

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAZE ETİN BOZULMA SÜRECİNİN TAHRİBATSIZ OPTİK  
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Elif OLFAZ HEZER**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Gıda Mühendisliği Programı**

**HAZİRAN 2018**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAZE ETİN BOZULMA SÜRECİNİN TAHRİBATSIZ OPTİK  
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Elif OLFAZ HEZER  
(506161509)**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Gıda Mühendisliği Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK**

**HAZİRAN 2018**



İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506161509 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Elif OLFAZ HEZER, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "TAZE ETİN BOZULMA SÜRECİNİN TAHRİBATSIZ OPTİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur

**Tez Danışmanı :** **Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Doç. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Dr. Öğr. Üyesi Celale KIRKIN** .....  
Özyeğin Üniversitesi

**Teslim Tarihi** : **4 Mayıs 2018**  
**Savunma Tarihi** : **4 Haziran 2018**





*Aileme,*



## ÖNSÖZ

Tez süresince yardımını ve desteğini esirgemeyen, değerli fikirleriyle bana yol gösteren Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımı yapmamı finansal, alt yapı ve zaman kavramı olarak destekleyen Arçelik A.Ş. ailesine, uzmanım Dr. Aylin MET ÖZYURT'a, gıda bölümü aileme teşekkür ederim.

Tezim sırasında bu dünyadan gitmeden benim yüksek lisansımı bitirmemi dört gözle beklerken kaybettiğim canım babam Haydar OLFAZ beni büyütürken verdiği emeklere, bana verdiği desteğe, sevgine, aşıladığın güce teşekkür ederim. Senin sayende yazabildiğim tezim ile seni yukarıda gururlandırmak en büyük mutluluğum olur.

Yüksek lisans tezim süresince desteğini benden esirgemeyen canım eşim Yavuzhan HEZER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Mayıs 2018

Elif OLFAZ HEZER  
(Kimya ve Gıda Mühendisi)



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR .....	xi
SEMBOLLER .....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
SUMMARY .....	xxi
<b>1. GİRİŞ ...</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KIRMIZI ETİN FİZYOLOJİK VE KALİTE ÖZELLİKLERİ .....</b>	<b>3</b>
2.1 Dünyadaki Et Tüketimi .....	3
2.2 Etin Bileşimi ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	4
2.3 Kırmızı Etin Kalite Kriterleri .....	6
<b>3. KIRMIZI ETİN BOZULMA SÜRECİ VE KORUMA TEKNOLOJİLERİ ...</b>	<b>9</b>
3.1 Etin Mikrobiyal Kaynaklı Bozulması .....	9
3.1.1 Soğutulmuş taze etin bozulma süreci.....	10
3.2 Ette Yağ Oksidasyonu.....	11
3.3 Taze Eti Koruma Teknolojileri .....	12
<b>4. ETİN BOZULMA SÜRECİNİN OPTİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ</b> .....	<b>15</b>
4.1 Görünür Spektroskopi ve Renk Ölçümü .....	16
4.2 Raman Spektroskopisi.....	16
4.3 Kızılötesi Spektroskopi .....	18
4.4 Floresan Spektroskopisi .....	20
<b>5. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
5.1 Materyal .....	23
5.1.1 Et numunelerinin hazırlanması .....	23
5.1.2 Kullanılan kimyasallar .....	24
5.2 Yöntem.....	24
5.2.1 TBA oksidasyonu analizi .....	24
5.2.2 Mikrobiyolojik analizler .....	25
5.2.2.1 Deney koşulları .....	25
5.2.2.2 Besiyeri hazırlama.....	25
5.2.2.3 Kırmızı ette mikrobiyolojik ekim.....	25
5.2.2.4 Ekim sonuçlarının değerlendirilmesi .....	26
5.2.3 Duyusal analiz .....	26
5.2.4 FTIR spektroskopisi analizi .....	26
5.2.5 Floresan spektroskopisi analizi .....	27
5.2.6 Sıcaklık analizi .....	28
5.2.7 İstatistiksel analiz .....	28

<b>6. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>29</b>
6.1 TBA Analizi Bulguları .....	29
6.2 Mikrobiyolojik Analiz Bulguları.....	30
6.3 Duyusal Analiz Bulguları.....	33
6.4 FTIR Spektroskopisi Analiz Bulguları.....	35
6.5 Floresan Spektroskopisi Analizi Bulguları .....	38
6.5.1 Temel bileşen analizi.....	43
6.6 Sıcaklık Verileri .....	<b>45</b>
<b>7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>49</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>55</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>61</b>



## **KISALTMALAR**

<b>AQT</b>	: Appearance Quality Traits
<b>ATR</b>	: Attenuated Total Reflectance
<b>CASO</b>	: Casein- Peptone Soy Meal
<b>CFC</b>	: Cephalothin-Sodium Fusidate Cetrimide
<b>CLA</b>	: Conjugated Linoleic Acid
<b>DFA</b>	: Discriminant Function Analysis
<b>DFD</b>	: Dark, firm, dry
<b>DLaTGS</b>	: Deuterated L-alanine Doped Triglycene Sulphate
<b>Em.</b>	: Emission
<b>EQT</b>	: Eating Quality Traits
<b>Ex.</b>	: Excitation
<b>FAO</b>	: Food and Drug Organization
<b>FTIR</b>	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
<b>HPP</b>	: High Pressure Processing
<b>IR</b>	: Infrared Radiation
<b>MDA</b>	: Malondialdehyde (MDA)
<b>NADH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükletotid
<b>NMR</b>	: Nuclear Magnetic Resonance
<b>PLS</b>	: Partial Square Regression
<b>PP</b>	: Protoporfirin
<b>PSE</b>	: Pale, soft, exsudative
<b>RQT</b>	: Reliance Quality Traits
<b>TBA</b>	: Thiobarbituric Acid
<b>TBARS</b>	: Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay
<b>ZnPP</b>	: Zinc Protoporfiri



