bir raf ömrü elde edilebilmektedir.

Vakum veya MA ambalajlanmış et ürünlerinde bozulma nedeni mikroorganizmalar başlıca *Lactobacillus* spp. (*L. sake* ve *L. curvatus*) (Dykes ve von Holy 1994, Korkeala ve Björkroth 1997, Jones 2004) ve *Leuconostoc* spp. (*L. gelidum*, *L. carnosum* ve *L. mesenteroides*) (Schillinger ve Lücke 1987, Collins vd. 1993, Dykes vd. 1994) organizmalarıdır. Bunlar dışında izole edilen türler *Weissella viridescens*, *Carnobacterium divergens*, *C. piscicola*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas fragi*, *P. fluorescens* ve *P. lundensis* (Gardner 1983, Collins vd. 1987, Hammes vd. 1992, Nychas 1994).

Vakum ambalajlı sosislerde bozulma, genellikle LAB'nin neden olduğu duyusal değişimlerle ve görünüşte meydana gelen değişimlerle olmaktadır. Çizelge 2.2'de vakum paketli sosislerde gözlenen bozulma tipleri verilmiştir. Başlıca duyusal değişim;

asidik (ekşi) tadın algılanması, beyaz yapışkan sıvı birikimi, gaz oluşumu ve yapışkanlaşmadır. Vakum ambalajlı sosislerde duyuşal değişimin nedeni LAB'dir. Bunun dışında poşet içerisinde sıvı birikimi olmaktadır. Yine laktik asit bakterilerinin neden olduğu ve görünüşü olumsuz etkileyen, yüzeyde yapışkan bir tabaka oluşmasıdır (Korkeala ve Björkroth 1997).

Çizelge 2.2 Vakum ambalajlı sosislerde meydana gelen bozulma tipleri (Korkeala ve Björkroth 1997)

Bozulma tipi	Yöntem	Neden
Asidite (ekşime)	Duyusal analiz (ekşi tat)	eşitli laktik asit bakterisi
Beyaz yapışkan sıvı	Grsel inceleme (görünüş)	eşitli laktik asit bakterisi
Gaz oluşumu	Grsel inceleme (Ambalajın bozulması)	Heterofermentatif laktobasiller ve leukonostoklar
Yapışkanlaşma	Grsel inceleme (yapışkan tabaka)	<i>Lactobacillus sake</i> <i>Leuconostoc gelidum</i>

Sosislerde LAB'nin neden olduğu duyuşal değişmeler, bakteri çoğalması durağan faza geçtikten sonra daha fazla meydana gelmektedir (Korkeala ve Alanko 1988, Korkeala vd. 1989). Sosisler düşük sıcaklıklarda depolandıklarında bozulma belirtilerinin görülme süresi de uzamaktadır (Korkeala vd. 1989). Nowak ve Krysiak (2005), sıcaklık ne olursa olsun vakum ambalajlı frankfurterlerde LAB'in baskın flora olduğunu belirtmişlerdir. Bozulmuş sosislerde *Leuconostoc mesenteroides*, *L. fermentum* ve *Weisella viridescens* organizmalarını izole etmişler ve frankfurterlerdeki duyuşal değişimin bakteri sayısıyla değil, bozulma yapan bakteri türüyle ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Apaydın vd. (2008), Erzurum marketlerinden alınan vakum ambalajlı frankfurterlerin mikrobiyel kalitesini belirledikleri araştırmalarında, aerob mezofil, LAB, *Enterococcus* ve *Bacillus* sayılarının sırasıyla <3.3-8, <2-8.15, <2-5.04, <2-4.46 log kob/g arasında

değiştiğini, maya-küf sayısının % 96.7 örnekte <3.3 logkob/g olduğunu belirlemişlerdir. *Enterobacteriaceae* ve koliform grubu bakteri sayıları ise, % 93.3 örnekte <1 log kob/g olduğu saptanmıştır.

Gökoğlu (2010), yerel bir işletmenin sosis işleme hattında altı farklı aşamada alınan örnekler ile sosislerin işlenmesi sırasında mikrobiyel kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi için yürüttükleri çalışmada; kıyma, hamur, doldurulmuş çiğ sosis, pişmiş sosis, soyulmuş sosis ve pastörize sosis örneklerini mikrobiyolojik açıdan incelemişlerdir. Kıymada toplam mezofilik aerobik bakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, maya ve küf sayıları sırasıyla 7.02, 3.83, 4.42 ve 1.62 log kob/g olarak bulunmuş olup pişirme sırasında uygulanan ısıl işlemin mikrorganizma sayısında önemli bir azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Pişmiş sosislerin toplam mezofilik aerobik bakteri (3.93 log kob/g) ve *S. aureus* (1.08 log kob/g) sayıları azalmış *E. coli* ve maya-küf ise tespit edilememiştir. Elde edilen sonuçlara göre birinci kontaminasyon kaynağı olarak hammadde ve baharatlar belirlenirken, ikinci kaynak personel ve alet-ekipman olarak belirlenmiştir. Sosis üretiminin bütün aşamalarında mikroorganizma sayılarının insan sağlığı için tehlike oluşturabilecek düzeyde olmadığı ve son ürünün mikrobiyolojik olarak kritik limitlere uyduğu gösterilmiştir. Tüketici sağlığı açısından güvenli sosis üretimi için sosislerin uygun sıcaklık ve sürede pişirilmesi, son ürünün pastörize edilmesi ve üretimde kullanılan alet-ekipman temizliğine ve hammadde kalitesine dikkat edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Sosis tipi ürünlerde ısıl işlem sonrası işlemler sırasında olası kontaminasyonu önlemek için kimyasal ve kimyasal olmayan birçok uygulama yapılmaktadır. Kimyasal uygulamalarla ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Bu çalışmalarda çoğunlukla üretim sonrası en önemli kontaminasyon kaynağı patojen *L. monocytogenes* organizmasının eliminasyonu hedeflenmiştir.

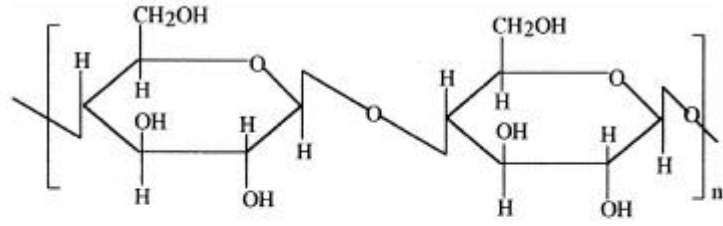
Sommers vd. (2003), *L. monocytogenes* ile inoküle ettikleri frankfurterleri ambalajlama öncesi farklı konsantrasyonlarda (% 1, % 5 ve % 10) sitrik asit çözeltisi ile muamele etmişler ve %10'luk sitrik asit çözeltisine daldırmanın önemli düzeyde mikroorganizma yıkımına neden olduğunu belirlemişlerdir. Stekelenburg (2003) ise, *Lactobacillus sake*

ve *L. monocytogenes* inoküle ettikleri frankfurter sosis hamuruna % 0.1 Na diasetat, % 3 K laktat, % 2 K laktat/Na diasetat karışımı, % 2.5 K laktat/Na diasetat karışımı ve %3 K laktat/Na diasetat karışımı ilave etmişler ve % 2 ve % 3 K laktat/Na diasetat karışımı içeren sosislerin bu mikroorganizmaları inhibe ettiğini ve raf ömründe % 75-125 artış sağlandığını saptamışlardır.

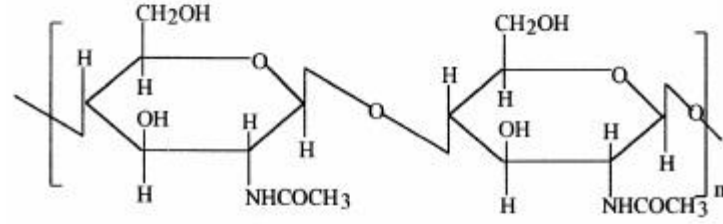
Kimyasal koruyucu katkı maddelerinin mevcut olan faydalarının yanısıra, insan sağlığına yönelik zararları yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durum ise; bilim insanlarının, doğal koruyucu katkı maddelerinin bulunması için araştırmalara önem vermelerine ve bu konuda önemli çalışmalar yapmalarına neden olmuştur. Son zamanlarda adından sıkça bahsedilen doğal ürünlerden biri olan kitosan, dikkat çekmekte ve araştırmacılar tarafından bu konuda çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Kitosan'ın birçok bakteri türü, küf ve mayalar üzerine etki ettiği bildirilmiştir (Sudarshan vd. 1992, Devlieghere vd. 2004, Liu vd. 2004, Chien vd. 2007).

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilmektedir. Kitin hakkındaki ilk bilgi 1811 yılında Frechman Braconnot tarafından verilmiştir. Kitin, β -1,4- glikozidik bağlara sahip N-asetil-D-glukozamin (GlcNAc) rezidülerinden oluşmuş, selülozdan sonra ikinci önemli biyopolimerdir (Ruiz-Herrera 1978). Kitinin birincil yapısı şekil 2.1'de görülmektedir. Polikasyonik özelliğe sahip olan kitosanın çözünürlüğü ve aktivitesi kitinden daha fazladır ve gıda uygulamalarında çok geniş kullanım olanağına sahiptir. Ticari kitosan ise tamamen kitinin alkali deasetilasyonu ile elde edilmektedir.

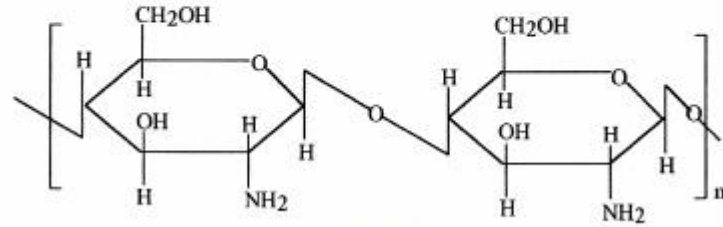
Kitosan, polisakkaritler içerisinde oldukça önemli bir yeri olan ve doğada yaygın olarak bulunan doğal bir polimerdir. Kitosan üzerine yapılan çalışmaların fazlalığı sadece doğal olarak çok bulunmasından değil aynı zamanda toksik olmaması ve biyoyıkılabilir olmasından kaynaklanmaktadır. Kitosan doğal olarak yengeç, istakoz gibi kabuklular ve funguslarda bulunur (Goosen 1997). Kitosan, 3 çeşit reaktif fonksiyonel gruba sahiptir. C-2, C-3 ve C-6 pozisyonlarında birinci ve ikinci hidroksil gruplarında birer amino grubu bulunmaktadır (Terbojevich ve Muzarelli 2000).



selüloz



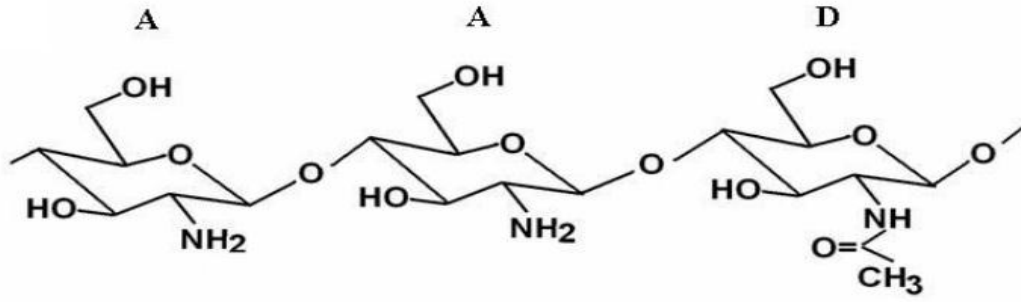
kitin



kitosan

Şekil 2.1 Selüloz, kitin ve kitosanın yapısı (Kumar 2000)

Kitosan, glukozamin ünitelerinden oluşan düz β - 1,4 polimer yapısındadır ve D-glukozamin (D) ve 2-asetamido-2-deoksi-D-glukozamin (A) monomerlerinden oluşan bir polisakkarittir. D monomerleri N-deasetile, A monomerleri N-asetile monomerlerini ifade eder. Monomerler birbirlerine selüloz molekülüne benzer şekilde β -(1 $\rightarrow$ 4) diekvatoryal bağlarla bağlıdır. Bu yapı, kitosan molekülüne yüksek zincir sıkılığı ve bu sayede büyük molekül konformasyonu ve viskoz çözelti oluşturma imkanı oluşturur. Monomerler üzerindeki asetil grupları da moleküller arası hidrojen bağı dolayısıyla zincir sıkılığına katkıda bulunmaktadır (Anthonsen vd. 1993). Şekil 2.2’de kitosan molekülü görülmektedir.



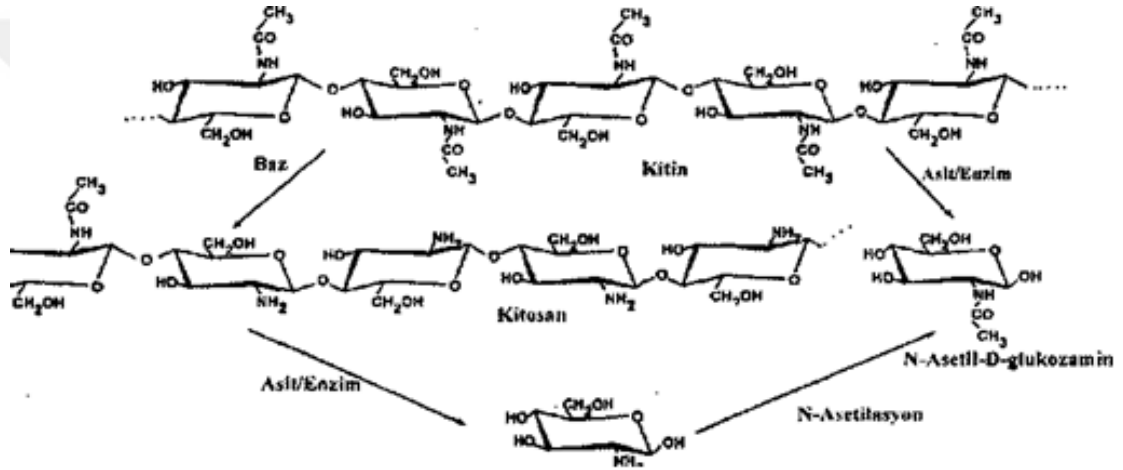
Şekil 2.2 Kitosan molekül yapısı (A: D-glukozamin monomerini, D: 2-asetamido-2-deoksi-D-glukozamin monomerini temsil etmektedir.) (Prajapati 2009)

Kitosanın kitine göre iki büyük avantajı bulunmaktadır. Bunlardan birincisi kitini çözmek için lityum klorür ve dimetilasetamin gibi toksik özellikte olabilen çözenler kullanılmasına karşın kitosanın seyreltik organik asit çözeltilerinde kolayca çözünmesidir. İkinci avantajı ise birçok kimyasal reaksiyon için aktif kısım olan serbest amin gruplarına sahip olmasıdır (Demir ve Seventekin 2009).

Kitosanın yakın zamanda enkapsülasyon ve immobilizasyon teknolojisinde kullanımı çok artmıştır. Ticari ürünlerde deasetilasyon derecesi (% DD) % 60 ile % 100 arasında değişmektedir. Ticari kitosan ürünlerinin ortalama molekül ağırlığı 3800-2000 dalton arasında değişmektedir. Kitinin, suda çözünmüş bol miktarda kostikle deasetilasyonu kitosan sentezinde sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle % 98'e varan verimlilikte kitosan üretilebilir (Zhuangdong 2007).

Kitinden kısmi deasetilasyonla kitosan elde etmek amacıyla; kitosan üretiminde kullanılacak su ürünlerinin kabukları öncelikle kum ve diğer yabancı maddelerinden iyice yıkanmak suretiyle arındırılır. Daha sonra kabuk üzerinde kalmış doku kalıntılarının uzaklaştırılması için deproteinizasyon işlemi uygulanır. Bu amaçla kabuklar % 3 NaOH ile 30 dakika kadar kaynatılır; süre sonunda soğutulur ve hiçbir alkali kalıntısı kalmayacak şekilde su ile iyice durulanır. Bir sonraki işlem demineralizasyon olup kabukların 30 dakika süreyle % 3 HCl ile muamele edilmesinden ibarettir. Bu işlemi takiben kabuklar iyice yıkanır ve ardından su oranı % 6' nın altına düşecek şekilde preslenir. Bu şekilde kitin elde edilmiş olur. Kitin, asıl işlem olan deasetilasyon amacıyla kostik soda içinde 90-95°C'de 1.5 saat kadar ısıtılır; süzdürülür

ve sonradan alkali kalmayacak şekilde iyice yıkanır. Fazla su preslenerek uzaklaştırılır. Bu aşamada kitosanın yaş formu elde edilmiş olur. Yaş kitosanın nem oranı % 5' in altında olacak şekilde güneşte kurutulur veya bir kurutucu içinde bekletilir. İnce tabakalar halinde elde edilen kitosan toz haline getirilir ve paketlenir. Kuru ortamda 3 ay kadar saklanır. 1000 gram kuru kabuktan yaklaşık 140 gram kitin (% 14), 100 gram kitosan (% 10) elde edilebilmektedir. Ticari olarak pazarlanan kitosanların deasetilasyon derecesi % 70' in üzerinde olup molekül ağırlıkları 100.000 ile 1.2 milyon Da arasında değişmektedir (Terbojevich ve Muzarelli 2000, Roller 2003). Şekil 2.3'de kitinden kitosanın elde ediliş şeması verilmektedir.



Şekil 2.3 Kitinden kitosan elde edilmesi (Kurt ve Zorba 2005)

Beyaz renkte, kokusuz ve tatsız, yarı şeffaf partikül veya toz halinde bir madde olan kitosan sindirim enzimlerine dayanıklıdır. Buna karşın bazı bakteriler tarafından parçalanır (No vd. 2006). Kitosan, su, alkali ve organik çözücülerde çözünmez fakat $\text{pH} < 6$ olduğu durumlar için pek çok organik asit çözeltisinde çözünür (Goosen 1997). Çözündürmek için asetik, formik, laktik gibi organik asitler kullanılır. İnorganik asitlerde çözünme sınırlıdır (% 1 hidroklorik asitte çözünür; sülfirik ve fosforik asitte asitte çözünmez). Kitosan çözeltilerinin pH 7 ve üzerinde stabilitesi bozulur. Aynı şekilde oda sıcaklığında uzun süre muhafaza kitosan çözeltilerinin stabilitesini olumsuz etkilemektedir (No vd. 2006).

Kitosanın en önemli özelliklerinden birisi şelatlamadır. Kitosan seçilen materyale göre örneğin kolesterol, yağlar, metal iyonları, proteinler ve tümör hücrelerini kuvvetli şekilde şelatlamaktadır. Şelatlama özelliği gıda hazırlama, sağlık, su temizleme ve farmösötik alanında sıkça kullanılmaktadır. Diğer özellikler tümör gelişiminin inhibisyonu, antifungal etki, yaraların iyileşmesinin hızlanması, immün sistemin stimülasyonu ve bitki çimlenmesinin hızlandırılması olarak verilebilir. Kitosanın kalitesini ürünün saflığı, viskozitesi, deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı ve polimorfoz yapısı belirler. Kitinin, kitosana dönüşümündeki proses şartları bu özelliklerin belirlenmesinde etkindir (Goosen 1997).

Kitin / Kitosan türevleri çok güçlü biyolojik aktiviteye sahip olmakla birlikte, yüksek moleküler ağırlık ve yüksek viskozite kullanımlarını kısıtlayabilir (Seo vd. 2000). Buna ek olarak, bu tür kitinaz ve kitosanaz enzimlerine sahip olmayan birçok hayvan bağırsağında, özellikle insan için, doğrudan kitin ve kitosan β -glukozidik bağlantısını indirgemek bağırsakta emilimini etkiler (Fukamizo ve Brzezinski 1997).

Kitosan, besleyici ve sağlık fonksiyonlarıyla öne çıkan bir polisakkarittir. Yapılan çalışmalarda, kitosanın LDL kolesterol seviyesini düşürdüğü ve HDL kolesterol seviyesini yükselttiği bulunmuştur (Maezaki vd. 1993). Bunun dışında kalsiyum emilimini arttırdığı, yağ emilimi ve yağ bağlayıcı özelliğinden dolayı zayıflatıcı etkisi olduğu da çeşitli çalışmalarca bildirilmiştir (Prajapati 2009).

Kitosanın antioksidan aktivitesinin, onun antienflamatuar ve antimikrobiyel özelliklerinden dolayı sağlandığı kabul edilir (Devlieghere vd. 2004, Kim ve Thomas 2007). Kitosanın antimikrobiyel etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da, en çok kabul gören mekanizma, pozitif yüklü kitosan molekülü ve negatif yüklü mikrobiyel hücre membranları arasındaki etkileşimle ilişkilendirilmektedir. Bu elektrostatik etkileşim, ozmotik dengesizliğe neden olmaktadır. Hücrelerarası boşluklarda yer alan potasyum iyonları, proteinler, nükleik asitler, vb. gibi elektrolitler membran geçirgenliğini değiştirir (Tsai ve Su 1999). Helander vd. (2001), elektron mikroskobu ile yaptığı incelemede kitosanın hücrenin dış membranını ağ gibi sardığını ve hücrenin dış yüzeyinde hasarlar oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Kitosanın

antimikrobiyel aktivitesi; deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, pH ve sıcaklık gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Rao vd. 2005). Bir kitosan ürünü olan “Chitoclear”, 2009 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde FDA tarafından “GRAS” listesine alınmıştır (Baldrick 2010).

Kitosanın antimikrobiyel, antitümör, antioksidan ve hipokolesterolemik etkiler gibi yararlı biyolojik fonksiyonlara sahip olduğu bildirilmiştir. Kitosan ve oligomerleri (kitinin deasetillenmiş formu) gıda ve ilaç endüstrilerinin büyük ilgisini çekmektedirler. Buna ek olarak, kitosan ve türevlerinin gıda katkı ürünlerinin üretiminde biyo dönüşüm, gıda atıklarından çıkan atık malzemenin geri kazanılması ve meyve suyu durultma ve nötralize etme dahil olmak üzere geniş bir kullanım aralığı vardır (Jo vd. 2001).

Kitosanın biyolojik olarak uyumlu, toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen, biyofonksiyonel olduğu tespit edilmiş ve güçlü bir antimikrobiyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Darmadji ve Izumimoto 1994, Jo vd. 2001). Chen vd. tarafından 2002 yılında, kitosan ambalaj malzemesi olarak kullanılan diğer biyomolekül-temelli aktif filmler ile karşılaştırılmıştır ve bildirilen sonuçlar kitosanın antibakteriyel aktivitesi ve iki değerli metalleri şelatlama yeteneği nedeniyle daha fazla avantajlara sahip olduğunu göstermiştir. Kitosan filmler çeşitli gıdaların kalitesinin korunması için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Quintavalla ve Vicini 2002’de; antimikrobiyel filmler, çeşitli organik asitler ve kitosan matrisi içindeki uçucu yağlarla iç kaynaklı bakterilerin (laktik asit bakterileri ve *Enterobacteriaceae*) ya da inoküle edilmiş bakterilerin (*Lactobacillus sakei* ve *Serratia liquefaciens*) gelişimini inhibe etmek için, bu biyolojik bazlı filmlerle hazırlanmış vakumlu işlenmiş et ürünleri üzerinde incelemişlerdir. Organik asitlerin (asetik, propiyonik asit) polimer matrisinin iç ve dış çevresi arasındaki iyon konsantrasyonu salınımı arasındaki fark yüksek olduğunda, başlangıçta hızlı olsa da daha sonra zamanla asitlerin serbest bırakılması azalmıştır. Aynı zamanda, 21 gün boyunca 4°C’de depolamadan sonra *Enterobacteriaceae* ve *S. liquefaciens* gelişiminin gecikmesi ya da tamamen inhibe olmasına rağmen çalışılan biyolojik bazlı filmlerin antimikrobiyel aktivitesi laktik asit bakterilerinin gelişimini ve etkinliğini etkilemediği görülmüştür. En

güçlü inhibisyonu, asit salınımının yavaş olduğu, daha düşük su aktivitesi değerleri (Bologna) gösteren sinamaldehyd içeren filmlerle elde edilmiştir (Aider 2010).

2.1 Antimikrobiyel Aktivite

Kitosan, gıdalardaki hedef mikroorganizmalara karşı gösterdiği inhibe edici etkisi ile önemli bir antimikrobiyel olarak kabul edilmektedir ve birçok çalışmada bu etkisi ortaya konulmuştur. Kitosandaki antimikrobiyel aktivite, kitosanın cinsine göre önemli derecede değişiklik göstermektedir. Deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, hedef organizma ve uygulandığı ortam koşulları antimikrobiyel aktiviteyi etkileyen faktörlerdir. pH, iyonik güç ve kitosanla elektrostatik ve/veya kovalent bağ oluşturan, reaksiyona yatkın çözünenlerin varlığı ise aktif amin grubunun reaktivitesini perdeler veya tamamen engelleyebilir. Kitosanın antimikrobiyel aktivitesi üzerinde mevcut literatür bilgileri değişmekle birlikte ve bazen çelişkili sonuçlar bildirilse de genellikle maya ve küfler, kitosana karşı en duyarlı grup olarak kabul edilmektedir. Bunu Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler takip etmektedir. Maya gelişimine kitosanın etkisi üzerine Ralston vd. (1964) yaptıkları bir çalışmada, ekmek mayası *Saccharomyces cerevisiae* 3.6 mg/L'lik bir tampon çözeltideki gibi düşük bir kitosan konsantrasyonuyla fermentasyon aktivitesini durdurduğu gösterilmiştir. Ayrıca, benzer bir antifungal aktivite *Fusarium solani* için 1984'te Kendra ve Hadwiger tarafından rapor edilmiştir, bir sıvı besi ortamı içinde 4 mg/L kitosan ile gelişimi durdurulmuştur. 1979'da Allan ve Hadwiger, *Cytosporina* spp. İzolatı 75 mg/L kitosan ile inhibe edebilmişler, fakat aynı cinsten ikinci bir izolat 1000 mg/L'ye kadar olan kitosan konsantrasyonundan etkilenmemiştir. Tüm bu deneysel bulgular kitosanın antimikrobiyel ve antifungal aktivitesini çeşitli iç ve dış faktörlerin önemli düzeyde etkilediğini göstermektedir. Düşük molekül ağırlıklı kitosanın (10 kDa'dan az) yüksek molekül ağırlığına sahip kitosandan daha fazla antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu Uchida, Izume ve Ohtakara tarafından 1989'da gösterilmiştir. Bu davranış, düşük molekül ağırlıklı kitosanın, yüksek molekül ağırlıklı kitosana göre sulu ortam içinde daha fazla çözünür olmasına ve bu yüksek çözünürlükte hedeflenen mikroorganizmalara daha iyi etki etmesine bağlanmaktadır. Bununla birlikte, düşük molekül ağırlığındaki kitosan elverişli olsa da, yine de en az yedi temel birimin (glikozamin) polimerizasyon derecesi

gereklidir. Düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlar çok az ya da hiçbir antibakteriyel veya antifugal aktiviteye sahip değildir. Yüksek deasetillenmiş kitosanlar daha yüksek bir oranda asetillenmiş amino gruplarına sahip olduklarından daha fazla antimikrobiyel aktiviteye sahiptirler. Yüksek deasetilasyon derecesinde kitosan çözünürlüğü ve yük yoğunluğu artar. Bu iki faktör, bakteri hücrelerine kitosanın yapışması için önemlidir. Düşük pH (5.5 kadar) değerleri, daha yüksek çözünürlük ve protonlaşma nedeniyle asidik pH aralığında kitosanın antimikrobiyel aktivitesini artırır. Kitosanın pozitif yükü ve asidik ortamının (düşük pH) sinerjik etkisi de birçok araştırmacı tarafından işaret edilmiştir (Aider 2010).

Kitosan antimikrobiyel aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi de bildirilmiştir. Örneğin Tsai ve Su 1999'da, 37°C'deki kitosanın antimikrobiyel aktivitesinin soğutma sıcaklıklarından önemli ölçüde daha yüksek olduğu göstermiştir. Bu durum, sıcaklık arttıkça azalan kitosan çözeltisinin viskozitesine, sıcaklığın etkisi ile açıklanabilir. Bununla birlikte, çevreleyen matrisin kitosanın antimikrobiyal aktivitesi üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir. Eşsiz bir katyonik karakteri olmasıyla, kitosan verici / alıcı etkileşim yoluyla alginatlar, pektinler, proteinler, örneğin polifosfat gibi inorganik polielektrolitler ve pozitif yüklü iyon türleri gibi pek çok farklı gıda bileşenlerine bağlanan bir potansiyele sahiptir. Karmaşık gıda matrisleri ise yukarıda belirtilen özellik nedeniyle kitosanın antimikrobiyel etkisini azaltabilir (Aider 2010).

Kitosanın katyonik yapısı NH_3^+ ($\text{pKa}=6.3$)'dan ve antimikrobiyel özelliği ise polikatonik yapısından kaynaklanmaktadır. Bakteri membranının polianyonik yapısı, polikatonik kitosana elektrostatik etkileşime girmesini sağlar ve bu etkileşim sonucu bakteri hayati fonksiyonlarını yerine getiremez hale gelir. Ayrıca kitosanın DNA ile etkileşime girebiliyor olması da göz önüne alındığında kitosanın antimikrobiyel ajan olarak kullanımına olanak sağlar (Raafat vd. 2008).

Et ve ürünlerinde istenmeyen mikrobiyel gelişimin engellenmesi amacıyla antimikrobiyel maddeler yüzeye püskürtülerek, ürün antimikrobiyel çözeltiye daldırılarak ya da toz halde doğrudan ürün formülasyonuna katılarak uygulanmaktadır. Fakat bu uygulamalarda, antimikrobiyel maddelerin etkinliği, gıda bileşenleriyle

etkileşime girmesi ve gıda içine fazla salınımdan kaynaklanan zamanla aktif konsantrasyondaki azalma sonucu kaybolur (Kolsarıcı ve Candoğan 1995, Ha vd. 2001, Kim vd. 2002). Antimikrobiyel ajanların yenilebilir film materyalinden gıdaya kontrollü salınımın sağlanması ile bu sorunların üstesinden gelmek olasıdır (Kim vd. 2002). Bu şekilde antimikrobiyel maddelerin ambalajdan gıdaya salınımı uzun bir periyotta gerçekleştiğinden, ürünün depolanması ve taşınması esnasında aktivite de daha uzun süreli olur (Vermeiren vd. 1999, Quintavalla ve Vicini 2002).

Spesifik hedef mikroorganizmalar için kitosanın minimum inhibitör etki konsantrasyonu % 0.01 ile % 1 arasında değişmektedir ve bu etki ortam pH'sından, kitosanın polimerizasyon derecesinden ve lipitler ve proteinler gibi etkisini azaltıcı maddelerin varlığı veya yokluğundan etkilenmektedir (Knowles ve Roller 2001, Roller ve Covill 1999, 2000, Tsai ve Su 1999).

2.2 Kitosan Filmlerin Antibakteriyel Aktivitesini Etkileyen Faktörler

2.2.1 pH'nın etkisi

2000 yılında Rhoades ve Roller, kitosan ve kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyel aktivitesinin pH azaltıldığında arttığını göstermiştir. Bu etki, bakteriyel hücrelerde asit stresini engelleyici etkisi nedeniyle sinerjik kabul edilmektedir. Liu vd. 2004 yılında doğada benzersiz bir katyonik polisakkarit olan kitosanın, elektrostatik etkileşim yoluyla bakteriyel hücre duvarına bağlanma özelliğiyle ve hücrede çözünür madde ya da besin taşınımını bozarak hasara neden olduğunu bildirmişlerdir. Kitosan ve türevlerinin antimikrobiyel etki mekanizması çok iyi incelenmiştir. Helander vd. (2001) yılında önerdikleri teoriye göre, 6.3'den daha düşük pH değerlerinde kitosan molekülündeki pozitif yüklü amin (NH_3^+) grupları negatif yükler bulunduran mikrobiyel hücre zarları ile etkileşmektedir ve bu durum hücre geçirgenliğini bozarak hücre içi bileşenlerin sızmasına yol açmaktadır (Aider 2010).

Farklı mikroorganizma gruplarına karşı kitosanın antimikrobiyal aktivitesi son yıllarda dikkat çekmektedir. Kitosan, sadece asidik ortamda antibakteriyel aktivite gösterir. Bunun anlamı, genellikle yüksek pH değerlerinde kitosanın çözünürlüğü iyi değildir (No vd. 2003, Liu vd. 2004). Kitosan, örneğin asetik asit (Devlieghere vd. 2004), laktik asit (Papineau vd. 1991), glutamik asit (Roller ve Covill, 1999, Sudharshan vd. 1992) ve hidroklorik asit (Chung vd. 2003) gibi asitlerde çözündürülerek gerekli düşük pH ortamı da oluşturulmuş olmaktadır.

2.2.2 İç faktörler

İç faktörler önemli ölçüde kitosanın antimikrobiyel ve antifungal aktivitesini etkileyebilir. Orta düzey molekül ağırlığına sahip kitosanın 10 kDa'dan daha düşük molekül ağırlığına sahip kitosandan daha fazla antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu ve antibakteriyel etki için en az yedi monomer birimini gerektiğini Dutta vd. 2009 yılında ortaya koymuştur. Çok düşük molekül ağırlığına sahip kitosan çok az ya da hiçbir antimikrobiyel aktiviteye sahip değildir. Ayrıca deasetilasyon derecesi yüksek kitosanın daha yüksek antimikrobiyel aktivite gösterdiği ortaya konmuştur. Antimikrobiyel etki, kitosanın çözünürlük ve yük yoğunluğu ve deasetilasyon derecesiyle doğrudan etkilenir (Aider 2010).

Kitosanın antimikrobiyel aktivitesi, molekül ağırlığına ve deasetilasyonu derecesine bağlıdır (Jeon vd. 2001, Yoshihiko vd. 2003).

2.3 Kitosanın Gıda Uygulamalarındaki Antimikrobiyel Etkinliği

Kitosanın antimikrobiyel etkinliği bizzat gıda maddelerinde denenmiştir. Et ve et ürünleri bu kapsamda en çok çalışılan grubu oluşturmuştur ve bunlarda kitosanın mikrobiyel çoğalmanın engellenmesi veya mikroorganizmaların neden olduğu bozulmaların geciktirilmesi ile ilgili etkinliği birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Sagoo vd. (2002), % 0.3-0.6 konsantrasyonlarında domuz eti kıymasına katılan kitosanın 4°C'de yapılan muhafazanın ilk günü içinde toplam aerob mezofil

mikroorganizma, küf-maya ve laktik asit bakteri sayısında 3 log kob/g azalmaya yol açtığını; mikroorganizma sayısının 18 günlük muhafaza periyodu boyunca kitosan içermeyen kontrol grubunda diğerlerinden daima daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer bulgular % 1.0 konsantrasyondaki kitosan çözeltilerine daldırılmış domuz sosislerinde de görülmüş ve mikroorganizma sayılarında 7°C’de 18 gün depolama sonunda 1-3 log kob/g azalma saptanmıştır.

Youn vd. (2004) ise % 0.3’lük laktik asitte çözündürülmüş % 1 kitosan ekli baharat katılmış sığır etinde raf ömrü üzerine yaptıkları çalışmada, kitosan ilavesinin toplam bakteri yükünü azaltıp raf ömrünü arttırdığı ve lipit oksidasyonunda belirgin bir azalmaya neden olduğu sonucuna varmışlardır.

Darmadji ve Izumimuto (1994), kitosanın % 0.5-1.0’lik konsantrasyonlarının köftelerdeki *B. subtilis*, *Pseudomonas* gibi bakterilerin sayısını 1-2 log azalttığını ve kokuşmayı yavaşlattığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, % 0.1’in üzerindeki konsantrasyonlarda ise *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Micrococcus varians* gibi fermente et ürünlerinde önemli starter bakterilerinin çoğalmalarını engellediğine işaret edilmiştir. Roller vd. (2002), kitosanın domuz sosislerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, % 1.0 konsantrasyonda kitosan ilave edilmiş sosislerde 7°C’de 18 günlük depolama sonunda toplam bakteri, küf-maya ve laktik asit bakteri sayılarında 1-3 log kob/g azalma görüldüğünü, daha düşük konsantrasyonda (% 0.5) ise etkinin olmadığını rapor etmişlerdir.

Zivanovic vd. (2005), kitosan filmlerini hem tek başına hem de kekik yağı ile birlikte *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiş Bologna et ürününde denemişlerdir. Filmle kaplanan ürünler 10°C’de 5 gün muhafaza edilmiştir. Muhafazanın sonunda yapılan mikrobiyolojik analizlerde kitosan filminin *L. monocytogenes* sayısını 2 log kob/g; % 1 ve % 2 kekik esansiyel yağı içeren kitosan filmlerinin ise 3.6 ve 4 log kob/g düzeylerinde azalttığı saptanmıştır.

Tsai vd. (2002), kitosanın etkisini balık eti üzerinde araştırmışlardır. Yapılan çalışmada balık filetolarının % 1 kitosan (yüksek deasetilasyon derecesine sahip) ile muamele edilmesinin uçucu bazik nitrojen içeriğindeki artışı geciktirdiği; mezofil, psikrotrof, koliform, *Aeromonas* ve *Vibrio* üremesini yavaşlattığı; raf ömrünü 5 günden 9 güne uzattığı sonucuna varmışlardır. Dondurularak depolanan gökkuşağı alabalık filetolarının kalitesine kitosanla glazelemenin etkisinin 6 aylık donmuş depolama süresince incelendiği bir çalışmada, kitosanla (KG, % 1, w/w), asetik asitle (AG, % 1, w/w) ve su ile (SG) glazeli ve glazesiz kontrol (K) grupları oluşturulmuş ve -18°C'de 6 ay depolanmıştır. Glazeli ve glazesiz filetolarda depolama boyunca çözme kaybı, SG, AG ve K örneklerinde artarken, KG örneklerde azalmıştır. Kitosanla glazeleme, tiyobarbiturik asit (TBA) ve peroksit değeri analizleri ile izlenen lipid oksidasyonu ile toplam sülfidril ve karbonil analizleriyle izlenen protein oksidasyonunu önemli derecede azaltmıştır. Depolama boyunca mikrobiyel yük tüm gruplarda önemli düzeyde azalma göstermiştir. Kitosan ile glazeleme, toplam aerob psikrotrof bakteri yükünü 2.8 log kob/g düzeyinde azaltmıştır. Sonuçlar, kitosanla glazelemenin dondurularak depolanan gökkuşağı alabalık filetolarının kalitesini korumada etkili olduğunu göstermiştir (Turan ve Soyer 2011).

Ouattara vd. (2000), bir kitosan matrisi içine asetik asit ve propiyonik asit ilave ettikleri antimikrobiyel filmleri değerlendirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada laurik asit veya bir esansiyel yağ olan sinamaldehyd eklenerek ya da eklenmeden hazırlanan antimikrobiyel filmleri karşılaştırmışlardır. Bu filmleri doğrudan bologna, pişmiş jambon ve pastırmaya uygulamışlardır. Propionik asit, asetik asitten daha hızlı bir oranda kitosan matrisinden serbest bırakılmış ve sinamaldehyd yerine, laurik asit eklenmesi, kitosan matrisinde asetik asit salınımını azaltmıştır. Laktik asit bakterileri yapılan çalışmada antimikrobiyel filmlerden etkilenmemiştir, film uygulamasıyla *Enterobacteriaceae* ve *Serratia liquefaciens* gelişmesi yavaşlamış ya da tamamen inhibe olmuştur.