## **SEMBOLLER**

**g** : gram  
**ml** : mililitre  
**kob** : koloni oluşuran birim





## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1</b> : 100 g yağsız etteki besin içeriği. ....	5
<b>Çizelge 6.1</b> : 0 <sup>0</sup> C ve 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda muhafaza edilen taze bonfile et numunelerinin TBA değerleri. ....	30
<b>Çizelge 6.2</b> : 0 <sup>0</sup> C ve 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda zamana bağlı toplam canlı sayısındaki değişim(log <sub>10</sub> kob/ml). ....	31
<b>Çizelge 6.3</b> : 0 <sup>0</sup> C ve 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda zamana bağlı <i>Pseudomonas spp.</i> sayısındaki değişim(log <sub>10</sub> kob/ml). ....	33
<b>Çizelge 6.4</b> : 0 <sup>0</sup> C ve 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda zamana bağlı duyu analizi sonuçları	34
<b>Çizelge 6.5</b> : FTIR ile elde edilen 1550 cm <sup>-1</sup> ve 1640 cm <sup>-1</sup> 'bant değişimlerinin diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları. ....	37
<b>Çizelge 6.6</b> : 0 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları. ....	40
<b>Çizelge 6.7</b> : 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları. ....	42



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 4.1</b> : 10 <sup>0</sup> C’de saklanan kırmızı etten elde edilen FTIR spektrumu .....	19
<b>Şekil 6.1</b> : 0 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için ete ait zamana bağlı FTIR spektrumu .....	35
<b>Şekil 6.2</b> : 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için ete ait zamana bağlı FTIR spektrumu .....	36
<b>Şekil 6.3</b> : 420 nm’de uyarılan bonfile numunesine ait floresan spektrasının 0 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda zamana bağlı değişimi .....	38
<b>Şekil 6.4</b> : 420 nm’de uyarılan bonfile numunesine ait floresan spektrasının 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulunda zamana bağlı değişimi .....	39
<b>Şekil 6.5</b> : 0 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için floresan dalga boyu ve toplam canlı kullanılarak yapılan temel bileşen analizi .....	44
<b>Şekil 6.6</b> : 4 <sup>0</sup> C sıcaklık koşulu için floresan dalga boyu ve toplam canlı kullanılarak yapılan temel bileşen analizi .....	44



## TAZE ETİN BOZULMA SÜRECİNİN TAHRİBATSIZ OPTİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

### ÖZET

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı yaşam bilinci her geçen gün artmaktadır. Tükettikleri besinlerin içeriğine, kalitesine dikkat ederek ve standartlara uyması gerektiğini düşünerek gıda maddelerini satın almaktadırlar. Günlük diyetinde yer alması gereken protein, karbonhidrat, yağ, vitamin ve mineralleri hayvansal veya bitkisel kaynaklı tercih edip vücudun gereksinimlerini tamamlamaktadırlar. Kırmızı et ise içerdiği protein içeriği, esansiyel aminoasit miktarı ve çeşidi açısından bitkisel kaynaklı proteinlere göre öncelikli olarak seçilmektedir.

Taze et kalitesi tüketicilere göre değişkenlik gösterebilen bir kavramdır. Etin rengi, kokusu, lezzeti ve çiğneme kalitesi genel değişkenler olarak görülmektedir. Raf ömrü içerisinde kırmızı et birçok faktöre bağlı olarak bozulabilmektedir. Etin bozulması yağ oksidasyonu ve mikrobiyal gelişim ile meydana gelmektedir.

Yapılan bu çalışmada aerobik ortamda ambalajlanmış bonfile numuneleri, 0°C ve 4°C sıcaklık koşullarında 10 gün boyunca muhafaza edilerek, bozulma süreci izlenmiştir. Etin tazeliği tahribatsız yöntemlerden olan fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) ve floresan spektroskopisi ile incelenmiştir. İki optik yöntemin etin tazeliğini tahminleme yeteneğini konvansiyonel diğer kalite analizleri (TBA (tiyobarbitürik asit), mikrobiyolojik analiz ve duyu analizi) yardımıyla karşılaştırılmıştır.

FTIR analizi sonuçlarına göre, protein ve nem içeriğini temsil eden piklerdeki değişimin konvansiyonel test sonuçları ile paralel olduğu görülmüştür. Muhafaza süresi boyunca mikrobiyolojik gelişimin etkisi ile ortamdaki proteinler mikroorganizmalar tarafından parçalanarak, C-N bağ yapısında azalma meydana getirmiştir.