Hazır köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine kitosanın etkisinin incelendiği bir çalışmada değişik seviyelerdeki kitosanın hazır köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Farklı seviyelerde kitosan (0, 50, 100, 250 ve 500 mg/kg) içeren köfte hamurundan şekillendirilen köfte örnekleri polietilen filmle kaplandıktan

sonra 4°C’de 8 gün boyunca muhafaza edilmiştir. Muhafaza periyodu sırasında örnekler duyuşal özellikleri ve mikroorganizma sayıları yönünden analiz edilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kitosan ilavesi kullanılan miktara bağılı olarak mikrobiyel üremeyi yavaşlatmış ve raf ömründe artışa neden olmuştur, Sonuçlar hazır köftelerin mikrobiyolojik kalitesini artırmak ve raf ömrünü uzatmak için 100 mg/kg’dan az olmamak üzere kitosan ilavesinin doğıal bir katkı olarak yararlı olabileceğini göstermektedir (Aldemir ve Bostan 2009).

Qin vd. (2006), hemiselülozun depolimerizasyonuyla farklı molekül ağırlığına sahip kitosan örnekleri hazırlamışlar ve asetik anhidritin N-asetilasyonu ile ve suda çözünür yarı N-asetile kitosan örnekleri elde etmişlerdir. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* gelişimi üzerine molekül ağırlıkları 1.4×10^3 - 4.0×10^5 arasında değışen kitosanın etkisini mikroklorimetriyle araştırılmıştır. Suda çözünür yarı N-asetile kitosanların ve kito oligomerlerin önemli bir antimikrobiyel aktiviteye sahip olmadığını saptamışlardır. Ayrıca, suda çözünür kitosanlar ve kito oligomerleri *C. albicans* büyümesini teşvik etmiştir. Bunun aksine, asidik ortam içinde suda çözülmeyen kitosan, bu mikroorganizmalara karşı önleyici etki göstermiştir. Test numunelerinde antimikrobiyel açıdan 5×10^4 molekül ağırlıklı ve suda çözülmeyen kitosanlar optimum sonuç vermiştir. Suda çözünmeyen kitosanın antimikrobiyel mekanizmasını hücrenin etrafında geçirimsiz bir tabaka oluşturarak sağladığı ileri sürülmüştür. Doğal kitosanın hafif depolimerizasyonu ile oluşan suda çözünmeyen kitosanın gıda korunumunda optimum sonuç verdiği bulunmuştur.

Jo vd. (2001), kitosan oligomeri ilavesiyle hazırlanmış emülsiyon tipi sosisler (molekül ağırlığı 5000 Da, % 0.2) üzerinde çalışmış ve oluşturulan numuneler bir kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sosisler, aerobik veya vakum paketli olarak 4°C deki buzdolabında 3 hafta boyunca muhafaza edilmiştir. Sonuç olarak; kitosan oligomeri katkılı sosislerde mikrobiyel gelişim açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir; fakat 3 hafta sonunda yağ oksidasyonunun aerobik paketli sosislerde, kontrol numunesine oranla daha az olduğu tespit edilmiştir. Kitosan oligameri ilaveli sosisler daha yüksek Hunter L* ve b* renk değeri vermiştir. Hunter a* renk değeri ise kitosan oligomeri katkılı sosislerde daha az saptanırken, paketlenme türü fark etmeksizin

saklama sırasında artış göstermiştir. Duyusal paneller aracılığı ile renk, lezzet, doku, genel kabul ve mekanik doku analizleri incelemeleri bu çalışmada uygulanmış ama bu özellikler belirgin bir farklılık göstermemiştir. Tüm kriterler göz önünde bulundurulduğunda % 0.2 kitosan ekli sosisler kalite açısından uygun bulunmuştur.

Farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltilerine daldırılan soyulmuş sosislerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; sosis örnekleri % 0.25'lik, % 0.5'lik ve % 1'lik kitosan çözeltilerine daldırılmıştır. Ardından vakum paketlenerek 4°C'de altmış gün depolanmıştır. Her üç yoğunluktaki kitosan uygulamasının ürünün duyusal özelliklerinde olumsuz bir etki yaratmadığı, hatta kontrol grubuna göre daha parlak kırmızımtırak renge sahip olduğu saptanmıştır. Mikrobiyolojik yönden soğuk depolamanın altmışıncı gününde, kontrol grubu sosis örneklerinin laktik asit bakteri sayısı 10.20 log kob/g'a ulaşırken % 0.25, % 0.5 ve % 1 konsantrasyonlarda kitosan uygulaması yapılan sosis örneklerinde, sırasıyla 5.03 log kob/g, 4.25 log kob/g, 3.99 log kob/g olarak saptanmıştır. Ayrıca, her üç konsantrasyondaki kitosan uygulamalarının sosis grupları üzerindeki toplam aerob mezofil mikroorganizma, toplam psikrotrof mikroorganizma ve küf-maya sayısı üzerine güçlü bir antimikrobiyel etki gösterdiği saptanmıştır. Kontrol grubu sosis örneklerinde depolamanın yirminci günü vakum ambalaj içerisinde beyazımsı bulanık ve yapışkan nitelikte sıvı birikimi gözlenirken, kitosanla muamele edilmiş sosis örneklerinde altmışıncı günde dahi böyle bir sıvı birikimi gözlenmemiştir. Buna bağlı olarak kitosanla muamele edilmiş sosislerin raf ömründe kontrol grubuna göre önemli bir artış olduğu kaydedilmiştir. Araştırmacılar, sosislere kitosan uygulamasının mikrobiyolojik kaliteyi iyileştirdiği, duyusal yönden bir olumsuzluk yaratmadığı ve raf ömrünü uzattığı, bu nedenle kimyasal koruyucu katkı maddelerine alternatif olabileceği sonucuna varmışlardır (Mahan ve Bostan 2007).

Youn vd. (1999), % 0.2 kitosan (M.A. = 30.000-120.000 Da) içeren sosislerin raf ömrünün uzadığını göstermişlerdir. Molekül ağırlığı 120.000 Da olan kitosan ilave edilmiş sosis, NaNO₂ ilave edilmiş sosise göre daha düşük mikrobiyel yüke sahip olmuş, ama hamurda yüksek viskozite nedeniyle sosis işlemede sorun yaratmıştır. Bu

nedenle, daha düşük viskoziteye sahip, molekül ağırlığı 30.000 Da olan kitosan kullanımı önerilmiştir.

Yeşil çay ekstresi içeren (CGT-film) kitosan film domuz sosislerinin raf ömrünü uzatmak için aktif ambalaj olarak kullanılmıştır. CGT-film ile kaplanmış domuz sosisleri fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri bakımından kitosan filmi (C-film) ile kaplanmış ve kaplama yapılmayan (kontrol) grubuyla karşılaştırılmıştır. Renk, tekstür, lipid oksidasyonu ile ilgili TBA değeri ve toplam aerob mezofil, maya-küf ve laktik asit bakterilerini kapsayan mikrobiyel nitelikleri de dahil olmak üzere domuz sosislerindeki değişiklikler 4°C’de depolama boyunca izlenmiştir. CGT-film ile kaplanmış örneklerin sırasıyla C-film ve kontrol grubuna kıyasla renk, tekstür, TBA değeri, mikrobiyel gelişim ve duyuşal özelliklerinde daha düşük değişim gösterdiği bulunmuştur. Sonuçlar, kitosan filmine yeşil çay ekstresi ilavesinin, filmin antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerini artırdığını ve dolayısıyla soğuk depolama sırasında domuz sosislerinin oksidatif ve mikrobiyel kalite özelliklerini koruyarak raf ömrünü uzattığını ortaya koymuştur (Siripatrawan ve Noiphia 2011).

% 1 ve % 0.5 kitosan (CHI), % 10 ve % 5 zencefil, soğan ve sarımsağın (GOG) sulu ekstrelerinin ve bunların birlikte kullanılmasının (% 1 CHI+ % 10 GOG (Miks 1), % 5 CHI+ % 5 GOG (Miks 2)) haşlanmış domuz eti kalitesi ve raf ömrü üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Mikrobiyolojik (Toplam aerob mezofil bakteri sayısı, TAMB), kimyasal (pH, toplam uçucu bazik azot (TVB-N), peroksit değeri (POV), 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ve duyuşal özellikleri soğuk depolamada 4°C’de 12 gün boyunca periyodik olarak analiz edilmiştir. CHI ve/veya GOG uygulamaları pH, TVB-N, POV, TBA ve TAMB sayısındaki artışı yavaşlatmıştır. CHI, GOG’dan daha iyi bir antibakteriyel olmasına rağmen daha zayıf antioksidan etki göstermiştir. Birlikte kullanıldıklarında ise, haşlanmış domuz etinde antioksidan, antibakteriyel ve duyuşal kalitenin arttığı ve raf ömrünü yaklaşık 5-6 gün uzadığı belirlenmiştir (Cao vd. 2013).

Buzdolabında saklanmış tavuk filetosunun raf ömrü üzerine yapılan bir başka çalışmada, kitosan çözeltisine (1g/100 mL) daldırmanın ve modifiye atmosferde paketlemenin (MAP, % 70 CO₂, % 30 N₂) birlikte etkisi araştırılmıştır. Mikrobiyolojik

(TAMB, *Pseudomonas* spp, LAB ve *Enterobacteriaceae*), fizikokimyasal (gaz bileşimi, pH, renk ve TBA değeri) ve duyuşal (koku ve tat) parametreleri 14 gün süreyle takip edilmiştir. Depolamanın 6. gününde kitosan içeren örneklerin TAMB sayısı (3.9-4.9 log kob/g) normal atmosferde depolanan örneklerin TAMB sayısından (9 log kob/g) önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Araştırmacılar bu sonucun, kitosan ve modifiye atmosfer paketlenmenin birlikte etkisi ile sağlandığını belirtmişlerdir. Kitosan içeren, MAP ambalajlı örneklerin LAB, *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* sayılarında da benzer azalmalar gözlenmiştir. Mikrobiyolojik ve duyuşal verilere göre; aerobik ambalajlı, kitosan uygulanmış, MAP uygulanmış ve kitosan/MAP kombinasyonlu örneklerde raf ömrü, sırasıyla 5, 11, 12 ve 14 gün olmuştur (Latou vd. 2014).

Kitosan ve nane karışımının et ve et ürünlerinde antimikrobiyel ve antioksidan etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (Kanatt vd. 2008), nane ekstraktına kitosan eklemenin nanenin antioksidan aktivitesinde azalmaya yol açmadığını belirlemişlerdir (Sweetie vd. 2007). Kitosan ve nane karışımının minimum inhibitör konsantrasyonunun % 0.05 olduğu ve Gram-pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, kitosan ve nane ekstraktı karışımı ile muamele ettikleri domuz kokteyl salamında 0-3 °C’de raf ömrünün uzadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, soğukta depolanan taze domuz sosislerinin kalite özelliklerine farklı konsantrasyonlarda kitosanın (% 0.5 ve % 1) ve nitritin birlikte etkileri 28 gün boyunca incelenmiştir. Nitrit ilavesi, mikrobiyel bozulmadan sosisleri korumak için yeterli gibi görünse de, kitosan ilave edilen sosislerde mikrobiyel çoğalma önemli düzeyde engellenmiştir. Nitrit içeren örneklerde nitrit miktarı depolama boyunca giderek azalmış ve depolama sonunda tamamen tükenmiştir. Taze domuz sosislerinde lipid oksidasyonu, kitosan konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Kitosan ve nitritin birlikte kullanımı ile daha düşük malonaldehit oluşumu gözlenmiştir (Soultos vd. 2008). Sosisler üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise, % 1’lik kitosan çözeltisine daldırılan standart tip ve soyulmuş tip sosislerin her ikisinde de toplam canlı bakteri, küf-maya, laktik asit bakterileri sayılarının 7 °C’de 18 günün sonunda yaklaşık olarak 1-3 log kob/g azaldığı ve raf ömrünün 7 günden 15 güne uzadığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada % 2’lik ve % 3’lük kitosan uygulamasının, % 1’lik kitosan uygulamasına benzer şekilde etki gösterdiği belirlenmiştir (Sagoo vd. 2002).

Sosis tipi ürünlerde üretim sonrası kontaminasyonu önlemek, tüketici sağlığını korumak ve ürünün raf ömrünü uzatmak açısından oldukça önemlidir. Üretim sonrası en fazla kontaminasyon soyulmuş sosislerin ambalajlanması sırasında olmaktadır. Bu nedenle antimikrobiyel etkisi kanıtlanmış kitosanın farklı konsantrasyonlarına kabuk soyma işleminden hemen sonra kokteyl sosislerin daldırılması ve modifiye atmosferde ambalajlama ile daha uzun bir raf ömrü elde edilebileceği düşünülmüştür. Bu düşünceden hareketle sosisler, % 0.5 ve % 1 konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırılmış ve 3 ay depolama sırasında mikrobiyel kalitede, fizikokimyasal ve duyusal özelliklerdeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Dana eti

Araştırmada materyal olarak 2 yaşındaki sığırdan (dana) elde edilen but etleri ve kabuk yağları kullanılmıştır. Etler, 48 saat 4°C’de muhafaza edilen karkastan alınıp, AYTAÇ Entegre Et Tesislerinin Ar-Ge ünitelerinde (Çerkeş/Çankırı), hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan etin bileşimi % 72.34 nem, % 20.74 protein, % 6.28 yağ ve % 1 kül, pH değeri ise 5.63 olarak belirlenmiştir.

3.1.2 Sosis ingredyenleri ve kılıf materyali

Sosis formülasyonunda yer alan tuz, nitrit, şeker, nişasta, askorbat, askorbik asit, buz, kırmızı toz biber, karabiber, kişniş, sarımsak ve zencefil üretim yapılan işletmenin kullandığı standartlara uygun maddelerdir; kılıf materyali olarak 2 cm çapında geçirgen selüloz kılıf kullanılmıştır (Viscofan, İspanya).

3.1.3 Kitosan ve laktik asit

Çalışmada yengeç kabuklarından elde edilen, orta düzeyde molekül ağırlığına sahip (340 g/mol), deasetilasyon derecesi % 75-85 arasında ve viskozitesi 200-800 cP olan kitosan kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, Co., St. Luis, MO, USA). Laktik asitin gıda katkı maddesi (E270) olarak satılan % 80’lik konsantrasyonu kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Daldırma çözeltilerinin hazırlanması

Sosislerin daldırılacağı çözeltiler % 0.5'lik kitosan (KS1) ve % 1'lik kitosan (KS2), % 2'lik laktik asit (LA) çözeltileri ve destile su (DS)'dur. Tez önerisinde kitosan çözeltilerinin üç farklı konsantrasyonda (% 0.5, % 1 ve % 2) kullanılacağı belirtilmesine karşın, yapılan ön denemeden % 2'lik konsantrasyonun çok yüksek viskozitede çözelti oluşturması ve uygulamada zorluk yaşanması nedeniyle bu grup denemeden çıkartılmıştır. Kitosan içeren daldırma çözeltisi hazırlamak için % 2 düzeyinde laktik asit, kitosan çözücüsü olarak kullanılmıştır. KS1, yani 1 litre % 0.5'lik kitosan çözeltisi (w/w) için; 5 gram kitosan, 975 gram destile su ile 10 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra 20 gram laktik asit eklenmiş ve 12 saat daha karıştırılmıştır. KS2, yani 1 litre % 1'lik kitosan çözeltisi (w/w) için; 10 g kitosan ve 970 gram destile su 10 dakika karıştırılmış ve üzerine 20 g laktik asit ilave edilerek 12 saat daha karıştırılarak tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Kitosan çözeltileri sekiz kat tülbent bezden filtre edilmiştir.

LA, yani 1 litre % 2'lik laktik asit çözeltisi (w/w) hazırlamak için, 980 gram destile suya 20 gram laktik asit ilave edilmiş ve iyice karışması sağlanmıştır. Su ile muamele edilen gruplar, destile suya daldırılarak hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler, sosis üretimine kadar (yaklaşık 24 saat) 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Sosis örneklerinin hazırlanması ve deneme planı

Kemiklerinden ayrılmış % 70 dana % 12 yağ emülsiyonundan oluşan temel ham maddeler, kıyma makinesinde (KOLBE GmbH, Almanya) 3 mm çapında aynadan çekilmiş, ardından kuter (K+GWETTER, Almanya) cihazına aktarılmıştır. Kıyma, kuter içerisindeyken geri kalan malzemeler; tuz (% 2.3), nitrit (% 0.012), şeker (% 0.1), nişasta (% 1.0), askorbat (% 0.05), askorbik asit (% 0.02), buz (% 13.5), kırmızı toz biber (% 0.33), karabiber (% 0.1), kişniş (% 0.2), sarımsak (% 0.1), zencefil (% 0.1)

0.3) belli bir sırayla eklenmiştir. Homojen dağılımlı bir sosis hamuru elde edilene dek kuterde karıştırmaya devam edilmiştir. Homojen hale getirilmiş sosis hamuru dolum makinesine (REX RVF760, İtalya) aktarılarak, geçirgen selüloz kılıflara doldurulmuştur (5x2 cm). Doldurulan sosisler pişirme ünitesine (Schröter 1994, Almanya) alınarak 1 saat 15 dakika boyunca iç sıcaklıkları 82°C'ye ulaşana kadar pişirilmiştir. İşlem sonunda sosisler soğutulmuş ve 4 °C'de bekletilmiştir.

Soğutma işleminin ardından, soğuk buhar ve hava verilerek kılıfları çıkartılmış (Towsend st 2600, Amerika) sosisler beş gruba ayrılmıştır. Gruplardan biri herhangi bir çözeltiye daldırılmadan ayrılmış (K sosisler), diğerleri sırasıyla 3.2.1'de hazırlanışları anlatılan çözeltilere (4±2°C sıcaklıkta) sırasıyla 30 saniye süreyle daldırılmış ve DS, LA, KS1 ve KS2 sosisleri hazırlanmıştır (Çizelge 3.1). Bekleme süresinin sonunda her grup ayrı bir süzgeç içerisine boşaltılmış ve sosis üzerindeki çözeltilerin süzülmesi sağlanmıştır. Sosisler drene edildikten sonra, her bir pakette 8 adet olmak üzere, PVC+EVOH ŞEFFAF (500µ, alt) ve PET+COEX EVOH AF L (80±% 10 µ, üst) özelliğine sahip ambalajlama materyali (küvet) kullanılarak % 70 N₂ ve % 30 CO₂ gaz karışımı ile modifiye atmosferde ambalajlanmış (MAP) (Multivac R5200, Almanya) ve 4±1 °C'de 3 ay depolanmıştır. Her grup için, 28 adet modifiye atmosferde paketlenmiş küvetten oluşan toplam 140 adet küvet analiz edilmek üzere soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırılmış ve analizler sırasında 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1 Sosis gruplarının muamele edildiği çözeltiler

Uygulama	Grup kodu
Kontrol/daldırma yapılmadan	K
Destile suya daldırma	DS
% 2 laktik asit çözeltisine daldırma	LA
% 0.5 kitosan çözeltisine daldırma	KS1
% 1 kitosan çözeltisine daldırma	KS2

Farklı kitosan konsantrasyonlarının modifiye atmosferde paketlenen ve 4±1 °C'de 90 gün depolanan kokteyl sosislerin mikrobiyolojik kalitesine etkisini belirlemek üzere beş sosis grubu oluşturulmuştur. Kitosan çözücüsü olarak laktik asit kullanılmıştır. Kitosanın etkisine laktik asitin katkısının olup olmadığını belirlemek üzere laktik asit

içeren (LA) ve içermeyen (DS) ve çözeltisiz (K) gruplar hazırlanmıştır. Başlangıçta kullanılan sığır etinden numune alınarak nem, protein, yağ ve kül analizleri yapılmıştır. Sosis gruplarından ise 0. günden başlamak üzere 15'er gün ara ile 7 kez örnek alınmış ve pH, su aktivitesi ve mikrobiyolojik analizler yürütülmüştür. Duyusal değerlendirme aylık periyotlarda dört kez yapılmıştır.

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Nem miktarı

Üretilen sosislerin nem miktarını saptamak için, 105°C'de kurutulduktan sonra darası alınmış kuru madde kaplarına yaklaşık 5 g örnek tartılmış ve 105°C'deki kurutma dolabında sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş ve tartım farkından örnekteki % nem miktarı belirlenmiştir (Anonymous 2000).

3.3.2 Yağ miktarı

Ham maddenin başlangıçtaki toplam yağ miktarı, sıcak ekstraksiyon yöntemi ile Soxhelet düzeneği kullanılarak belirlenmiştir (Anonymous 2000).

3.3.3 Protein miktarı

Ham maddenin başlangıçtaki ham protein miktarı (%), Dumas yöntemine göre çalışan Protein Tayin Cihazı (Leco, FP528) ile 0,15-0,25 g arasında tartılan örneklerin önce % azot miktarı belirlenmiş ve bu miktar, 6.25 faktörü ile çarpılarak % protein miktarı saptanmıştır (Anonymous 1990).

3.3.4 Kül miktarı

Ham maddenin başlangıçtaki ham kül miktarının belirlenmesi için, sabit ağırlığa getirilen porselen kül kapsüllerine yaklaşık 3-4g örnek tartılarak kül fırınına konmuştur. Sıcaklık kademeli olarak artırılarak 550-570°C'ye getirilmiş ve kül kapsülündeki örnek rengi gri-beyaz olana kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Kül kapsüllerinin tartım farkından örnekteki % kül miktarı belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.3.5 pH değeri

Küçük parçalar haline getirilmiş örneklerden 10 gram tartılmış, üzerine 100 ml destile su ilave edilmiş ve karışımın blenderde (Waring Blender, Amerika) 1 dakika homojenize edildikten sonra pH metrede (HANNA, 211, Filipinler) pH değerleri ölçülmüştür. pH metre ölçüm yapılmadan önce pH 4 ve 7' lik tampon çözeltileri ile kalibre edilmiştir.

3.3.6 Su aktivitesi (a_w) değeri

Su aktivitesi ölçümü için örnekler kıyma makinasından çekilerek homojen hale getirilmiş ve cihaza ait plastik kaplara alınmıştır. Okuma öncesi sıcaklıkları 25°C'ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta okuma yapılmıştır. Örneklerin a_w değeri, AQUA LAB 4 TE (Pullman, WA, A.B.D.) su aktivitesi cihazı kullanılarak saptanmıştır. Cihaz, üretici firmanın standartlarına göre kalibre edildikten sonra, örneklerde ardışık yapılan 3 okumanın aritmetik ortalaması alınarak a_w değerleri hesaplanmıştır.

3.3.7 Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analiz için, aseptik koşullarda steril pens ve bisturi yardımı ile alınan 10 g örnek, 90 ml steril fizyolojik tuzlu su ile stomacher (Lab Stomacher 15Blander 400-BA 7021, Almanya) kullanarak homojenize edilmiştir. Bu steril fizyolojik tuzlu su

  zeltisi kullanılarak ardışık seyreltiler hazırlanmış ve uygun dilüsyonlarda standart yayma plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilerde 15-300 arasında koloni içerenlerde sayım yapılmıştır. Elde edilen sayım sonuçları $\log_{10}$ KOB (koloni oluşturma birimi)/ g olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu 2010). Mikroorganizma sayımlarında kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları aşağıda belirtilmiştir.

3.3.7.1 Toplam aerob mezofil mikroorganizma sayımı

Toplam aerob mezofil mikroorganizma (TAMB) sayısının saptanmasında Plate Count Agar (PCA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler $28\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve oluşan tüm koloniler sayılmıştır

3.3.7.2 Toplam aerob psikrotrof mikroorganizma sayımı

Toplam aerob psikrotrof mikroorganizma (TAPB) sayısının belirlenmesinde Plate Count Agar (PCA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

3.3.7.3 Laktik asit bakteri sayımı

Laktik asit bakteri (LAB) sayısının belirlenmesinde De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler 28°C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmış, oluşan krem renkli, iğ şeklinde (2 ucu sivri) tüm koloniler laktik asit bakterisi olarak kabul edilmiştir (Halkman 2005).

3.3.7.4 *Enterobacteriaceae* sayımı

Enterobacteriaceae sayısının belirlenmesinde Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBDA) (Merck) kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler 35°C 'de 24 saatinkübasyona bırakılmış ve tipik mor koloniler sayılarak *Enterobacteriaceae* sayısı tespit edilmiştir.

3.3.7.5 Maya-küf sayımı

Maya-küf sayısını belirlemede dilüsyonlardan Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC)(Merck) agar besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriler 25°C’de 6 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan maya-küf kolonileri sayılmıştır.

3.3.8 Duyusal analiz

Soğukta depolanan soyulmuş sosis örnekleri 30’ar günlük periyotlarda renk, koku, tat, tekstür ve genel beğeni yönlerinden değerlendirilmişlerdir. Panelist grup 7 kişiden oluşmuş ve panelistler değerlendirecekleri kriterler yönünden önceden bilgilendirilmişlerdir. Duyusal değerlendirmede 9 puanlık hedonik ölçek (1= çok kötü; 9= çok iyi) kullanılmıştır. Her bir gruptan (n=5) 6 sosis üzerini aşacak kadar kaynar su ilave edilerek ağzı kapalı olarak 2 dakika pişirilmiştir. Pişmiş sosisler 7 dakika bekletilmiş ve 1.9 cm kalınlıkta kesilmiştir. Sosisler kapalı kaplarda panelistlere sunulmuş ve renk, koku, tat, tekstür ve genel beğeni yönlerinden puanlamaları istenmiştir (Sindelar vd. 2007).

3.3.9 İstatistik analiz

Sosis üretimi aynı materyal kullanılarak iki kez (tekerrür) ve her bir tekerrürde analizler iki paralel yapılmıştır. Sosislerin fizikokimyasal (pH ve a_w değerleri) ve mikrobiyolojik (TAMB, TAPB, LAB, *Enterobacteriaceae*, maya-küf) kalite özelliklerine kitosan çözeltilerine daldırmanın etkisi, zamana karşı tekrar eden ölçümler kullanılarak Minitab® paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur. Her bir parametre için, iki faktörlü ANOVA (5 farklı uygulama (K, DS, LA, KS1 ve KS2), 7 farklı depolama süresi (0., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günler) uygulanmıştır. Duyusal analiz için, 5 farklı uygulama (K, DS, LA, KS1 ve KS2), 4 farklı depolama süresi (0., 30., 60. ve 90. günler) kullanılmıştır. Varyans analizi sonucuna göre farklılıklar, Duncan çoklu karşılaştırma testi (MSTAT) kullanılarak belirlenmiştir (Steel ve Torrie 1980).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Üretilen sosislerin bileşimi çizelge 4.1’de verilmiştir. Sosis nem miktarı % 62.42, protein miktarı % 14.34, yağ miktarı % 15.45, kül miktarı % 3.39 ve pH değeri 5.90 olarak belirlenmiştir. Sosislerin nem miktarının protein miktarına oranı kütlece 4.35, yağ miktarının protein miktarına oranı ise 1.08 olup, bu değerler Et Ürünleri Tebliğinde belirtilen kriterlere uygundur (Anonim 2012).

Çizelge 4.1 Sosis bileşimi

Kriter	
Nem, %	64.42±0.01
Protein, %	14.34±0.01
Yağ, %	15.45±0.01
Kül, %	3.39 ±0.01
pH	5.90 ±0.03

*Ortalama ± standart sapma (N=4).

4.1 pH Değeri

Buzdolabı sıcaklığında 90 gün depolanan sosislerde pH değerinde meydana gelen değişim çizelge 4.2’de görülmektedir. Daldırma çözeltileri olarak kullanılan destile suyun, % 2 laktik asit çözeltisinin, % 0.5 ve % 1’lik kitosan çözeltilerinin pH değerleri sırasıyla 5.57, 2.45, 2.72, 2.94 olarak ölçülmüştür. Frankfurterlerin 0. günde pH değerleri K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerde sırasıyla 5.90, 5.90, 5.83 5.85 ve 5.83; depolama sonunda ise sırasıyla 5.81, 5.79, 5.74, 5.72 ve 5.68 bulunmuştur. LA, KS1 ve KS2 içeren çözeltilere daldırma, pH değerinde düşüşe neden olmuştur. Daldırma çözeltisi olarak kullanılan % 2 laktik asit, % 0.5 ve % 1 kitosan içeren çözeltilere daldırılan sosisler K ve suya daldırılan örneklerden daha düşük pH değerinde olmuşlar ve depolama boyunca bu durum değişmemiştir. Bunun nedeni kullanılan daldırma çözeltilerinin sahip olduğu asidik pH’dır. Nitekim uygulamanın etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu, K ve DS’ya daldırılan örneklerin pH değerinin

LA, KS1 ve KS2 çözeltilerine daldırılan örneklerden önemli düzeyde ($P<0.05$) daha yüksek olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.2). Buna karşın LA, KS1 ve KS2 örnekler arasında önemli bir fark oluşmamıştır ($P>0.01$).

Çizelge 4.2 Sosislerin pH değerine farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					
	K	DS	LA	KS1	KS2	Ortalama
0	5.90±0.03	5.90±0.02	5.83±0.04	5.85±0.05	5.83±0.03	5.82±0.04a
15	5.91±0.06	5.90±0.12	5.82±0.14	5.81±0.14	5.78±0.15	5.84±0.12a
30	5.89±0.04	5.86±0.08	5.78±0.08	5.79±0.06	5.76±0.07	5.82±0.07a
45	5.84±0.02	5.83±0.04	5.77±0.03	5.77±0.04	5.76±0.05	5.79±0.05ab
60	5.80±0.02	5.78±0.00	5.72±0.07	5.75±0.04	5.72±0.01	5.75±0.06b
75	5.84±0.02	5.80±0.01	5.77±0.00	5.77±0.01	5.75±0.00	5.79±0.03ab
90	5.81±0.28	5.79±0.06	5.74±0.07	5.72±0.04	5.68±0.03	5.75±0.11b
Ortalama	5.86±0.12A	5.84±0.06A	5.78±0.08B	5.78±0.07B	5.78±0.07B	

*Ortalama±standart sapma.

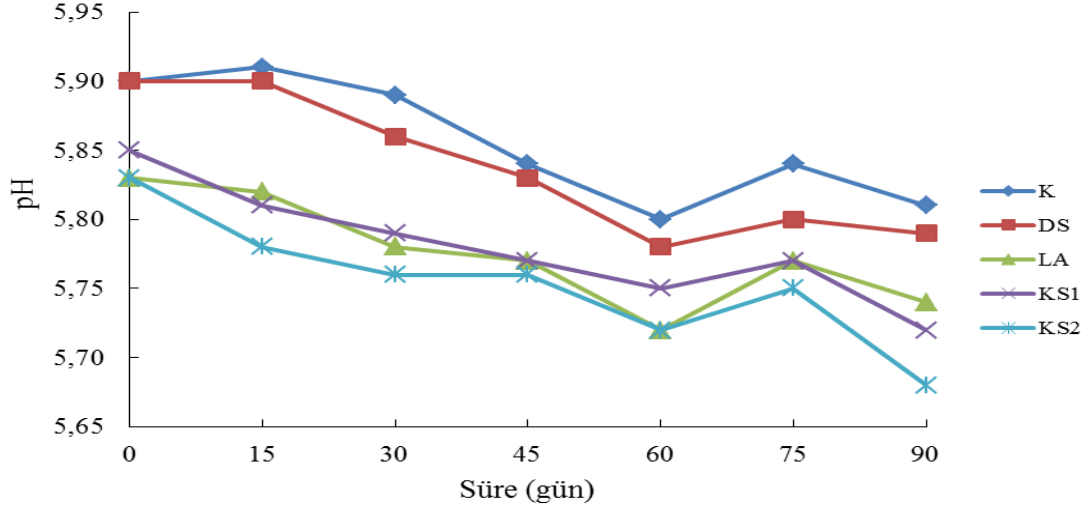
a-b: İlgili sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.01$).

A-B: İlgili satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Depolama sırasında sosis örneklerinin pH değerlerindeki değişim incelendiğinde (Şekil 4.1) tüm gruplarda azalma gözlenmiştir. Bunun nedeni, oksijensiz ortamda laktik asit bakterilerinin faaliyeti ve laktik asit oluşturmalarıdır. Sosislerin pH değerine depolama süresinin etkisi % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Özellikle depolamanın başlangıç pH değeri ortalaması (5.82) ile 60. ve 90. gün pH değerleri (5.75) arasındaki fark önemli olmuştur.

Kitosan çözeltisi ile muamele edilen örneklerdeki düşük pH diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiş ve bu durum kitosan çözeltisinin sahip olduğu asidik yapıya ($\text{pH} = 4$) bağlanmıştır (Latou vd. 2014). Sosislerin pH değeri ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda Gökoğlu vd. (2010), frankfurter tipi sosislerin raf ömrüne farklı gaz karışımlarında modifiye atmosferde ambalajlamanın etkisini incelemişler, başlangıç pH değerinin 6.41 olduğunu, depolama sırasında (14 gün sonra) azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, % 30 CO_2 / % 70 N_2 atmosferinde depolanan sosislerde 14 gün depolama

sonunda çok az pH düşüşü gözlemlendiğini (6.41'den 6.38'e), buna karşın % 70 CO₂/% 30 N₂ ve % 100 CO₂ atmosferinde depolanan sosislere 14 gün sonra daha fazla düşüşler



Şekil 4.1 Depolama sırasında sosislerin pH değerindeki değişim

olduğunu, bunun ise yüksek CO₂ atmosferinde, sosis tarafından absorbe edilen CO₂'in karbonik aside dönüşmesinin etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Apaydın vd. (2008) ise, piyasadan topladıkları vakum ambalajlı sosislere pH değerini 4.26-6.61 aralığında belirlemişlerdir.

Kitosan ve kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyel aktivitesinin düşük pH değerlerinde arttığı gösterilmiştir. Azalan pH ile kitosanın antimikrobiyel aktivitesinin artmasının pH 6.0 ve daha düşük değerlerde kitosanın amino gruplarının iyonize olması ve pozitif yük taşımasıyla ilişkisi vardır (Liu vd. 2001). Çalışmamızda, sosislerin muamele edildiği çözeltiler, asidik pH'ya sahip olmaları nedeniyle sosis pH'sının da düşmesine neden olmuşlardır. Sonuçlar incelendiğinde K ve DS'li örneklerin pH değerleri 90 gün depolama boyunca LA, KS1 ve KS2 çözeltileri ile muamele edilen örneklerden yüksek olmuştur.

4.2 Su Aktivitesi (a_w) Değeri

Farklı konsantrasyonlarda kitosan, LA, DS ile muamele edilen ve edilmeden (K) MA'de ambalajlanarak soğukta depolanan sosislerde belirlenen a_w değerleri çizelge 4.3'de verilmiştir. Başlangıç a_w değerleri K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerde sırasıyla 0.984, 0.989, 0.989, 0.988 ve 0.987 depolama sonunda ise sırasıyla 0.981, 0.987, 0.986, 0.985 ve 0.985 bulunmuştur. Depolama başlangıcında (0. gün) en düşük a_w değeri herhangi bir çözeltiye daldırılmayan K örneklerde, en yüksek a_w değeri ise destile suya daldırılan örneklerde saptanmıştır. MA'de depolama sırasında sürenin uzamasına bağlı olarak a_w değerleri tüm örneklerde az da olsa azalma eğilimi göstermiştir (Şekil 4.2). Uygulamanın ve depolama süresinin etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonuçları, uygulamanın ve depolamanın ayrı ayrı etkisi olduğunu göstermiştir ($P<0.01$).

Çizelge 4.3 Sosislerin a_w değerine farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi

Süre (gün)	Uygulama					Ortalama
	K	DS	LA	KS1	KS2	
0	0.984±0.000	0.989±0.000	0.988±0.003	0.988±0.001	0.987±0.007	0.987±0.002a
15	0.984±0.001	0.989±0.001	0.989±0.003	0.987±0.001	0.987±0.001	0.987±0.002a
30	0.983±0.001	0.989±0.001	0.988±0.008	0.987±0.006	0.986±0.001	0.986±0.002b
45	0.983±0.000	0.987±0.001	0.987±0.000	0.986±0.000	0.986±0.000	0.986±0.002b
60	0.983±0.001	0.987±0.000	0.987±0.001	0.986±0.000	0.985±0.001	0.985±0.001b
75	0.983±0.001	0.987±0.001	0.986±0.001	0.985±0.001	0.985±0.000	0.985±0.002b
90	0.981±0.001	0.987±0.001	0.986±0.001	0.985±0.001	0.985±0.004	0.985±0.002c
Ortalama	0.983±0.001B	0.988±0.001A	0.987±0.001A	0.986±0.001A	0.986±0.001A	

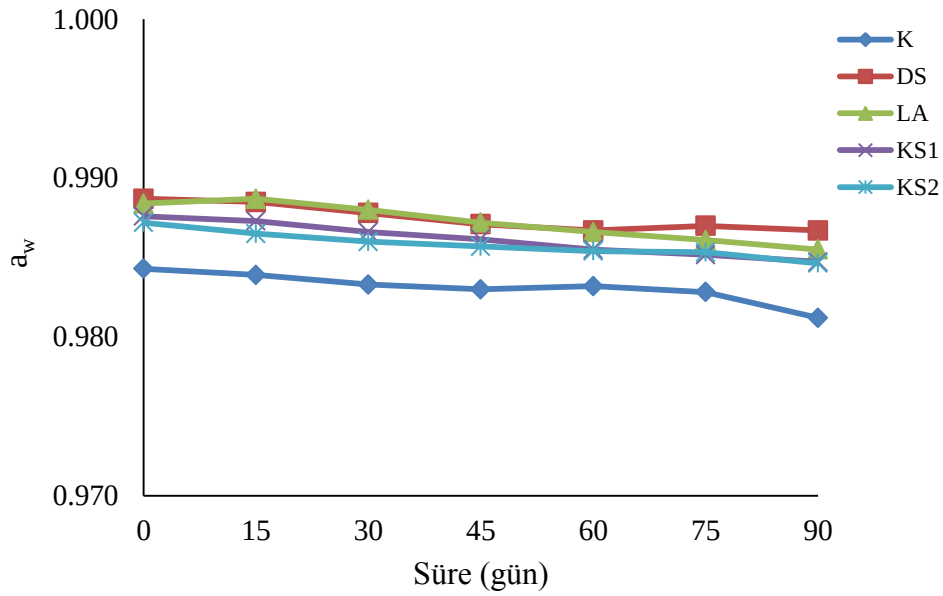
*Ortalama±standart sapma.

a-c: İlgili sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.01$).

A-B: İlgili satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Uygulamanın etkisi daldırma çözeltileri arasında önemli olmazken ($P>0.01$), K ile aralarındaki fark önemli olmuştur (Çizelge 4.3). Buna göre sosislerin su veya herhangi bir antifungal çözeltiye daldırılmaları a_w değerinde azalmayı engellemiştir. Depolamanın a_w değerine etkisi ilk 15 günde ve 30-75. günler arasında önemi olmazken

bu günlerle 90. günler arasında önemli olmuştur ($P<0.01$). Farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırma sosislerin a_w değerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Depolama boyunca a_w değerlerinde gözlenen çok az değişimin, depolamanın MA altında yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kullanılan ambalaj materyalinin su buharı geçirgenliğinin düşük olması nem kaybını engellemiştir.



Şekil 4.2 Depolama sırasında sosislerin a_w değerindeki değişim

Cachaldora vd. (2013), pişmiş bir sosis çeşidi olan “morcilla” nın raf ömrüne vakum ve MA ambalajlamanın etkisini araştırdıkları çalışmalarında, başlangıç ortalama a_w değerini 0.869 bulmuşlar ve 8 hafta depolama sırasında sabit kaldığını gözlemişlerdir. Ambalajlama şeklinin (vakum ve MA) a_w üzerine önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; soyulmuş sosislerin bir çözeltiliye daldırılarak MA’de depolanması ile su kaybının önleniği söylenebilir. Ancak genel olarak, MA ambalajlama sosislerde nem kaybını önlemede etkin bir uygulamadır.