Floresan spektroskopisi ile etin kalite tayininde potansiyel bozulma göstergesi olarak değerlendirilebilecek porfirin izlenmiştir. Muhafaza süresi boyunca her iki sıcaklık koşulunda muhafaza edilen etlerin floresan yoğunluğu artmıştır. Bu artış, 4°C muhafaza sıcaklığına sahip ortamda muhafaza edilen etlerde daha fazla görülmüş, sıcaklığın bozulmadaki etkisi konvansiyonel testler ile de desteklenmiştir. Porfirin floresan yoğunluk pikleri diğer literatür çalışmalarından genel olarak farklıdır. Etin homojen olmayan yapısı, etin çeşidi, hayvanın cinsi, ve deney parametrelerindeki faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Her iki muhafaza sıcaklığı koşulundaki sonuçlara yönelik gerçekleştirilen temel bileşen analizi sonucuna göre, her iki sıcaklık şartında mikrobiyal bozulma ile birlikte oluşan metabolitlerin floresan özelliğinin 435 nm bulgulara dalga boyunda karakteristik değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Gelecek çalışmalarda, incelenecek fiziksel parametre sayısının ve aralığının genişletilerek validasyonun sağlanması ile, ette mikrobiyal ve biyokimyasal kaynaklı bozulmaların tespitinde hızlı yanıt verebilen optik yöntemlerin tercih edileceği ve geliştirileceği düşünülmektedir.



## **INVESTIGATION OF MEAT FRESHNESS WITH NONDESTRUCTIVE OPTICAL METHODS**

### **SUMMARY**

In the World, people have become very conscious about healthy life. They consume foods, thinking that they need to obey the standards by paying attention to the quality of foods. Each macro and micronutrients should be taken to the body in the daily diet. These are preferred by animal or vegetable sources and fulfill requirements of the body.

Red meat and other animal animal-derived foods are a better source of protein than vegetable-derived foods. Niacin, vitamin B6, vitamin B12, folic acid, zinc, iron can be supplied with meat consumption which is important in the daily diet. It is possible to supply 25% of these foodstuffs with 100 g of red meat per day. Red meat also contains selenium, riboflavin, pantothenic acid. With 100 g of red meat consumption, more than 10% of these minerals and vitamins can be provided. Meat consumption especially contributes to bone development for children. Meat consumption prevents anemia in pregnant women and children. It is also known that the consumption of high amounts of red meat can relate to cancer and obesity.

Consumption of red meat is parallel to the development of the countries and economic opportunities. While annual meat consumption is high in industrialized countries, meat consumption in developing countries is less than 10 kilograms per year. It is seen as the cause of undernutrition. When meat consumption in the World is investigated, Spain consumes the most meat in Europe while the least meat consuming country is Greece. In our country, annual meat consumption is equivalent to 5.7 kilograms. Looking at other European countries, the consumption rate is quite insufficient.

Fresh meat sensory quality is a concept that can vary according to consumers. The color, flavor, smell, and quality of chewing meat are seen as general variables. Meat appearance is determined according to factors such as meat color, fat content, fat color, and meat texture. Appearance quality traits are the most important parameters when consumers purchase meat. Softness, flavor, and hydration are gathered under the name of eating quality traits. Meat reliability, nutritional value, animal health, price, product presentation, origin, and brand are defined as reliance on quality traits. Sensory quality criteria are color, texture, and taste.

The microbial quality of raw meat is affected by factors such as the physical condition of the animal at the time of slaughtering, meat processing, and transfer. Unsuitable conditions are unacceptable in terms of human health, which leads to oil oxidation and autocatalytic enzymatic reactions with pH conditions suitable for the development of nutrients and microorganisms in meat. Microbial growth which cause food spoilage varies depending on environmental conditions such as food processing, storage, and distribution. Environmental factors are grouped under four main headings. These are internal factors (pH, water activity etc.), processing factors, external factors (temperature, relative humidity etc.) and other microorganisms.

*Pseudomonas spp.* is the most common deterioration agent in chilled raw meat. Under refrigerator temperatures (4°C) and under aerobic conditions, it develops in raw meat. The gram-negative microorganism is psychrotroph and can survive between 0 and 20°C temperatures. The high relative humidity of the refrigerator environment provides an additional ground for deterioration. Excessive amounts of *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragrans*, and *Shewanella putrefaciens* bacteria increase the population, resulting in meaty mildew and bad odor formation in refrigerator conditions.

Lipid oxidation is a decisive factor in deciding food shelf life in foods with muscle content, such as meat. The main products of the reaction between molecular oxygen and unsaturated fatty acids are hydroperoxides and secondary products such as alkenes, alkenes, aldehydes, ketones, alcohols, esters, acids, hydrocarbons. Lipid oxidation is the result of undesirable taste, color and texture changes in meat.

Along with microbial growth and lipid oxidation, meat deterioration and the development of food-borne pathogens are seen. For this reason, several methods have emerged to protect the meat. The most important factors affecting meat shelf life and quality are storage temperature, atmospheric oxygen, enzymes, moisture, light, and microorganisms. Each factor or combination of them affects the color, texture, smell, and taste of the meat. The hiding of the meat can be examined in three categories. These can be categorized as temperature control, moisture control and applied processes (bactericide, ionizer irradiation, packaging, etc.). The novel technologies based on extending shelf life is still continued. Chilling, freezing, high-pressure application, modified atmosphere packaging are known as novel technologies related to storage of meat.

Food safety of meat is an important issue. If it is not ensured and storage conditions are not maintained properly, it can easily deteriorate. As a result of microbial deterioration, odor and color changes, food poisoning can come to the scene by consuming these meats. Microbial deterioration is not always physically identifiable and becomes a dangerous situation for consumers. Chemical and microbiological analyzes are time-consuming, and they are destructive test methods. However, apart from chemical and microbial tests, there is a need for non destructive methods also being fast, reliable and having high-precision.