4.3 Mikrobiyolojik Sonuçlar

4.3.1 Toplam aerob mezofilik bakteri sayısı

Farklı çözeltilere daldırılan ve modifiye atmosferde, $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün depolanan sosis örneklerinin toplam aerob mezofil (TAMB) mikroorganizma sayıları çizelge 4.4'de verilmiştir. Depolama başlangıcında TAMB sayıları log kob/g olarak K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerinde sırasıyla 4.74, 4.71, 4.10, 3.75 ve 3.71 bulunmuştur. LA ve kitosan çözeltilerine daldırmanın etkisi 0. günde bile görülmüş ve LA ve KS çözeltilerine daldırılan sosisler K ve DS örneklerden daha düşük TAMB sayılarına sahip olmuşlardır. Süre uzadıkça TAMB sayısı artmış ve bu artış en fazla herhangi bir çözeltiliye daldırılmamış K örneklerde olmuştur. K ve DS'li örnekler 60. günde kritik TAMB düzeyini aşmış (7 log kob/g) ve tüketilemez hale gelmişlerdir. KS1 ve KS2 çözeltilerine daldırma, MA'de ambalajlanan sosislerde 90 günde bile düşük (kabuledilebilir) TAMB sayılarına neden olmuştur (sırasıyla 5.76 ve 5.29 log kob/g). TAMB sayısı %1 KS'li örneklerde daha düşük olmuştur.

Çizelge 4.4 Sosislerin TAMB sayısına farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)

Süre (gün)	Uygulama				
	K	DS	LA	KS1	KS2
0	4.74 $\pm$ 0.01fA	4.71 $\pm$ 0.07eA	4.10 $\pm$ 0.28eB	3.75 $\pm$ 0.33dB	3.71 $\pm$ 0.10deB
15	4.67 $\pm$ 0.10efA	4.59 $\pm$ 0.08eAB	4.21 $\pm$ 0.29deB	3.52 $\pm$ 0.22dC	3.50 $\pm$ 0.14eC
30	4.90 $\pm$ 0.04eA	4.73 $\pm$ 0.11eA	4.53 $\pm$ 0.08dA	3.63 $\pm$ 0.10dB	3.52 $\pm$ 0.05eB
45	5.60 $\pm$ 0.25dA	5.45 $\pm$ 0.02dA	5.01 $\pm$ 0.04cB	4.51 $\pm$ 0.04cC	4.00 $\pm$ 0.06cdD
60	7.17 $\pm$ 0.13cA	7.21 $\pm$ 0.04cA	5.36 $\pm$ 0.08cB	4.64 $\pm$ 0.02cC	4.18 $\pm$ 0.08cD
75	7.98 $\pm$ 0.27bA	8.01 $\pm$ 0.16bA	6.32 $\pm$ 0.20bB	5.20 $\pm$ 0.50bC	4.75 $\pm$ 0.15bD
90	8.55 $\pm$ 0.06aA	8.61 $\pm$ 0.05aA	6.78 $\pm$ 0.10aB	5.76 $\pm$ 0.06aC	5.29 $\pm$ 0.47aD

*Ortalama $\pm$ standart sapma.

a-f :Her bir sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

A-D: Her bir satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

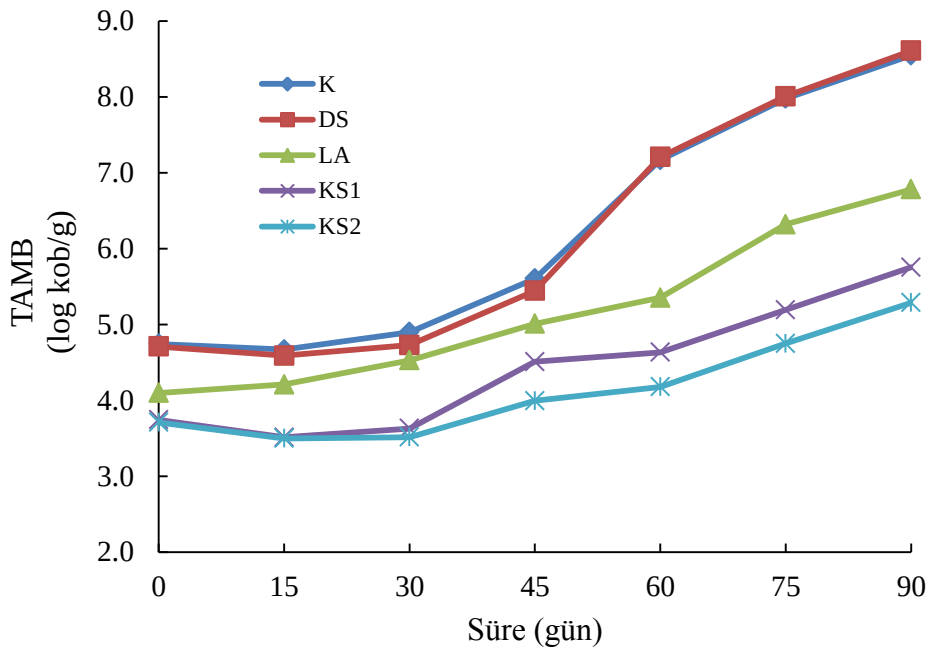
Sosislerin TAMB düzeyindeki değişim incelendiğinde (Şekil 4.3), depolamanın 30. gününe kadar TAMB sayılarındaki artış daha yavaş, 30. günden sonra ise daha hızlı olmuştur. Benzer bir çalışmadaki TAMB sayıları incelendiğinde (Bostan ve Mahan 2011), çalışmamızda elde edilen TAMB sayıları düşük bulunmuştur. Bunun birçok nedeni olmakla birlikte (hammadde ve diğer ingredyenlerin mikrobiyolojik kalitesi gibi), en önemli nedeni çözeltilere daldırıldıktan sonra yapılan MA ambalajlamadır. % 70 N₂ ve % 30 CO₂ atmosferinde ambalajlamanın düşük TAMB düzeylerinde en önemli etken olduğu düşünülmektedir.

CO₂ hem bakteriostatik hem de fungustatiktir. Bazı faktörler CO₂'in antimikrobiyel etkisini etkilemektedir. Bunlar; mikrobiyel yük, gaz konsantrasyonu, sıcaklık ve paketlenme film geçirgenliğidir. CO₂ aerobik mikroorganizmalara karşı en etkili gazdır. Buna karşın bazı bakteriler örneğin *Brochothrix thermosphacta* % 75 CO₂'e tolerans gösterebilmektedir. Ayrıca laktik asit bakterileri % 100 CO₂'te bile gelişebilmektedir (Kılınç ve Çaklı 2001). Yapılan analizlerde MA ambalajlı sosislerde TAMB sayısındaki artışın bu faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Vakum /modifiye atmosfer paketlenme yiyeceklerin kalitesini koruma ve raf ömrünü artırmaya rağmen, bu gibi paketlenmiş ürünlerde paket içerisindeki az miktarda kalmış O₂'e bağlı olarak hala aerobik bozulma meydana gelebilir. Yapılan bazı çalışmalarda aerobik *Pseudomonas* türleri *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin % 1-2 O₂ bulunan ortamda gelişebildikleri görülmüştür. Çalışmalarda aerobik mikroorganizmaların paket içerisinde kalan O₂'nin düşük konsantrasyonlarına uyum sağladığı da görülmüştür (Kılınç ve Çaklı 2001). Bu durum ürünlerin O₂'siz bir ortamda paketlenmesine rağmen aerob mezofilik bakterilerin sayılmasını açıklamaktadır. Vakum /modifiye atmosferde paketlenmiş ürünlerde aerobik mikroorganizmaların gelişimini tamamen inhibe edebilmek için ek kontrol yöntemleri gereklidir. Ek kontrol yöntemlerinden bir tanesi O₂ absorbe edicilerin kullanımüdür.

Uygulamanın ve depolama süresinin ve uygulama x süre etkileşimini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu uygulama x süre etkileşiminin önemli olduğunu (P<0.01) göstermiştir. Bu etkiye ait Duncan sonuçları çizelge 4.4'te görülmektedir. Her

bir depolama periyodunda uygulamanın etkisi K ve DS örneklerde önemsiz ($P>0.01$), bu örneklerle diğer örnekler arasında ise önemli düzeyde ($P<0.01$) olmuştur. KS'nin yüksek düzeyde uygulanması (% 1) daha düşük TAMB sayısına neden olmuştur. Bununla birlikte % 0.5 KS düzeyi de TAMB sayısında önemli azalmaya neden olmuştur. Her bir uygulamada, TAMB sayısına sürenin etkisi tüm örneklerde ilk 30 gün arasında önemli bulunmazken ($P>0.01$), 30. günden sonraki artışlar K ve DS örneklerde önemli düzeylerde olmuştur.



Şekil 4.3 Depolama sırasında sosislerin TAMB sayısındaki değişim

Sagoo vd. (2002), % 0.5 ve % 1 konsantrasyonlarında kitosan çözeltilerine (pH 4) daldırılan soyulmuş sosislerde 7°C'de 18 gün depolamada TAMB sayısında suya daldırılan ve herhangi bir çözeltiye daldırılmayan kontrol örneklerle kıyaslandığında 1-3 log kob/g düzeylerinde azalma sağlandığını bildirmişlerdir. Kitosan ile muamelenin soyulmuş sosislerde raf ömrünü 7 günden 15 güne uzattığı ortaya konulmuştur. Aynı araştırmacılar % 0.3 ve % 0.6 düzeylerinde kitosanı doğrudan kattıkları domuz kıymasında 4°C'de 18 gün depolama sonunda kontrol örneklerle kıyaslandığında TAMB sayısında 1-2 log kob/g düzeyinde azalma saptamışlar, % 0.6 kitosan düzeyinde daha az TAMB sayısı belirlemişlerdir. Çalışmamızda ise 90. günde, % 1 KS çözeltisine

daldırılan sosislerde yaklaşık 3 log, % 0.5 KS çözeltisine daldırılan sosislerde 2.8 log düzeyinde azalma saptanmış ve raf ömrü yaklaşık 1 ay uzamıştır.

Bostan ve Mahan (2011), % 0.25, % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltilerine daldırarak, vakum ambalajladıkları ve 4°C'de 60 gün depoladıkları sosislerde kontrol (suya daldırılan) örneklerde 20 günde TAMB sayısının 7 log kob/g düzeyini aşmasına karşın, her üç konsantrasyonda kitosan çözeltisine daldırılan sosislerin 60 günde bile TAMB sayılarının 6 log kob/g düzeyinin altında olduğunu ifade etmişlerdir. Kitosan çözücüsü olarak kullanılan % 1 asetik asit çözeltisine daldırılan sosislerde ise TAMB sayısı depolama başlangıcında K'den daha düşük olmasına karşın kitosanlı çözeltilere daldırılanlardan daha yüksek olmuş, 60 günde ise K örneklerine yakın olmuştur. Çalışmamızda kitosan çözücüsü olarak kullanılan laktik asite daldırılan sosislerin TAMB sayısı, depolama boyunca K ve DS'li örneklerden düşük, fakat KS1 ve KS2 örneklerinden daha yüksek bulunmuş, 90 günde LA çözeltisine daldırılan örneklerin TAMB sayısı 7 log düzeyine yaklaşırken, KS1 ve KS2 çözeltilerine daldırılan örneklerin TAMB sayıları 6 log düzeyinin altında kalmıştır. Bu sonuçlar, kitosan çözücüsü olarak laktik asit kullanılmasının TAMB sayısındaki artışı baskılamada daha etkin olduğunu göstermektedir. Roller vd. (2002), kitosanın domuz sosislerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, % 1.0 konsantrasyonunda kitosan ilave edilmiş sosislerde 7°C'de 18 günlük muhafaza periyodu sonunda toplam bakteri, küf-maya ve laktik asit bakterileri sayısında 1-3 log kob/g azalma görüldüğünü, daha düşük konsantrasyonda (% 0.5) ise etkinin olmadığını rapor etmişlerdir. Latou vd. (2014) ise hem % 1 kitosan çözeltisine daldırmanın hem de modifiye atmosferde ambalajlamanın (% 70 CO₂, % 30 N₂) soğukta depolanan tavuk göğüs etlerinin raf ömrüne etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 6. günde kitosan ve MA ambalajlanan örneklerin, muamelesiz ve açıkta depolanan örneklerden 3.9-4.9 log kob/g daha düşük TAMB sayısına sahip olduklarını belirlemişlerdir.

4.3.2 Toplam aerob psikrotrof bakteri sayısı

Sosislerin soğuk muhafaza sırasında toplam aerob psikrotrof bakteri (TAPB) sayılarında meydana gelen değişim logkob/g olarak çizelge 4.5’de verilmiştir. Depolama başlangıcında TAPB sayıları en fazla K örneklerde, en düşük KS1 örneklerde olmak üzere 2.15-3.58 log kob/g arasında değişmiş, depolama süresince giderek artarak 90. günde K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerde sırasıyla 7.22, 7.32, 6.20, 5.10 ve 4.60 düzeylerine ulaşmıştır. En düşük TAPB sayısı tüm depolama boyunca kitosan çözeltilerinde daldırılan sosislere belirlenmiştir. TAPB sayıları, LA ve DS’li örneklerde K’den daha düşük fakat KS’li örneklerden daha yüksek olmuştur. Depolamanın 60. gününden sonra TAPB sayısında artış daha hızlı olmuştur (Şekil 4.4).

Çizelge 4.5 Sosislerin TAPB sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)

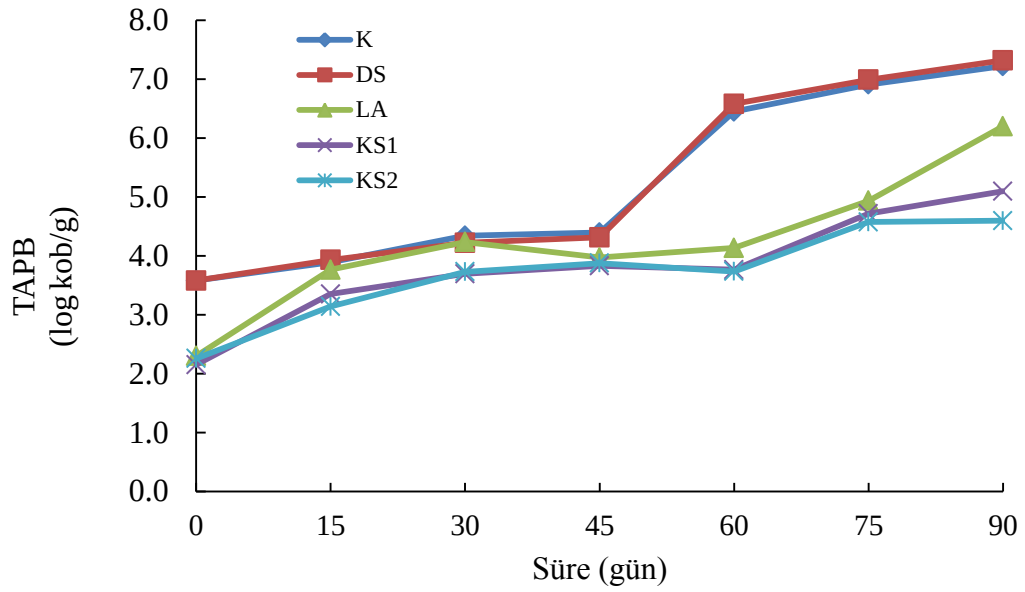
Süre (gün)	Uygulama				
	K	DS	LA	KS1	KS2
0	3.58±0.07dA	3.58±0.06dA	2.30±0.14eB	2.15±0.21dB	2.26±0.02dB
15	3.89±0.28dA	3.93±0.03cdA	3.77±0.22dAB	3.35±0.02cBC	3.14±0.06cC
30	4.34±0.04cA	4.22±0.07cA	4.24±0.06cA	3.70±0.06bcB	3.73±0.33bB
45	4.40±0.02cA	4.32±0.04cA	3.97±0.10cdAB	3.83±0.03bB	3.88±0.04bB
60	6.45±0.30bA	6.58±0.25bA	4.14±0.16cdB	3.77±0.16bcB	3.74±0.19bB
75	6.91±0.41aA	6.99±0.13abA	4.94±0.04bB	4.72±0.02aB	4.58±0.12aB
90	7.22±0.06aA	7.32±0.20aA	6.20±0.01aB	5.10±0.02aC	4.60±0.12aD

*Ortalama±standart sapma.

a-e :Her bir sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

A-D: Her bir satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

Sonuçlar incelendiğinde TAPB sayısındaki artışı baskılamada % 1 LA çözeltisine daldırma işlemi de etkili olmuştur, fakat bu etki KS çözeltileri ile muamele edildiğinde daha da fazla olmaktadır.



Şekil 4.4 Depolama sırasında sosislerin TAPB sayısındaki değişim

Depolama süresi ve farklı çözeltilere daldırmanın ve bu iki faktörün etkileşimini belirlemek üzere yapılan varyans analizi, uygulama x süre etkileşiminin önemli olduğunu göstermiştir ($P < 0.01$). Farklı konsantrasyonlarda kitosan ve LA çözeltilerine daldırma, 0. günde etkisini göstermiş ve LA, KS1 ve KS2 örnekler K ve DS'li örneklerden önemli düzeyde daha düşük TAPB sayılarına sahip olmuşlardır (Çizelge 4.4). Farklı düzeylerde kitosan çözeltileri ile muamelenin etkisi, 90. günde ortaya çıkmış ve % 1 kitosan çözeltisine daldırılan örnekler, % 0.5 kitosan çözeltisine daldırılanlardan ve diğer örneklerden önemli düzeyde daha düşük TAPB sayısı içermişlerdir. Bununla birlikte KS1 ve KS2 örnelerinin TAPB sayıları arasında 75 gün boyunca önemli bir fark belirlenmemiştir ($P > 0.01$). Tek başına % 1 LA çözeltisine daldırma, TAPB sayısını azaltmada etkili olmuş, fakat bu etki kitosan çözeltileri ile birlikte daha da artmıştır.

Benzer şekilde Bostan ve Mahan (2011), farklı düzeylerde kitosan çözeltilerinde daldırarak, vakum ambalajladıkları ve 4°C'de 60 gün depoladıkları sosislerde TAPB düzeylerinin tüm gruplarda (destile suya, % 1 asetik asit çözeltisine, % 0.25, % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltilerinde daldırılan) depolama ile arttığını, en az artışın ve depolama

sonunda en düşük düzeylerin ise kitosan ile muamele edilen örneklerde olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar depolamanın 60. gününde TAPB sayılarını % 1 KS'lı örneklerde 5.14, % 0.5 KS'lı örneklerde 5.18, % 0.25 KS'lı örneklerde 5.35 log kob/g olarak saptamışlardır. Bu değerler, çalışmamızın 60. gününde belirlenen TAPB düzeylerinden yüksektir. Bu farklılığın ambalajlama yönteminden ve kitosan çözücüsü farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Başka bir çalışmada Cachaldora vd. (2013), geleneksel bir ürün olan “Morcilla” yı vakum ve farklı gaz karışımları ile MA'de ambalajlamışlar ve 4°C'de 8 hafta depolamışlardır. Araştırmacılar tüm örneklerde TAPB sayısının ilk iki hafta önemli düzeyde ($P<0.05$) düştüğünü, fakat depolama sonuna doğru artış olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulgular ile çalışmamızdaki bulgular uyum göstermemektedir. Bunun nedeni “Morcilla” ürününün düşük a_w değeri olabilir. Çalışmamızda depolama sırasında TAPB sayısında hep bir artış eğilimi gözlenmiştir (Şekil 4.4).