The preferred optical methods for quality measurements are based on spectroscopic measurements. It has four main headings. These are visible spectroscopy and color measurement, Raman spectroscopy, infrared spectroscopy and fluorescence spectroscopy. The most important reasons for the widespread use of optical methods in food quality control are non-destructive, fast, cheap, allowing for online measurements and not requiring too much labor cost to use.

In this study, beef samples were packed and stored at 0°C and 4°C and deterioration process was observed for 10 days. The freshness of samples was investigated by non-destructive methods such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and fluorescence spectroscopy. The performance of the two optical methods was supported by conventional tests such as TBA (thiobarbituric acid), microbiology and sensory analysis.

The change in protein and moisture content by FTIR analysis was done with conventional tests. The decrease in microbiological development, increase in fat oxidation, and panelist scores in sensory parameters were used. The proteins in the

environment are broken down by microorganisms, causing a decrease in C-N bond structure.

Potential porphyrin was used in the determination of the quality of the meat by fluorescence spectroscopy. Fluorescent intensity was increased in both chambers during the storage period. This situation was further observed in the 4<sup>0</sup>C section, and the effect of temperature on deterioration was supported by the conventional tests. Fluorescence peak obtained from two chambers in this study was different from literature. The result of the principal component analysis revealed that deterioration state with 435 nm detection wavelength at both temperatures could be selected as characteristic.

In the future studies, optical methods that can respond quickly in detecting microbial and biochemical changes in meat, will be preferred and developed by increasing the number of physical parameters to be examined and extending validation range.





## 1. GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerde kırmızı et tüketimi yıldan yıla artış göstermektedir. Kişi başı yıllık et tüketimi 1960'larda 10 kg iken 2000'lerde tüketimin 26 kg'a ulaştığı bilmektedir. FAO (Food and Drug Organization) tahminlerine göre bu oranın 2030 yılına doğru 37 kg olacağı yönündedir. Gelişmekte olan ülkelerdeki et talebinin artışı kentleşmenin hızlı ilerlemesi ve şehirde yaşayanların daha düşük gelire sahip kırsal kesimdekilere göre gıdaya daha fazla harcama yapmasıdır.

Kırmızı et ve diğer hayvansal kaynaklı gıdalar bitkisel kaynaklı gıdalara (soya fasulyesi hariç) göre daha iyi protein kaynağıdır. İnsan vücudunda sentezlenemeyen bazı esansiyel aminoasitler dengeli miktarlarda ve konsantrasyonlarda kırmızı etten sağlanabilir. Çocukların gelişimi için zorunlu, yetişkinlerin nörolojik sağlığı için önemli ve bitkilerde bulunmayan B<sub>12</sub> vitamini ette bol miktarda mevcuttur. Ayrıca etin içerisinde bol miktarda demir mevcuttur. Tüketimi ile birlikte özellikle hamile kadınlarda kansızlığın önüne geçilebilmektedir (Heinz ve Hautzinger, 2007). Beslenme için önemli bir yere sahip olan etin, içeriği dolayısıyla çok çabuk bozulabilen gıda türüdür. Gıda güvenliği sağlanmazsa ve muhafaza koşulları uygun tutulmazsa kolaylıkla bozulabilir. Mikrobiyal bozulma sonucunda koku ve renkte değişimler olur, bu etlerin tüketilmesi ile gıda zehirlenmesi meydana gelebilmektedir. Mikrobiyal bozulma her zaman fiziksel olarak tanımlanamaz ve tüketiciler tarafından tehlikeli bir durum haline gelir. Kimyasal ve mikrobiyolojik analizler zaman alan, tahribatlı test yöntemleridir. Bu yüzden kimyasal ve mikrobiyal testler haricinde zaman almayan, ete zarar vermeyen, hassasiyeti yüksek, güvenilir optik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında, 0°C ve 4°C koşullarında 10 gün boyunca ev tipi buzdolabında muhafaza edilen kırmızı etin tazeliğinin tahribatsız yöntemler arasında kabul edilen fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) ve floresan spektroskopisi ile incelenmesi, optik yöntemler ile elde edilen sonuçların konvansiyonel test yöntemleri olan TBA, mikrobiyoloji ve duyu analizler sonuçları ile uyumluluğunun temel bileşen analizleri ve korelasyon analizleriyle incelenmesi amaçlanmıştır.



## 2. KIRMIZI ETİN FİZYOLOJİK VE KALİTE ÖZELLİKLERİ

### 2.1 Dünyadaki Et Tüketimi

Et, sağlık için faydalı olan değerli besinlere katkıda bulunan dengeli bir diyetin parçasıdır. Et ve et ürünleri, büyüme ve gelişme için gerekli olan protein ve mikrobesein maddeleri olan vitaminler ve mineralleri önemli miktarlarda içerir. Etin daha fazla işlenmesi, değer katma, fiyatları düşürme, gıda güvenliği artırma ve raf ömrünü uzatma fırsatı sunar. Bazı sanayileşmiş ülkelerde kişi başı et tüketimi yüksek olmakla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde kişi başı et tüketiminin 10 kilogramın altında olması yetersiz olarak görülmekte ve bu durum genellikle yetersiz beslenme ve kötü beslenmeye neden olmaktadır. Ayrıca, Dünya'daki 2 milyardan fazla insanda önemli vitamin ve mineraller olan, A vitamini, iyot, demir ve çinko eksikliği olduğu tahmin edilmektedir. Eksiklikler, insanların et, balık, meyve ve sebze gibi mikro besin öğelerince zengin yiyeceklere erişiminin sınırlı olduğunda ortaya çıkar. Mikro besin öğelerince eksikliği olan insanların çoğu düşük gelirli ülkelerde yaşamaktadır. Et gibi son derece besleyici gıdalar gelişim çağındaki çocuklar, demir eksikliği çok fazla olan bireyler, özellikle kadınlar için gereklidir.

Yetersiz beslenme ile etkili bir şekilde mücadele etmek için günde kişi başına 20 g hayvan proteini veya yılda 7,3 kg et tüketimi sağlanmalıdır. Bu, sırasıyla yıllık 33 kg yağsız et veya 45 kg balık veya 60 kg yumurta veya 230 kg süt tüketimi ile sağlanabilir. Bu kaynaklar genellikle günlük gıda alımı ile birleştirilir, ancak hepsinin bulunmadığı bölgelerde diğerlerinin alımının artırılması gerekir. Hayvansal gıda maddeleri, sebze kaynaklarına kıyasla daha kaliteli protein kaynağıdır (Anonim, 2014).

Dünya'daki et tüketimine bakıldığında İngiltere'de toplam ortalama et tüketimi kadınlar ve erkeklerde sırasıyla günlük 108 g ve 72g'dır. İrlanda'da ise bu değerler 168 g ve 107 g'dır. Toplam günlük et tüketimi cinsiyete göre değişebilir. Almanya'da toplam günlük et tüketimi erkekler için 154 g, kadınlar için 84 g'dır. Avrupa'da et tüketimi en düşük olan ülke Yunanistan'dır. Etin en yüksek tüketimi ise Avrupa'da İspanya'ya aittir (Grujic, 2015).

Ülkemizde 2005-2015 döneminde et fiyatları iki kat kadar artarken tüketimi de aynı oranda artmıştır. 2005 yılında 321.681 ton kırmızı et tüketilirken, 2015 yılında 1.014.926 ton kırmızı et tüketildiği görülmüştür. Türkiye İstatistik Kurumu'nun yıllara göre kişi başı kırmızı et tüketimi verilerine bakıldığında, 2005 yılında et tüketimi 5,7 kg iken 2015'te 14,20 kg'dır. Günlük tüketim miktarı düşünüldüğünde diğer Avrupa ülkelerine göre günlük et tüketimi oldukça düşüktür (Karacan, 2017).

## 2.2 Etin Bileşimi ve Sağlık Üzerine Etkileri

Kırmızı et başlıca yağ, su ve proteinden meydana gelmektedir. Etin bileşimi hayvanın ırkı, yaşı, cinsine göre farklılık gösterebilmektedir. Tipik karkas etinde %75 su, %20 protein, %3 yağ ve %2 çözünemeyen protein yapılardan meydana gelmektedir (Briggs ve Schweigert, 1990).

Günlük diyetle önemli yere sahip olan et tüketimi ile protein, niasin, vitamin B6, vitamin B12, folik asit, fosfor, çinko, demir gibi vücutta eksikliği problem olabilecek makro ve mikro gıda bileşenleri alımı sağlanabilmektedir. Bu besin öğelerinin %25'ini günlük diyetle 100 g kırmızı et alarak sağlamak mümkündür. Ayrıca kırmızı ette selenyum, riboflavin, pantotenik asit de mevcuttur. 100 g kırmızı et tüketimi ile bu mineral ve vitaminlerin %10'dan fazlası sağlanabilmektedir (Bhutta, 1999).

Çiğ kırmızı ette 20-25 g protein/100 g bulunmaktadır. Et piştiğinde su kaybedeceğinden bu oran 28-36 g protein /100 g olabilmektedir. Günlük diyetle dışarıdan alınması gereken lizin, metiyonin, valin, triptofan, lösin, izölösin, fenilalanin, treonin gibi esansiyel aminoasitleri kırmızı et tüketimi ile sağlamak mümkündür. Etin protein sindirilebilirliği skoru çoğu bitkisel kaynaklı proteinlere göre yüksek olduğundan daha çok tercih edilmektedirler. Ette yüksek oranda bulunan aminoasitler glutamik asit (%16,5), arginin, alanin ve aspartik asittir.

Ette bulunan doymuş yağ asitlerini palmitik asit ve stearik asit meydana getirmektedir. Çoklu doymamış yağ asidi ise toplam yağ asidi miktarının %11 ile %29'unu karşılamaktadır. Serada beslenen hayvanların etlerinin omega-3 yağ asitleri miktarı tahıllarla beslenen hayvanların etine göre daha fazladır. Ayrıca konjuge linoleik asit (CLA), torin, karnitin gibi biyoaktif bileşikler ette bulunan diğer önemli bileşenlerdir (Williams, 2007). Çizelge 2.1'de hayvan çeşitlerine göre besinsel içerik tablosu görülmektedir.