4.3.3 Toplam laktik asit bakteri sayısı

Laktik asit bakterileri ve özellikle *Lactobacillus* spp. vakum ve modifiye ambalajlı emülsiy ve ısıt işlem görmüş ürünlerde başlıca bozulma nedenidirler (Borch vd. 1996, Korkeala ve Bjorkroth 1997). Sosislerin soğuk depolama sırasında LAB sayılarındaki değişim çizelge 4.6'da görülmektedir. Depolamanın başında LAB sayıları K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerde sırasıyla 3.10, 2.90, 2.57, 2.44 ve 2.28 olarak saptanmış, süre uzadıkça tüm örneklerin LAB sayıları artmış ve 90. günde sırasıyla 7.03, 5.59, 5.25, 4.64 ve 3.84 olarak belirlenmiştir. LAB sayısındaki artış depolamanın 45. gününden itibaren hızlanmış ve en yüksek K örneklerde olmuştur. % 0.5 ve % 1 KS çözeltilerine daldırılan sosisler en düşük LAB düzeylerine sahip olmuşlardır (Çizelge 4.6, Şekil 4.5).

LAB sayısına farklı çözeltilere daldırma, depolama süresi ve bunların birlikte etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu, her bir etkenin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir.

Çizelge 4.6 Sosislerin LAB sayısına farklı konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)

Süre (gün)	Uygulama				
	K	DS	LA	KS1	KS2
0	3.10±0.08fA	2.90±0.07dA	2.57±0.04dB	2.44±0.06eBC	2.28±0.03dC
15	3.12±0.05fA	3.04±0.06dA	2.64±0.06dBC	2.58±0.01eC	2.39±0.08dC
30	3.37±0.09eA	3.12±0.05dB	3.10±0.11cB	3.06±0.03dBC	2.83±0.04cC
45	3.67±0.09dA	3.45±0.02cAB	3.29±0.04cBC	3.14±0.08dCD	2.98±0.04cD
60	5.23±0.18cA	4.93±0.07bB	4.80±0.13bB	3.63±0.03cC	3.46±0.14bC
75	5.95±0.05bA	5.36±0.07aB	5.23±0.08aB	4.00±0.13bC	3.86±0.04aC
90	7.03±0.18aA	5.59±0.14aB	5.25±0.10aC	4.64±0.07aD	3.84±0.08aE

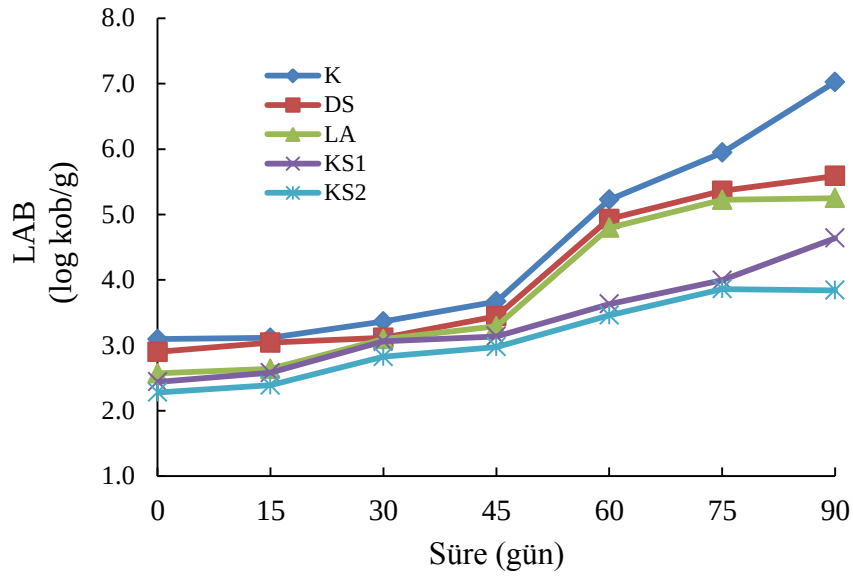
*Ortalama±standart sapma.

a-f :Her bir sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

A-D: Her bir satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

Uygulama x süre etkileşimi incelendiğinde; K ve DS örneklerin LAB sayıları 0. ve 15. günlerde LA, KS1 ve KS2 örneklerinden önemli düzeyde (P<0.01) daha yüksek bulunmuştur. Kitosan çözeltilerinin LAB sayısına etkisi, depolamanın 60., 75. ve 90. günlerinde daha iyi görülmüş ve bu örneklerin LAB sayıları K, DS ve LA örneklerinin LAB sayılarından önemli düzeyde daha düşük (P<0.01) bulunmuştur. % 1 kitosan çözeltisine daldırılan sosisler 90. günde en düşük LAB sayısına sahip olmuş ve diğer örneklerle aralarındaki fark önemli (P<0.01) bulunmuştur.

Depolama süresinin etkisi ilk 15 günde tüm gruplarda önemsiz (P>0.01) düzeyde, 15. günden sonra K örneklerde her bir depolama sürecinde önemli düzeyde (P<0.01) artmıştır. K gibi DS ve LA örneklerinin LAB sayıları, depolamanın 45., 60. ve 75. günleri arasında önemli düzeyde (P<0.01) artmıştır (Çizelge 4.6). Şekil 4.5 incelendiğinde, LAB sayısının sadece K örneklerde 90. günde log 7 düzeyine geldiği, DS ve LA çözeltisine daldırılan örneklerde bile 90. günde oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. Diğer yandan, kitosan çözeltilerine daldırılan örneklerde konsantrasyon arttıkça LAB çoğalmasının etkin bir şekilde baskılandığı görülmüştür. Benzer bir çalışmada, suya, % 1 asetik asit çözeltisine, % 0.25, % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltilerine daldırılan ve vakum ambalajlanarak 4 °C'de 60 gün depolanan sosislerde LAB sayısındaki değişim benzer olmuştur (Bostan ve Mahan 2011).



Şekil 4.5 Depolama sırasında sosislerin LAB sayısındaki değişim

Bu çalışmada da en fazla LAB yükü 60. günde, musluk suyuna daldırılan kontrol örneklerde (10.20 log kob/g), en düşük % 1'lik kitosan çözeltisine daldırılan örneklerde (3.99 log kob/g) saptanmıştır. Bostan ve Mahan (2011), LAB sayısının 6 log kob/g'un üzerine çıktığı K ve asetik asite daldırılan örneklerde ilk bozulma belirtilerinin saptandığını, buna karşın kitosan çözeltilerine daldırılan hiçbir örnekte 60 gün boyunca bu sayıya ulaşılmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise sadece K örnekler depolamanın 90. gününde 6 log kob/g'nin üzerinde LAB sayısına sahip olmuşlardır.

Gökoğlu vd. (2010), farklı ambalajlama yöntemlerinin 4°C'de 28 gün depolanan sosislerin LAB sayısına etkisini belirledikleri çalışmalarında, % 30 CO₂/ % 70 N₂, % 70 CO₂/ % 30 N₂, % 100 CO₂, % 80 CO₂/ % 20 O₂ gaz oranlarında MA ve vakum ambalajlanan örneklerde 28. gün sonunda en yüksek LAB sayısını 8.31 log kob/g ile % 30 CO₂/ % 70 N₂ atmosferinde depolanan örneklerde saptamışlardır. Bu çalışmalardaki LAB yükünün, çalışmamızdaki LAB yükünden oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Roller vd. (2002) kitosanın domuz sosislerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, % 1 konsantrasyonunda kitosan ilave edilmiş sosislerde 7 °C'de 18 günlük muhafaza periyodu sonunda toplam bakteri, küf-maya ve laktik asit

bakterileri sayısında 1-3 log kob/g azalma görüldüğünü, daha düşük konsantrasyonda (% 0.5) ise etkinin olmadığını rapor etmişlerdir. Latou vd. (2014), %1 kitosan çözeltisine daldırarak, %70 CO₂/% 30 N₂ MA'de ambalajladıkları ve soğukta 14 gün depoladıkları tavuk göğüs etlerinde LAB sayısındaki artışın kitosan ve MA ambalajlama ile etkin bir şekilde baskılandığını belirtmişlerdir.

4.3.4 *Enterobacteriaceae* sayısı

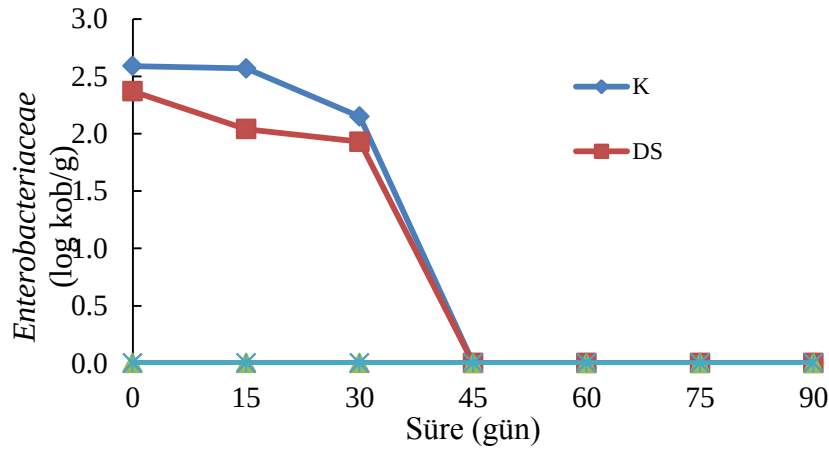
Sosis tipi ürünlerde *Enterobacteriaceae* hijyen indikatörü olarak kabul edilmektedir. Farklı çözeltilere daldırılarak MA'de ambalajlanan ve soğukta depolanan sosislere depolama süresince belirlenen *Enterobacteriaceae* sayıları çizelge 4.7'de ve şekil 4.6'da görülmektedir. Depolama başlangıcında K ve DS'li örneklerde *Enterobacteriaceae* sayıları sırasıyla 2.59 ve 2.37 logkob/g olarak saptanmış, 30. günde ise düşmüş ve sırasıyla 2.15 ve 1.95 log kob/g olarak belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae*, depolama boyunca sadece K ve DS'li örneklerde ve depolamanın ilk 30 gününde sayılabilmiş, LA, KS1 ve KS2 örneklerinde ise 1 log kob/g'nin altında kalmıştır. Sosislerin LA ve kitosan çözeltilerine daldırılması *Enterobacteriaceae* çoğalmasını etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Benzer bulgular yani kitosanın *Enterobacteriaceae* üzerine inhibe edici etkisi diğer araştırmalarda da belirlenmiştir (Soultos vd. 2008, Latou vd. 2014). Nitekim, Soultos vd. (2008), domuz sosilerine % 0.5 ve % 1 kitosan ilavesinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, 4 °C'de 28 gün depolama sırasında *Enterobacteriaceae* gelişiminin ihhabe edildiğini belirlemişlerdir. Latou vd. (2014) ise, % 1 kitosan çözeltisine daldırıp, % 70 CO₂ ve %30 N₂ atmosferinde ambalajladıkları tavuk but etinde soğuk depolama sırasında *Enterobacteriaceae* çoğalmasının etkin bir şekilde inhibe edildiğini ve kitosanın güçlü inhibitör etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Enterobacteriaceae türleri aynı zamanda dondurmaya, ısıtmaya ve kimyasal dezenkfeksiyon işlemlerine karşı oldukça yüksek direnç gösterirler. Bu yüzden çiğ sosislere bulunması halinde "ürüne özgü" olarak değerlendirilirler (Sekin ve Karagözlü 2004).

Çizelge 4.7 Sosislerin *Enterobacteriaceae* sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)

Süre (gün)	Uygulama				
	K	DS	LA	KS1	KS2
0	2.59±0.16	2.37±0.04	<1	<1	<1
15	2.57±0.16	2.04±0.06	<1	<1	<1
30	2.15±0.21	1.93±0.04	<1	<1	<1
45	<1	<1	<1	<1	<1
60	<1	<1	<1	<1	<1
75	<1	<1	<1	<1	<1
90	<1	<1	<1	<1	<1

*Ortalama±standart sapma.



Şekil 4.6 Depolama sırasında sosislerin *Enterobacteriaceae* sayısındaki değişim

Enterococcus spp. gibi bakterilerin ürünün işlenmesi sırasında inhibe edilmesi gerekmektedir. Ayrıca sonradan bulaşların da önüne geçilmesi ve ambalaj materyalinin de doğru seçilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte yetersiz ısı işlem, kabuk soyma, ambalajlama gibi işlemler sırasında uygulanan yetersiz hijyen nedenleri ile sosislerde *Enterobacteriaceae* sayısı yükselmektedir. Çalışmamızda kitosanın yanı sıra MA ambalajlamanında *Enterobacteriaceae* inhibisyonunda önemli olduğu düşünülmektedir. Nitekim Cachaldora vd. (2013), “morcilla” sosislerde ambalajlama öncesi 2 log kob/g düzeyinde olan *Enterobacteriaceae* sayısının vakum ve MA ambalajlamadan sonra 2 hafta içinde 1 log kob/g’nin altına düştüğünü, vakum ve MA ambalajlamanın aynı

düzeyde etki yaptığını belirtmişlerdir. Bu azalmada LAB'nin ve oksijensiz ortamın güçlü inhibitör etkisi rol oynamaktadır (Farber 1991).

4.3.5 Maya-Küf sayısı

Sosislerde soğuk depolama sırasında belirlenen maya-küf sayısı Çizelge 4.8'de verilmiştir. Depolama başlangıcında maya-küf sayısı log kob/g olarak K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerinde sırasıyla 2.82, 2.61, 2.40, 1.95 ve 1.06 olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi kitosan çözeltilerine daldırma 0. günde bile maya-küf sayısını azaltmıştır. Depolamanın 15. gününden itibaren sadece K ve destile suya daldırılan örneklerde maya-küf sayılabilir düzeyde saptanırken, LA, KS1 ve KS2 çözeltilerine daldırılan örneklerde 1 log kob/g'nin altında kalmıştır. Bu durum LA ve kitosan çözeltilerine daldırmanın soyulmuş sosislerde maya-küf gelişimini etkin bir şekilde azalttığını göstermektedir. Yapılan varyans analizi, uygulama x süre etkileşiminin önemli ($P<0.01$) olduğunu göstermiştir. Bu etkinin düzeyini gösteren Duncan sonuçları ise çizelge 4.8'de görülmektedir. Çözetilere daldırma, 0. günde etkisini göstermiş ve maya-küf sayısı her bir uygulamada önemli düzeyde ($P<0.01$) değişmiştir. Maya-küf sayısını azaltmada % 1 KS çözeltisine daldırma en etkili uygulama olmuştur.

Çizelge 4.8 Sosislerin maya-küf sayısına kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi (log kob/g)

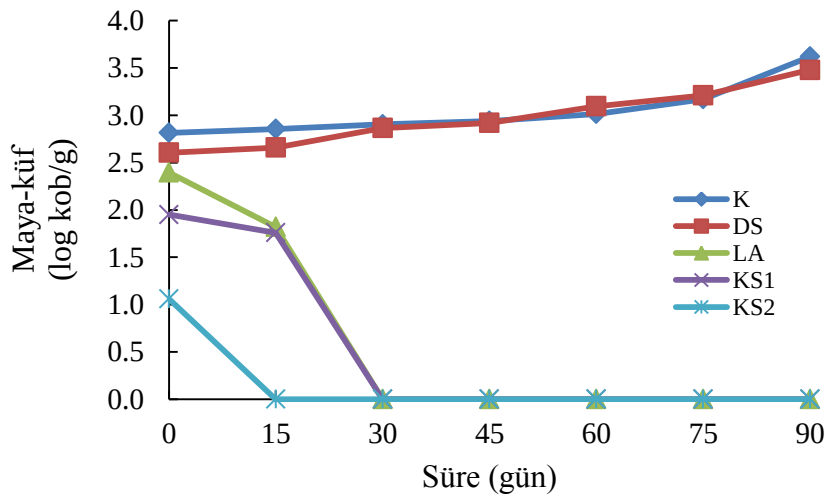
Süre (gün)	Uygulama				
	K	DS	LA	KS1	KS2
0	2.82±0.16cdA	2.61±0.04cbAB	2.40±0.04cBC	1.95±0.04cD	1.06±0.04aE
15	2.86±0.16cdA	2.66±0.06cbA	1.82±0.06bB	1.76±0.06bB	<1aC
30	2.91±0.21cdA	2.87±0.04cbA	<1aB	<1aB	<1aB
45	2.94±0.21cdA	2.92±0.04cbA	<1aB	<1aB	<1aB
60	3.02±0.21cA	3.10±0.04bA	<1aB	<1aB	<1aB
75	3.17±0.21bA	3.21±0.04bA	<1aB	<1aB	<1aB
90	3.62±0.21aA	3.48±0.04aA	<1aB	<1aB	<1aB

*Ortalama±standart sapma

a-c :Her bir sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.01$).

A-E: Her bir satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.01$).

Bakteriler kadar küf ve mayalar da kitosandan etkilenmektedir. Çoğu küf türlerinin % 1 ve altındaki kitosan düzeylerine hassas oldukları, buna karşılık *Aspergillus flavus* gibi türlerin ise % 1'in üstünde konsantrasyonlarda bile kitosana karşı dirençli oldukları rapor edilmiştir (Roller 2003). Fang vd. (1994) ise ortama (pH 5.4) 0.1-5 mg/ml kitosan ilavesinin *Aspergillus niger*'in üremesini durdurduğu; fakat 2 mg/ml'den daha düşük konsantrasyonlarda *A. flavus*'un üremesini ve aflatoksin üretimini inhibe etmede etkisiz olduğu sonucuna varmışlardır.



Şekil 4.7 Depolama sırasında sosislerin maya-küf sayısındaki değişim

Sagoo vd. (2002), % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltilerinde daldırarak 7 °C'de 18 gün depoladıkları sosilerde depolama sonunda % 1 kitosan çözeltisine daldırılan sosilerde maya-küf sayısında yaklaşık 2 log kob/g düzeyinde azalma olduğunu, % 0.5'lik düzeyin ise etkili olmadığını belirlemişlerdir. Diğer yandan Roller vd. (2002), % 0.6 düzeyinde kitosanı doğrudan kattıkları sosilerde 4°C'de depolama boyunca maya-küf sayısında önemli bir azalma olmadığını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Bostan ve Mahan (2011), % 0.25, % 0.5 ve % 1 kitosan çözeltilerinde daldırarak 4°C'de 60 gün depoladıkları sosilerde depolama sonunda maya-küf sayısında en fazla inhibisyona % 1 kitosan konsantrasyonunun neden olduğunu, % 0.25 ve % 0.5 kitosan konsantrasyonları arasında ise önemli bir fark olmadığını, fakat suya ve % 1 asetik çözeltisine daldırılan örneklerle kıyaslandığında önemli azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda

saptanan maya-küf sayısı ile diğer çalışmalarda saptanan düzeyler arasındaki farklılıkların kitosanın uygulanma yöntemi, kitosan dışında maya-küf gelişimini engelleyici uygulamalar (vakum veya MA ambalajlama gibi) ve depolama sıcaklıkları arasındaki fark gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ağaoğlu (1997)'nin sosisler üzerine yapmış olduğu çalışmada, sosis numunelerinde maya-küf sayısının $2.0 \times 10^2 - 2.0 \times 10^4$ kob/g arasında olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda ise gerek % 0.5 gerek % 1 kitosan konsantrasyonları maya-küf gelişimini etkin bir şekilde inhibe etmiştir.