**Çizelge 2.1** : 100 g yağsız etteki besin içeriği (Williams, 2007).

<b>Besin ögesi</b>	<b>Sığır Eti</b>	<b>Süt Danası</b>	<b>Kuzu</b>	<b>Koyun</b>
Nem (g)	73,1	74,8	72,9	73,2
Protein (g)	23,2	24,8	21,9	21,5
Yağ (g)	2,8	1,5	4,7	4,0
Enerji (kJ)	498	477	546	514
Kolestrol (mg)	50	51	66	66
Tiyamin (mg)	0,04	0,06	0,12	0,16
Riboflavin (mg)	0,18	0,20	0,23	0,25
Niasin (mg)	5,0	16,0	5,2	8,0
Vitamin B6 (mg)	0,52	0,8	0,10	0,8
Vitamin B12 (µg)	2,5	1,6	0,96	2,8
Pantotenik asit (mg)	0,35	1,58	0,74	1,33
Beta- karoten (µg)	<5	<5	8,6	7,8
Vitamin A (µg)	<5	<5	8,6	7,8
Alfa- Tokoferol (mg)	0,63	0,50	0,44	0,20
Sodyum (mg)	51	51	69	71
Potasyum (mg)	363	362	344	365
Kalsiyum (mg)	4,5	6,5	7,2	6,6
Demir (mg)	1,8	1,1	2,0	3,3
Çinko (mg)	4,6	4,2	4,5	3,9
Magnezyum (mg)	25	26	28	28
Fosfor (mg)	215	260	194	290
Bakır (mg)	0,12	0,08	0,12	0,22
Selenyum (µg)	17	<10	14	<10

Kırmızı et protein, su, yağ içeriği dışında mikrobesein öğelerini de içermektedir. Mineral içeriği et çeşitlerine göre bakıldığında hepsinde en çok bulunan mineraller potasyum, fosfor, sodyumdur. Niasin, vitamin B6 ve riboflavin ette en çok rastlanan vitamin olarak görülmektedir. Kolestrol seviyesi göz önünde bulundurulduğunda ise miktar olarak en çok süt danasında olduğu görülmektedir.

İçerdiği besin öğeleri açısından büyüme ve gelişimde büyük rol oynayan et tüketimi oldukça önemlidir. Et tüketimi ile birlikte makro ve mikro besin öğelerinin vücuda alımı sağlanabilmektedir.

Çocukların kemik gelişimi için gerekli kalsiyum içeriği ile de kemik hastalıklarının oluşumu engellenmektedir. Demir eksikliği ile ortaya çıkan kansızlık özellikle hamile kadınlar ve çocuklar için problem olan anemi et tüketimi ile azalmaktadır (Olmedilla-Alonso ve diğ., 2013).

Vitamin A, B12 gibi mikrobesein içeriği ve düşük glisemik indekse sahip olması bakımından kırmızı et tüketiminin her ne kadar yararlı olduğu düşünülse de içerdiği

yağ içeriği açısından kırmızı et tüketimi kansere sebep olabilmektedir. Az tüketimi ile kanser, obezite ve metabolik hastalıkların önüne geçildiği düşünülmektedir (Biesalski, 2005).

WHO'nun (2015) işlenmiş et tüketiminin ile kanser ilişkisini konu alındığı çalışmada 50 g işlenmiş et (yaklaşık 2 dilim domuz pastırması) tüketimin kolon kanserine yakalanma riskini %18 arttırdığı görülmektedir. Raf ömrünü arttırmak, ete tat katmak amacıyla yapılan işlemlere tuz ve ya koruyucu madde eklenmesi, tütsüleme ve pişirme girebilmektedir. Kanserle sebep olma olasılığına göre etleri sıralayan WHO, en tehlikeli grubu sosis, salam ve domuz pastırması olarak belirlemiştir. Bu grubu ise kırmızı et gurubundan domuz, sığır ve koyun eti takip etmektedir. Yapılan araştırmada kolon kanserine yakalanma riskini 21 % kırmızı et tüketimi sebep olmaktadır.

### **2.3 Kırmızı Etin Kalite Kriterleri**

Taze et kalitesi farklı ülkelerdeki tüketicilere göre değişkenlik gösterdiği için tanımı belirsizdir. Tüketici tercihleri doğrudan görünüm, koku, lezzet ve damak tadı gibi değişkenlere bağlıdır. Ayrıca taze et kalitesi bileşenler, besin öğeleri, pigment, su tutma kapasitesi, yumuşaklık, sululuk, aroma, bozulma, kontaminasyon gibi temel ve bilimsel etmenlere dayandırılarak tanımlanabilir (Joo ve diğ., 2013).

Yapılan araştırmalara göre genellikle tüketiciler için en önem açısından kalite kriterleri sırasıyla taze ette renk ve yumuşaklık; pişmiş ette yumuşaklık, lezzet ve sululuktur. Fakat tüketicinin tercihleri değişkenlik gösterdiğinden net bir sıralama verilememektedir (Joo ve diğ., 2013).

Et görünümünü etin rengi, yağ miktarı, yağ rengi, et dokusu gibi faktörlere göre karar verilir. Görünüm kalite özellikleri (appearance quality traits, AQT) etin satın alınması sırasında tüketicinin eti tercih etmesinde en önemli parametredir. Yumuşaklık, lezzet ve sululuk çiğneme kalite özellikleri (eating quality traits, EQT) adı altında toplanmaktadır. Etin güvenilirliği, besin değeri, hayvan sağlığı, fiyatı, ürün sunumu, orijini ve markası ise güven kalite özellikleri (reliance quality traits, RQT) olarak tanımlanmaktadır. AQT ve EQT ete bağlı içsel faktörler, RQT ise dışsal faktörler olarak bilinmektedir (Joo ve diğ., 2013).

Duyusal olarak ette aranılan kalite kriterleri renk, tekstür, aroma ve lezzettir. En önemli parametrelerden renk ette bulunan miyogloblin tarafından sağlanır. Et

kesildikten hemen sonra oksijenle temas kuran myoglobin oksimiyoglobine dönüşerek, etin parlak kırmızı rengine kavuşmasını sağlar. Hayvan yaşlandıkça, miyoglobin konsantrasyonunda artma gözlenir, bu durum ise ete koyu kırmızı bir görünüm vermektedir. Yaşı küçük inek ve öküzlerin etlerinin rengi açık kırmızıdır. Hemoglobinin fazla olduğu boğaların etinin rengi, sığır ve koyunların etlerinin rengine göre daha koyu kırmızıdır. Hayvan türü, verilen yem çeşidi, hayvanın cinsiyeti ve yaş gibi faktörler etin rengine etki etmektedir (Anonim, 2013).

Etin yapısında aranan en önemli özellik ise sululuk ve gevrekliktir. Yapı hayvan cinsi, yaşı, cinsiyeti vb. koşullara bağlı olarak değişmektedir. Etin kolayca parçalanması ve dişler arasında kalıntı bırakmaması beklenir. Aşırı sulu çok esnek veya çok sert olması istenmez. Hayvanın yaşı genç ise elde edilen etler daha gevreklerdir. Sebebi ise yaşlandıkça bağ doku miktarındaki artıştır, genç hayvanlarda bağ doku yaşlı olanlara göre daha azdır. Ayrıca kesim sonrası rigor mortis boyunca et sert haldedir. Rigor mortis sonrası belli sıcaklık ve süreye (0-4<sup>0</sup>C, 3-4 gün) tabi tutulması gerekir, böylelikle yeterli gevreklik elde edilir.

Ette oluşan uçucu bileşikler (aldehitler, ketonlar, esterler, alkoller, benzol bileşikler, furanlar, laktonlar) ve uçucu olmayan bileşikler tat ve kokuyu belirler. Normal koşullarda çiğ ette kan kokusu alınırken, tadı tatlı- tuzlu arasındadır. Isıl işlemler ile ete özgü tat ve kokusu elde edilir. Etteki besin bileşenleri, dinlendirme sırasındaki ortam ıslığı, oksidasyon derecesi, fibrillerin ince ve kalın oluşu aroma ve lezzete etki eden faktörlerdir (Anonim, 2013).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) TS 6160 (2014) verilerinde et kusurları olarak et altı ana kısma ayrılmıştır. Ölüm sertliği olmadan olgunlaşmasını tamamlamış, yumuşak doku, ekşimsi tat ve koku almış karkas eti çürümüş olarak nitelendirilmiştir. Mikroorganizmaların protein parçalayıcı enzimleri ile toksik madde oluşmasıyla oluşan kötü kokuya kokmuş et olarak tasvir edilmiştir. Renk olarak ise soğuk muhafaza koşulları altında oluşan renk bozukluklarını morarmış, koyu kırmızılaşmış, beyazımsı sararmış olarak kategorize etmiştir. Etin içerisinde bulunan hemoglobinin oksijenle birleşip oksihemoglobine dönüşmesiyle etin grimsi hal almasına esmerleşmiş et denmiştir.



### 3. KIRMIZI ETİN BOZULMA SÜRECİ VE KORUMA TEKNOLOJİLERİ

Gıdalarda bozulma renk, tat, koku ve dış görünüş gibi kalite kriterlerinin kaybı olarak tanımlanır. Mikrobiyal metabolizmaların yan ürünleri gıdalarda bozulmaya sebep olan ana sebeplerden biridir. Çoğu gıda kaynaklı bozulma bakteri, maya veya küflerin metabolik faaliyetlerinden dolayı meydana gelmektedir.

#### 3.1 Etin Mikrobiyal Kaynaklı Bozulması

Sağlıklı hayvanlarda bağışıklık sistemi ve cildin fiziksel bariyeri organları ve kasları mikroorganizmalardan korur. Bu yüzden yeni kesilen hayvanların kas dokularının bakteriyel kontaminasyondan uzak tutulması gerekmektedir. Deri yüzeyi ve gastrointestinal kanal bakteriler ile kolonize olmuş durumdadır ve kesim sırasında çapraz kontaminasyona sebep olmaktadır. *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* spp. gibi mikroorganizmalar toprak ve dışkıda bulunabilmektedir. Kesim işleminde kontamine olan ortamın bıçağa değmesi veya ele temas etmesi sonucunda hayvan dokusuna çapraz kontaminasyon olabilmektedir. Azot bileşikleri, mineral ve su bakımından zengin hayvan dokusunda bu mikroorganizmalar kolayca gelişebilmektedir. Bu yüzden etin işlemleri sırasında taze ette dahi bozulma başlayabilmektedir (Bautista ve diğ., 2014).

Çiğ etteki mikrobiyal kalite hayvanın kesim anındaki fiziksel durumu, etin işlenmesi ve transferi gibi faktörlerden de etkilenmektedir. İnsan sağlığı açısından kabul edilemez bu durum, ette bulunan besinler ve mikroorganizmaların gelişimi için uygun olan pH koşulları ile birlikte yağ oksidasyonuna ve otokatalitik enzimatik reaksiyonlara neden olur (Casaburi ve diğ., 2015).