Covill (1999), kitosanın gıda bozulmalarından sorumlu 7 küf türüne karşı antimikrobiyel özelliğini besi ortamında araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada 1 g/l konsantrasyonundaki kitosanın *Mucor racemosus* üremesini yavaşlattığı; 5 g/l'lik konsantrasyonun *Byssosclamyces* üremesini tamamen engellediği, buna karşın bazı filamentöz küf türlerinin 10 g/l konsantrasyonunda bile kitosana karşı dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak sosislerin mikrobiyolojik kalitesi değerlendirildiğinde; kontrol başlangıç TAMB 4.74 logkob/g, TAPB 3.58 logkob/g, LAB 3.10 logkob/g maya-küf 2.70 logkob/g ve *Enterobacteriaceae* 2.49 logkob/g düzeylerindedir. Bu sonuç pişmiş ürünlerde uygulanan ısıl işlemin yetersizliğini veya ısıl işlem sonrası kontaminasyonu göstermektedir (Cachaldora vd. 2013). Kitosan çözeltilerine daldırılan örneklerde ise TAMB 3.73 logkob/g, TAPB 2.21 logkob/g, LAB 2.36 logkob/g, maya-küf 1.51 logkob/g ve *Enterobacteriaceae* <1 logkob/g düzeylerindedir. Görüldüğü gibi sosislerin kabuk soyma işleminden hemen sonra antimikrobiyel içeren bir çözelti ile muamele edilmesi ile önemli düzeyde ($P < 0.01$) mikrobiyel inhibisyon sağlanabilmektedir. Çözeltilerle muamele edilmiş sosislerin oksijensiz ve nem geçirmez bir ortamda ambalajlanması ve soğukta depolanması ile de daha uzun bir raf ömrü elde edilmiştir. MA'de 90 gün depolanan kontrol sosislerde TAMB 8.55 logkob/g, TAPB 7.22 logkob/g, LAB 7.03 logkob/g maya-küf 3.62 logkob/g düzeylerindedir. Kitosan çözeltileriyle muamele edilen sosislerin 90. gün mikrobiyolojik sonuçları ise; TAMB 5.52 logkob/g, TAPB 4.85 logkob/g, LAB 4.24 logkob/g olup, maya-küf ve *Enterobacteriaceae* sayıları 1 logkob/g'nin altındadır.

4.4 Duyusal Değerlendirme

Sosislerin duysal özelliklerine (renk, koku, tat, tekstür ve genel beğeni) depolamanın 0., 30., 60 ve 90. günlerinde 7 üzerinden verilen puan ortalamalarına ait sonuçlar çizelge 4.9'da verilmiştir. K ve DS'ya daldırılan örnekler tüketilebilirlik özelliklerini yitirdiklerinden (hem mikrobiyolojik hem duysal yönden) 90. günde duysal değerlendirmeye alınmamışlardır. Fakat istatistik değerlendirme için bu depolama gününe ait puanlar, “ret” puanı olan 1 kabul edilerek analiz edilmiştir.

Sosislerin renk özelliğine verilen puan ortalamaları dikkate alındığında depolama başlangıcında puan ortalamaları 8.1-8.6 arasında değişmiş, depolama sonunda (90. gün) ise KS1 (6.40) ve KS2 (6.60) örnekleri en yüksek puanları almıştır. Depolamanın 60. gününde KS1 ve KS2 örneklerine verilen renk puanları K, DS ve LA örneklerinden daha yüksek olmuştur. Panelistler, kitosanlı örneklerin yüzey rengini daha parlak olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan varyans analizi sonucu hem uygulamanın hem depolama süresinin birlikte etkisinin önemli olduğunu ($P<0.01$) göstermiştir (Çizelge 4.9).

Uygulamanın renk üzerine etkisi, her bir depolama periyodunda kitosan konsantrasyonundan etkilenmezken ($P>0.01$), depolamanın 60. ve 90. günlerinde kitosan çözeltilerine daldırılan örneklerle K, DS ve LA'e daldırılan örneklerin renk puanları arasındaki farklar önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Şekil 4.8 incelendiğinde de kitosan içeren örneklerin renk puanlarının tüm depolama boyunca en yüksek olduğu görülmektedir.

Sosislerin koku puanları ve uygulama x süre etkileşiminin önemli olduğunu gösteren Duncan sonuçları çizelge 4.9'da görülmektedir. Depolamanın 0. ve 30. günlerinde 7.40-8.40 arasında değişen koku puanları, 60. günde K, DS ve LA örneklerinde 6.50-6.60'a düşmüş, 90. günde ise K ve DS'li örnekler reddedilmiştir. Depolama başlangıcında en düşük koku puanı 7.40 ile KS2'li örneklere verilirken, DS, LA ve KS1'li örnekler en yüksek puanları almış ve KS2 örnekleri ile K, DS, LA ve KS1 örnekleri arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

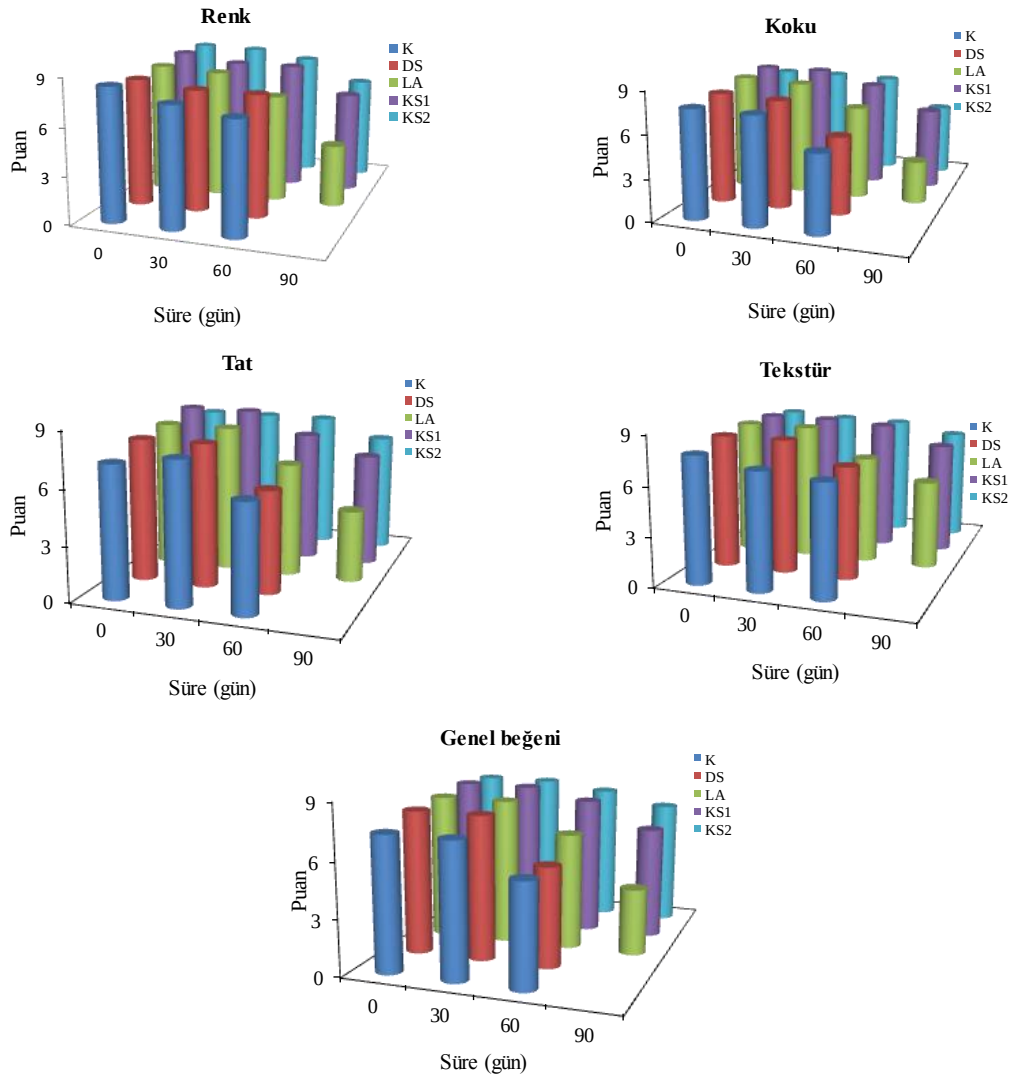
Çizelge 4.9 Sosislerin duyuşal özelliklerine kitosan çözeltilerine daldırmanın ve depolama süresinin etkisi

Uygulama	Süre (gün)			
	0	30	60	90
Renk				
K	8.40±0.28aA	7.60±0.00bB	7.10±0.14bcB	1.00±0.00cC
DS	8.10±0.14aA	7.70±0.14abA	7.70±0.14abA	1.00±0.00cB
LA	8.30±0.14aA	8.10±0.14abA	6.80±0.28cB	3.90±0.71bC
KS1	8.60±0.00aA	8.10±0.14abA	8.10±0.14aA	6.40±0.57aB
KS2	8.60±0.28aA	8.50±0.14aA	8.00±0.00aA	6.60±0.57aB
Koku				
K	7.70±0.42bA	7.60±0.28bcA	6.50±0.42cB	1.00±0.00dC
DS	7.90±0.14abA	7.70±0.42bcA	6.50±0.14cB	1.00±0.00dC
LA	8.30±0.14aA	8.10±0.14abA	6.60±0.28bB	3.00±0.28cC
KS1	8.40±0.00aA	8.40±0.00aA	7.50±0.14aB	5.80±0.28bC
KS2	7.40±0.00cA	7.40±0.00cA	7.30±0.14aA	6.90±0.14aA
Tat				
K	7.20±0.00cA	7.70±0.42abA	5.85±0.14bB	1.00±0.00cC
DS	7.80±0.28abA	7.80±0.28abA	7.20±0.28bB	1.00±0.00cC
LA	8.00±0.00abA	8.00±0.00abA	6.20±0.00bB	3.90±0.42bC
KS1	8.40±0.00aA	8.40±0.00aA	7.20±0.28aB	6.20±0.57aC
KS2	7.60±0.00bA	7.60±0.00bA	7.60±0.28aA	6.60±0.00aB
Tekstür				
K	7.70±0.14aA	7.10±0.14cB	6.80±0.28bB	1.00±0.00cC
DS	8.10±0.14aA	8.10±0.14abA	7.00±0.00bB	1.00±0.00cC
LA	8.20±0.00aA	8.20±0.00aA	6.50±0.14bB	5.30±0.14bC
KS1	8.10±0.14aA	8.10±0.14abA	7.90±0.14aA	6.80±0.28aB
KS2	7.80±0.00aA	7.60±0.28bA	7.50±0.14aA	6.90±0.14aB
Genel beğeni				
K	7.30±0.42aA	7.30±0.42aA	6.80±0.00bcB	1.00±0.00dC
DS	7.80±0.28aA	7.80±0.28aA	7.20±0.00cB	1.00±0.00dC
LA	7.90±0.14aA	7.90±0.14aA	6.30±0.14bB	3.60±0.57cC
KS1	8.10±0.14aA	8.10±0.14aA	7.50±0.14aA	6.10±0.42aB
KS2	7.90±0.14aA	7.90±0.14aA	7.50±0.14aA	6.80±0.28bB

*Ortalama±standart sapma.

a-c :Her bir sütunda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).

A-C: Her bir satırda aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.01).



Şekil 4.8 Sosislerin duyuusal puanlarında depolama sırasında meydana gelen değişim

Bununla birlikte depolamanın 60. gününde KS2 örneklerine verilen koku puanları düşmemiş ve farklı konsantrasyonlar arasındaki fark (KS1 ve KS2) ise önemli bulunmamış ($P>0.01$), fakat bu gruplarla diğer gruplar arasındaki puan farkı önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Depolama sonunda en yüksek koku puanı ortalaması 6.90 ile KS2 örneklerinde olmuş ve diğer gruplarla arasında önemli fark oluşmuştur ($P<0.01$). Sürenin etkisi incelendiğinde, KS1 ve KS2 örneklerine verilen koku puanı ortalamaları arasındaki fark 0., 30. ve 60. günler arasında değişmezken ($P>0.01$), bu günlerle 90. günler arasındaki fark önemli olmuştur ($P<0.01$). Kontrol ve DS'ya daldırılan sosislerin

TAMB sayıları 60. günde 7 logkob/g zerine çıkmasına karşın, pişmiş örneklerin koku puanları hala kabul sınırının (6.50) üzerinde kalmıştır. Bununla birlikte 60. günde en düşük koku puanı K ve DS'li örneklerle verilmiştir.

Sosislerin tat puanları çizelge 4.9'da görülmektedir. Tat puanlarına uygulamanın, sürenin ve uygulama x süre etkileşiminin etkisini belirlemek üzere yapılan varyans analizi sonucu, uygulama x süre etkileşiminin önemli ($P<0.01$) olduğunu göstermiştir. Bu etkileşimin hangi faktörler arasında etkili olduğunu gösteren duncan sonuçları da çizelge 4.9'da görülmektedir. Depolama başlangıcında sosis örneklerinin tat puan ortalamaları K, DS, LA, KS1 ve KS2 örneklerinde sırasıyla 7.20, 7.80, 8.00, 8.40 ve 7.60'tır. Bu periyotta en yüksek puanlara sahip DS, LA ve KS1 sosisleri arasındaki fark önemli olmazken ($P>0.01$), düşük puan ortalamalarına sahip K ve KS2 sosisleri ile aralarındaki fark önemli ($P<0.01$) olmuştur. Depolamanın 90. gününde KS1 ve KS2 örneklerinin tat puan ortalamaları sırasıyla 6.2 ve 6.6 ile en yüksek olurken, LA içeren örnekler kabul sınırının altında kalmıştır. Depolama süresinin uzamasıyla tat puanları azalmış, fakat sürenin etkisi tüm gruplarda 0. ve 30. günler arasında önemli olmazken ($P>0.01$), K örneklerine verilen tat puanları arasındaki fark tüm analiz periyotlarında önemli düzeyde ($P<0.01$) azalmıştır. Süreler arası fark, DS, LA ve KS1 örneklerinde ilk 30 gün arasında önemsiz ($P>0.01$), sonraki 60 ve 90. günler arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. % 1 KS çözeltisine daldırılan sosislerin tat puan ortalamaları arasındaki fark 0., 30. ve 60. günler arasında önemsiz ($P>0.01$), bu günlerle 90. gün arasında önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Bu sonuç, % 1 kitosan uygulamasının sosislerin tat özelliğini olumsuz etkilemeden koruduğunu göstermektedir. Şekil 4.8'de grupların tat puanları arasındaki fark daha iyi görülmektedir.

Sosislerin tekstür puanları 60 gün boyunca 6.2 ile 8.4 arasında değişmiş, 90. günde en düşük tekstür puanı 3.9 ile LA'li örneklerle, en yüksek KS'li örneklerle verilmiştir. Sosislerin genel beğeni puanları incelendiğinde, depolama başlangıcında 7.3-8.1, 30. günde 7.3-8.1, 60. günde K, DS, LA, KS1 ve KS2'li örneklerde sırasıyla 5.6 ve 5.4, 6.3, 7.5 ve 7.5 90. günde ise K ve DS'li örnekler değerlendirme dışı, LA, KS1 ve KS2 örneklerde sırasıyla 3.6, 6.1 ve 6.8 olmuştur. Görüldüğü gibi 90. günde bile % 0.5 ve

% 1 KS çözeltilerine daldırılan sosisler beğeni sınırının (5 puan) üzerinde puan ortalamalarına sahip olmuşlardır.

Benzer şekilde, Mahan ve Bostan (2007) % 0.25'lik, % 0.5'lik ve % 1'lik konsantrasyonda kitosan çözeltilerine daldırılan sosis örneklerinin duysal analizlerinde, kontrol grubu sosis örneklerine ve % 1'lik asetik asit grubu sosis örneklerine göre, her üç konsantrasyondaki kitosan grupları ile muamele edilmiş sosis örneklerinin daha parlak kırmızımsı renge sahip oldukları belirtilmiştir. Ayrıca her üç farklı yoğunluktaki kitosana daldırılmış sosis grubunda lezzet, koku ve kıvamda istenmeyen bir kusur tesbit etmemişlerdir.

Jo vd. (2001), kitosan oligomerinin domuz sosislerinde yüzey rengini artırıcı etki gösterdiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, vakum paketli domuz sosislerinin lezzet, yapı ve diğer duysal özelliklerinde de olumsuz bir değişime neden olmadığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, duysal yönden kitosan katılmış sosis ürünleri ile katılmamışlar arasında bir fark saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Lin vd. (2001), moleküler ağırlığı 150-1250 kDa arasında değişen % 1'lik kitosan uygulamasının düşük yağlı sosis örneklerinin yapısal ve duysal özelliklerine herhangi bir olumsuz etki etmediğini bildirmişlerdir. Elde edilen bu bulgular bizim bulgularımızla da uyumludur.

5. SONUÇ

Frankfurter gibi üretimi sırasında kabuk soyma ve ambalajlama aşamalarında olası kontaminasyon risklerine açık olan ürünlerde, kontaminasyonu önlemek amacıyla kabuk soyma işleminin hemen ardından antimikrobiyel etkisi kanıtlanmış olan kitosan çözeltilerine daldırma işlemi etkin bir mikrobiyel inhibisyon sağlamaktadır.

Çalışmamızda üretilen sosisler soğuk muhafaza periyodu boyunca bozulma belirtileri yönünden incelenmiştir. Soğuk muhafaza sürecinin altmışıncı gününden itibaren, kontrol grubunda MAP içerisinde, gözle görülür beyazımsı bulanık ve yapışkan nitelikli bir sıvı birikimi gözlemlenirken her iki kitosan grubu sosis örneklerinde, muhafazanın doksanıncı günü de dahil olmak üzere gözle görülür böyle bir oluşum meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Kitosanın % 0.5 ve % 1'lik konsantrasyonları önemli düzeyde mikrobiyel inhibisyon sağlamaktadır. Bu kitosan düzeylerinde sosislerin duyuşal özelliklerine verilen puanlarda depolama süresinin artmasına bağılı olarak azalmalar olmasına karşın, sosisler hala kabul sınırının üzerinde puanlar almaktadır.

Depolama sonunda renk ve tekstür puanları yönünden kitosan grupları arasında her iki konsantrasyonda bir fark gözlenmezken, koku ve tat puanı açısından % 1 kitosan konsantrasyonu en iyi sonucu vermiştir. Bunda 90. günde bile en düşük TAMB, TAPB ve LAB sayısının bu grupta olmasının etkisi olduğu düşünülmektedir. Buna göre gerek mikrobiyel inhibisyon, gerekse duyuşal yönden % 1 kitosan düzeyi, % 0.5 düzeyinden daha iyi sonuç vermektedir.

Kitosan çözeltilerine daldırılan sosislerin daha düşük pH değerine sahip olmasının, depolama sırasında mikrobiyel sayının artmasını önlemede etkili olduğu düşünülmektedir.

Soyulmuş sosislerin kitosan çözeltileriyle muamele edilmesi, üretim prosesine kolayca dahil edilebilecek bir yöntemdir. Buharla kabuk soyma işleminin hemen ardından, kitosan çözeltilerine daldırma veya sosis yüzeyine sprey şeklinde uygulama ile etkin bir dekontaminasyon sağlanabileceğı düşünülmektedir. Doğal bir koruyucu olması nedeniyle kitosan kimyasal koruyucular yerine kullanılabilecek iyi bir katkı maddesi olabilir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, S. 1997. Vakumla paketlenmiş sosis ve salamların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi, 3(1), 21-25.
- Aider, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT - Food Science and Technology 43 837-842.
- Aldemir, T. and Bostan, K. 2009. Effects of chitosan on the microbiological quality of ready to cook meatball. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, İstanbul University 35(2), 13-21.
- Andrés, S., García, M., Zaritzky, N. and Califano, A. 2006. Storage stability of low-fat chicken sausages. Journal of Food Engineering, 72, 311-319.
- Anonim. 1999. Safe practices for sausage production. Distance Learning Course Manuel, USDA FSIS Version 1, September 1999.
- Anonim. 2002. Sosis. TSE 980. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anonim. 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi Gazete, 28157.
- Anonim. 2012. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2012/74) Resmi Gazete Tarihi: 05.12.2012 Resmi Gazete Sayısı: 28488, 2012.
- Anonim. 2015. Web Sitesi: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1066, Erişim Tarihi: 13.11.2015.
- Anonymous. 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Chemists, 15th Edi., AOAC Inc., Arlington, VA.
- Anonymous. 2000. Official Methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC, U.S.A.: Association of Official Analytical Chemists (AOAC).
- Anthonsen, M.W., Vårum, K. M. and Smidsrød, O. 1993. Solution properties of chitosans: conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation. Carbohydrate Polymers, 22 (3), 193-201.
- Apaydın, G., Ceylan, Z., Atasever, M. and Kaya, M. 2008. A Survey on microbiological and chemical quality of vacuum-packaged frankfurters. Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi, 39, 109-113.

- Baldrick, P. 2010. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56, 290-299.
- Banks, J.G., Nychas, G.J. and Board, R.G. 1987. Sulphite preservation of meat products. In: *Preservatives in the Food, Pharmaceutical and Environmental Industries*. Board, R.G., Allwood, M.C. and Banks, J.G. (eds), Society of Applied Bacteriology Technical Series No. 22. 17-33. Oxford, Blackwell Scientific Publications, U.K.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.L. and Blixt, Y. 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 103-120.
- Bostan, K. and Mahan, F. 2011. Microbiological quality and shelf-life of sausage treated with chitosan. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, İstanbul University*, 37(2), 117-126.
- Bostan, K., Aldemir, T. ve Ayadın, A. 2007. Kitosan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(2), 118-127.
- Byelashov, O., Daskalov, H., Geornaras, I., Kendall, P., Belk, K., Scanga, J., Smith, G., Sofos, J. 2010. Reduction of *Listeria monocytogenes* on frankfurters treated with lactic acid solutions of various temperatures. *Food Microbiology*, 783-790.
- Cachaldora, A. García, G. Rodriguez, J. M. L. García-Fontán, M C. 2013. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics and the shelf-life of "morcilla", a typical cooked blood sausage. *Meat Science*, 93, 200-225.
- Caner, C., Vergano, P. J. and Wiles, J. L. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of Food Science*, 63, 1049-1053.
- Cao, Y., Gu, W., Zhang, J., Chu, Y., Ye, X., Hu, Y. and Chen, J. 2013. Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 141, 1655-1660.
- Chien, P.-J., Sheu, F. and Yang, F.-H. 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78, 225-229.
- Chung, Y. C., Wang, H. L., Chen, Y. M. and Li, S. L. 2003. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. *Bioresource Technology*, 88, 179-184.

- Collins, M.D., Farow, J.A.E., Philips, B.A., Ferusu, S. and Jones, D. 1987. Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola* and some catalase-negative asporogenous rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, *Carnobacterium*. International Journal of Systematic Bacteriology, 37, 310–316.
- Collins, M.D., Samelis, J., Metaxopoulos, J. and Wallbanks, S. 1993. Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc* paramesenteroides group species. Journal of Applied Bacteriology 75, 595–603.
- Cruz-Romero, M. and Kerry, J.P. 2011. Packaging of cooked meats and muscle-based, convenience-style processed foods. In: *Processed meats: Improving safety nutrition and quality* J.P Kerry and J.F. Kerry (Eds.), pp. 666-705, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. England.
- Cruz-Romero, M., Murphy, T., Morris, M., Cummins, E. and Kerry, J. 2013. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. Food Control, 34, 393-397.
- Darmadji, P. and Izumimoto, M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. Meat Science, 38(2), 243–254.
- Demir, A. ve Seventekin, N. 2009. Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 3(2), 92-103.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology, 21, 703–714.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. and Dutta, J. 2009. Perspectives for chitosanbased antimicrobial films in food applications. Food Chemistry, 114(4), 1173–1182.
- Dykes, G. and Holy, A. 1994. Taxonomic Status of Atypical *Lactobacillus Sake* and *Lactobacillus Curvatus* Strains Associated with Vacuum-Packaged Meat Spoilage, Current Microbiology, 28, 197-200.
- Dykes, G.A., Cloete, T.E. and von Holy, A. 1994. Identification of *Leuconostoc* species associated with the spoilage of vacuum-packaged Vienna sausages by DNA-DNA hybridization. Food Microbiology, 11, 271–274.
- Fang, S.W., Li, C.F. and Shih, D.Y.C. 1994. Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low sugar candied kumquat. Journal of Food Protection, 56, 136-140.

- Fang, Y., Tung, M. A., Britt, I. J., Yada, S. and Dalgleish, D. G. 2002. Tensile and Barrier Properties of Edible Films Made from Whey Proteins. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*, 67 (1), 188-193.
- Farber, J.M. 1991. Microbiological aspects of modified-atmospheres packaging technology-A review. *Journal of Food Protection*, 54, 58-70.
- Fukamizo, T. and Brzezinski, R. 1997. Chitosanase from *Streptomyces* ssp. Strain N 174: a comparative review of its structure and function. *Biochemical Cell Biology*, 75(6), 687–696.
- Gagne, N. 1993. Production of chitin and chitosan from crustacean waste and their use as a food processing aid. Master Thesis, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Montreal, Canada.
- Gardner, G.A. 1983. Microbial spoilage of cured meats. In: *Food Microbiology: Advances and Prospects*. Roberts, T.A. and Skinner, F.A. (eds.), pp. 179–202. London: Academic Press.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. and Georgakis, S. A. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Science*, 76, 172-181.
- Goosen, F.A. 1997. Applications of chitin and chitosan, CRC Pres LLC, Florida, 336p.
- Gökoğlu, N., Yerlikaya, P., Uran, H. and Topuz, O.K. 2010. The effect of modified atmosphere packaging on the quality and shelf life of frankfurter type-sausages. *Journal of Food Quality*, 33, 367-380.
- Guang-Hua, W. and Xiao-Ling, Q. 1994. The Incidence of *C. perfringens*, *S. aureus*, *Salmonella* and *L. monocytogenes* in retail meat and meat product in Beijing. *Fleischwirtschaft*, 74, 288-290.
- Gürsakal, N. 1998. Bilgisayar Uygulamalı İstatistik 2. Marmara Kitap Evi Yayınları, Bursa.
- Ha, J.U., Kim, Y.M. and Lee, D.S. 2001. Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. *Packaging Technology and Science*, 15, 55-62.
- Hammes, W.P., Weiss, N. and Holzapfel, W.P. 1992. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In *The Prokaryotes*, 2nd edn., ed. Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Herder, W. and Schleifer, K.H. pp. 1535–1594. New York: Springer-Verlag.

- Helander, I. M., Nurmiaho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. and Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 235–244.
- Hongpattarakere, T. and Riyaphan, O. 2008. Effect of deacetylation conditions on antimicrobial activity of chitosans prepared from carapace of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(1), 1-9.
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5167–5178.
- Jeon, Y.J., Park, P.J. and Kim, S.K. 2001. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, 44,71–76.
- Jeremiach, L.E. 2001. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short- or long-term distribution. *Food Research International*, 34, 749-772.
- Jimenez-Colmenero, F. 2000, Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products, *Trends in Food Science and Technology*, 11, 56-66.
- Jimenez-Colmenero, F., Carballo, J. and Cofrades, S. 2001, Healthier meat and meat products: their role as functional foods, *Meat Science*, 59, 5-13.
- Jo, C., Lee, J. W., Lee, K. H. and Byun, M. W. 2001. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*, 59(4), 369–375.
- Jones, R.J. 2004. Observation on the succession dynamic of lactic acid bacteria population in chill-stored vacuum packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 273-282.
- Kamil, J., Jeon, Y. J. and Shahidi, F. 2002. Antioxidative Activity of Chitosans of Different Viscosity in Cooked Comminuted Flesh of Herring (*Clupea harengus*). *Food Chemistry*, 79, 69-77.
- Kanatt, S., Chander, R. and Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*, 107, 845-852.
- Kılınç, B. ve Çaklı, Ş. 2001. Paketleme Tekniklerinin Balık ve Kabuklu Su Ürünleri Mikrobiyal Florası Üzerine Etkileri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*. Cilt 18, Sayı (1-2): 279-291.
- Kim, K. W. and Thomas, R. I. 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Food Chemistry*, 101, 308-313.

- Kim, Y.M., An, D.S., Park, H.J., Park, J.M. and Lee, D.S. 2002. Properties of nisin incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging materials. *Packaging Technology and Science*, 15, 27-254.
- Knowles, J. R., and Roller, S. 2001. Efficacy of chitosan, carvacrol and a hydrogen peroxide-based biocide against foodborne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. *Journal of Food Protection*, 64(10), 1542–1548.
- Kolsarıcı, N. and Candogan, K. 1995. Effects of potassium sorbate and lactic acid on the shelf life of vacuum-packed chicken meats. *Poultry Science*, 74(11), 1884-1894.
- Korkeala, H. and Alanko, T. 1988. The prediction of food-product shelf-life, p 537-538. *Proceedings of the 34th International Congress of Meat Science and Technology, Part B* . Brisbane.
- Korkeala, H., Alanko, T., Mäkelä, P. and Lindroth, S. 1989. Shelf-life of vacuum-packed cooked ring sausages at different chill temperatures . *International of Journal of Food Microbiology*, 9, 237-247.
- Korkeala, H.J., and Björkroth, K.J. 1997. Microbiological spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages. *Journal of Food Protection*, 60 (6), 724-731.
- Kumar, M.N.V.R. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27.
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. 2005. Kitin (Chitin), Kitosan (Chitosan) ve Türevlerinin Gıdalarda Kullanım Olanakları. *GIDA* 30 (6): 371-378.
- Latou, E., Mexis, S., Badeka, A., Kontakos, S. and Kontominas, M. 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 55, 263-268.
- Lee, D. S. 2005. Packaging containing natural antimicrobial or antioxidative agents. In J. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (pp. 108-119). Elsevier Science and Technology Books.
- Lin, D. and Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(3), 60-75.
- Lin, K-W. Chao, J-Y. 2001. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science*, 59, 343-351.
- Liu X.F., Guan Y.L., Yang D.Z., L,i Z. and Yao, K.D. 2001. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 79, 1324-1335.

- Liu, H., Du, Y., Wang, X. and Sun, L. 2004. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 147–155.
- Maezaki Y., Tsuji K. and Nakagawa Y. 1993. Hypcholesterolemic effect of Chitosan in adult males. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 57(9), 1439-44.
- Mahan, F.I. ve Bostan, K. 2007. Kitosanla kaplanmış soyulmuş sosislerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömürlerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Mytle, N., Anderson, G.L., Doyle, M.P. and Smith, M.A. 2006. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control*, 17, 102-107.
- Nazlı, B., Uğur, M., ve Akkol, N. 1986. İstanbul piyasasında tüketime sunulan sucuk, salam, sosislerin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar. *İstanbul Üniv. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 1-10.
- No, H.K., Kim., S.H., Lee, S.H., Park, N.Y. and Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and Antibacterial Activity of Chitosan Solutions Affected by Storage Temperature and Time. *Carbohydrate Polymers*, 65, 174-178.
- No, H.K., Lee, S.H., Park, N.Y. and Meyers, S.P. 2003. Comparison of physicochemical, binding, and antibacterial properties of chitosan sprepared without and with deproteinization process. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 7659–7663.
- Nowak, A., and Krysiak, E. 2005. Predominant microflora of vacuum-packed frankfurters. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14/55, S1 1, 91-94.
- Nychas, G.J.E. 1994. Modified atmosphere packaging of meats. In *Minimal Processing of Foods and Process Optimization: an Interface* ed. Singh, R.P. and Oliveira, F.A.R. pp. 417–436. London: CRC Press.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Bégin, A. and Holley, R. A. 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 139-148.
- Papineau, A. M., Hoover, D. G., Knorr, D. and Farkas, D. F. 1991. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*, 5, 45–57.
- Prajapati B.G. 2009. Chitosan a marine medical polymer and its lipid lowering capacity. *The Internet Journal of Health*. Volume 9 Number 2. DOI: 10.5580/1045.

- Qin, C., Li, H., Xiao, Q., Liu, Y., Zhu, J. and Du, Y. 2006. Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 367-374.
- Quintavalla, S. and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62(3), 373–380.
- Raafat, D., Barga, K., Haas, A. and Sahl, H.G. 2008. Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3764-3773.
- Rao, M. S., Chander, R. and Sharma, A. 2005. Development of shelf stable intermediate moisture meat products using active edible chitosan coating and irradiation. *Journal of Food Science*, 70, M325-M331.
- Rhazi, M., Desbrières, J., Tolaimate, A., Rinaudo, M., Vottero, P., Alagui, A., Meray, E. 2002. Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan: application to the treatment of liquid waste. *European Polymer Journal*, 38, 1523-1530.
- Rivero, S., García, M. A. and Pinotti, A. 2010. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(2), 369-375.
- Roller, S. 2003. Chitosan: New food preservative or laboratory curiosity. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. Press.
- Roller, S. and Covill, N. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47, 67–77.
- Roller, S. and Covill, N. 2000. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise based shrimp salads. *Journal of Food Protection*, 63, 202- 209.
- Roller, S., Sagoo, S., Board, R., O'Mahony, T., Caplice, E., Fitzgerald, G., Fogden, M., Owen, M. and Fletcher, H. 2002. Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages. *Meat Science*, 62, 165-177.
- Ruiz-Herrera, J., Lopez-Romero, E. and Bartnicki-Garcia, S. 1978. Properties of chitin synthetase in isolated chitosomes from yeast cells of *Mucor rouxii*. *Journal of Biological Chemistry*, 252, 3338-3343.
- Sachindra, N.M., Sakhare, P.Z., Yashoda, K.P and, Rao, D.N. 2005. Microbial profile of buffalo sausage during processing and storage. *Food Control*, 16, 31-35.
- Sagoo, S. Board, R. and Roller, S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, 19, 175-182.

- Sakala R.M., Hayasshidani H., Kato Y., Hirata T., Makino T., Fukushima A., Yamada T., Kaneuchi C., Ogawa M. 2002. Change in the composition of the microflora on vacuum packaged beef during chiller storage. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 87-99.
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., and Cháfer, M. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102-2109.
- Schillinger, U. and Lücke, F.K. 1987. Lactic acid bacteria on vacuum-packaged meat and their influence on shelf life. *Fleischwirtschaft*, 67, 1244–1249.
- Sekin, Y. ve Karagözlü, N. 2004. Gıda Mikrobiyolojisi. (Çeviri) Literatür Yayıncılık, 358 s., İstanbul.
- Seo, W. G., Pae, H. O., Kim, N. Y., Oh, G. S., Park, I. S., Kim, Y. H., Kim, Y. M., Lee, Y. H., Jun, C. D. and Chung, H. T. 2000. Synergistic cooperation between water-soluble chitosan oligomers and interferon- γ for induction of nitric oxide synthesis and tumoricidal activity in murine peritoneal macrophages. *Cancer Letters*, 159(2), 189–195.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., and Jeon, Y.J. 1999. Food Applications of Chitin and Chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 37-51.
- Shahidi, F., Kamil, J., Jeon, Y.J., and Kim, S.K. 2002. Antioxidant role of chitosan in cooked cod (*Godus morhua*) model system. *Journal of Food Lipids*, 9 (1), 57–64.
- Sindelar, J.J., Cordray, J.C., Olson, D.G., Sebranek, J.G. and Love, J.A. 2007. Investigating Quality Attributes and consumer acceptance of cured no-nitrate/nitrite-added commercial hams, bacons, and frankfurters. *Journal of Food Science*, 72 (8), S551-S559.
- Siripatrawan, U. and Noipha, S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids*, 27, 102-108.
- Sommers, C., Fan, X., Niemira, B.A. and Sokorai, K. 2003a. Radiation (gamma) resistance and post irradiation growth of *Listeria monocytogenes* suspended in beef bologna containing sodium diacetate and potassium lactate. *Journal of Food Protection*, 66, 2051.
- Sommers, C.H., Fan, X., Handel, A.P. and Baxendale-Sokorai, K. 2003. Effect of citric acid on the radiation resistance of *Listeria monocytogenes* and frankfurter quality factors. *Meat Science*, 63, 407.

- Soultos, N., Tzikas, Z., Abraham, A., Georgantelis, D. and Ambrosiadis, I. 2008. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. *Meat Science*, 80, 1150-1156.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. *Principle and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach*, New York: Mc. Graw-Hill.
- Stekelenburg, F.K. 2003. Enhanced Inhibition of *Listeria Monocytogenes* in Frankfurter Sausage by the Addition of Potassium Lactate and Sodium Diacetate Mixtures. *Food Microbiology*, 20, 133-137.
- Sudharshan, N. R., Hoover, D. G. and Knorr, D. 1992. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*, 6, 257-272.
- Terbojevich, M. and Muzarelli, R.A.A. 2000. *Chitosan*. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. Press.
- Thévenot, D., Delignette-Muller, M.L., S. Christieans, S. and Vernozy-Rozand, C. 2005. Fate of *Listeria monocytogenes* in experimentally contaminated French sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 101 (2), 189-200.
- Tompkin, B.A. 2002. Control of *Listeria* in the food-processing environment. *Journal of Food Protection*. 65(4), 709-723.
- Tsai, G.J. and Su, W.H., 1999. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 62(3), 239-243.
- Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C. and Pan, C.L. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68, 170-177.
- Turan, M. ve Soyer, A. 2011. Dondurularak depolanan fileto gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kalitesine kitosan ile glazelemenin etkisi. Yüksek Lisans Tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 111, Ankara.
- Upadhyay, A., Upadhyaya, I., Kollanoor-Johny, A., Baskaran, S.A., Mooyottu, S., Karumathil, D. and Venkitanarayanan, K. 2013. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on frankfurters by plant-derived antimicrobials alone or in combination with hydrogen peroxide. *International Journal of Food Microbiology*, 163, 114-118.
- Valsta, L.M., Tapanainen, H. and Mannistö, S., 2005. Meat fats in nutrition, *Meat Science*, 70, 525-530.
- Vermeiren, L., Devlignere, F., Van Beest, M., de Kruijf, N. and Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 77-86.

- Wallace, F. M., J. E. Call, A. C. S. Porto, G. J. Cocoma, ERRC Special Projects Team, and J. B. Luchansky. 2003a. Recovery rate of *Listeria monocytogenes* from commercially-prepared frankfurters during extended refrigerated storage. *Journal of Food Protection*, 66, 584-591.
- Wallace, F. M., J. E. Call, and J. B. Luchansky. 2003b. Validation of the USDA/ARS package rinse method for recovery of *Listeria monocytogenes* from naturally contaminated, commercially prepared frankfurters. *Journal of Food Protection*, 66, 1920-1973.
- Wang, G. H. (1992). Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *Journal of Food Protection*, 55 (11), 916-919.
- Xie, L., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z. Y., Meullenet, J., Wang, H., Slavik, M. F. and Janes, M. E. 2002. Edible Film Coating Minimize Eggshell Breakage and Reduce Post Wash Bacterial Contamination Measured by Dye Penetration in Eggs. *Journal of Food Science*, 67(1), 280-284.
- Yoshihiko, O., Mayumi, S., Takahiro, A., Hiroyuki, S., Yoshihiro, S., Ichiro, N., et al. 2003. Antimicrobial activity of chitosan with different degrees of acetylation and molecular weight with different degrees of acetylation and molecular weights. *Biocontrol Science*, 8, 25-30.
- Youn, S. K., Park, S. M., Kim, Y. J. and Ahn, D. H. 1999. Effect on storage property and quality in meat sausage by added chitosan. *Journal of chitin and chitosan*, 4(4), 189-195.
- Youn, S.K., Her J.H., Kim, Y.J., Choqi, J.S., Park, S.M., Ahn, D.H. 2004. Studies on the improvement of shelf-life in spicy beef meat using chitosan. *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*, 33, 207-211.
- Yörük, N. G. ve Güner, A. 2012. ISO Gıda Güvenliği Sistemini Uygulayan Et Ürünleri İşletmelerinde Üretilen Sucuk, Salam, Sosis ve Hamburger Köftenin Gıda Patojenleri Yönünden Kontrolü. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi.
- Zhuangdong, Y. 2007. Study on the synthesis and catalyst oxidation properties of chitosanbound nickel(II) complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21 (5), 22-24.
- Ziani, K., Osés, J., Coma, V. and Maté, J. I. 2008. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. *LWT-Food Science and Technology*, 41(10), 2159-2165.
- Zivanovic, S., Chi, S. and Draughon, A.F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal Food Science*, 70, 45-51.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Halime ÖZKAN

Doğum Yeri : Çankaya

Doğum Tarihi : 13.02.1987

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mimar Kemal Anadolu Lisesi (2004)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği
Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı (Eylül 2013 – Mart 2016)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Aytaç Gıda Yatırım ve Dış Ticaret Sanayii : 2009 -2011

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı : 2011 -