Gıda bozulmalarında meydana gelen mikrobiyal gelişim gıda işleme, muhafaza, dağıtım gibi çevresel koşullara bağlı olarak değişim göstermektedir. Çevresel faktörler beş ana başlık altında toplanmıştır. Bunlar sırasıyla;

- Etin özünde olan faktörler iç faktörler (pH, su aktivitesi, doğal antimikrobiyal bileşenler, Eh, redoks kapasitesi, bileşimi)

- Gıda işleme faktörleri
- Dış faktörler. (sıcaklık, bağıl nem, atmosfer gazının bileşimi)
- Dâhili faktörler (mikroorganizmaların diğerlerini inhibe edici özellikleri)
- Yukarıda bahsedilen parametrelerin birbiriyle olan etkileşimleri

Karkas etinin mikrobiyolojik durumu hayvanın kesilme durumundaki fizyolojik durumu, kesim yerinde oluşan bulaşmalar, kesim işlemi, ortamın sıcaklığı ve kesim sonrası muhafaza ve dağıtım gibi koşullardan etkilenmektedir (Nychas ve Drosinos, 2014).

Mikroorganizmaların gelişimi açısından etin pH'ı önemli bir etkidir. Mikroorganizmaların çoğu pH 7,0 (6,6 – 7,5) arasında gelişim göstermektedir. Bazıları ise pH 4 altında dahi gelişim gösterebilmektedir. pH değerinin 5,6 ve ya bu değerden yüksek olması küf ve mayaların gelişip çoğalabilmesi için uygun ortamı oluşturmaktadır. Bakteriyel bozulmaya sebep olmasından dolayı pH'ın düşük olması ile raf ömrü ve gıda kalitesi ilişkilendirilmektedir. Yorgun hayvanlardan elde edilen karkas etlerin dinlenmiş hayvanlardan elde edilen etlere göre daha yüksek pH'a sahip olduğu bilinmektedir. Dinlenmiş olan hayvanın dokularında biriken glikojenin kesim sonrası sadece %1'i laktik aside çevrilir ve pH'ı 7,4'lerden 5,6'ya kadar düşmektedir. Bu değer sığır etinde hayvanın yorgun olması, kesim ortamının sterilazyonuna bağlı olarak 5,1 ile 6,7 arasında değişim göstermektedir. Kuzu etinde pH aralığı kesim sonrası 5,4-6,7 domuz etinde 5,3-6,9 arasında olmaktadır (Ayhan, 2000).

Etin bozulmasında bir diğer önemli faktör ise Eh sembolü ile gösterilen oksidasyon-redüksiyon (O/R) potansiyelidir. Aerobik ve anaerobikler mikroorganizmaların gelişiminde Eh farklı derecelerde etki göstermektedir. Örneğin Eh değeri +400 ve -400 milivolt arasında değişim göstermektedir. Taze ette Eh değeri -200mV iken kıymada +200 mV'tur. Oksidasyon değerinin yükselmesi ile etin bozulduğu aerobik mikroorganizmaların geliştiği hakkında bilgi tayin edilebilmektedir (Ayhan, 2000).

### **3.1.1 Soğutulmuş taze etin bozulma süreci**

*Pseudomonas* spp. soğutulmuş çiğ ette en çok rastlanan bozulma ajanıdır. Buzdolabı sıcaklıklarında (4<sup>0</sup>C) ve aerobik koşullar altında günler içerisinde çiğ ette gelişim göstermektedir. Gram-negatif olan mikroorganizma psikrotrof olup 0 ile 20<sup>0</sup>C sıcaklıkları arasında çoğalabilmektedir. Buzdolabı ortamının yüksek bağıl nemi

bozulmaya ilave zemin hazırlamaktadır. Aşırı miktarda *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* ve *Shewanella putrefaciens* bakterilerinin popülasyon artışı ile buzdolabı koşullarında ette çamurumsu-yeşil görüntüye ve kötü koku oluşumu gerçekleşmektedir (Bautista ve diğ., 2014).

Ortamdaki oksijen miktarı sınırlandırıldığında ise *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Brochothrix* spp. gibi türler gelişim göstererek ette bozulmaya sebep olmaktadır. Bu bakterilerin yüksek oranda varlıklarında *Acinetobacter* ve *Moraxella* spp. hızlıca proteinleri hidrolize ederek ette istenmeyen tat ve koku oluştururlar. *Brochothrix thermosphacta* ise glukoz ve glutamati kullanarak ette çamurumsu bir doku ve istenmeyen kokuya sebep olur. *Flavobacterium* spp. ve *Serratia marcescens* ise modifiye atmosfer koşullarında buzdolabında ette yeşilimsi görüntüye sebep olarak kokuda istenmeyen değişimi meydana getirirler (Bautista ve diğ., 2014).

TS 6160 (2014) içeriğinde etin muhafazasında soğutma uygulanıyorsa 0°C ila 4°C sıcaklıkta ve % 55 - % 90 bağıl nemde 2 haftaya kalitesinde kayba uğramadan muhafazası mümkün olduğu söylenmektedir.

### **3.2 Ette Yağ Oksidasyonu**

Yağ oksidasyonu et gibi kas içeriği olan gıdalarda gıda saklama ömrü karar vermede belirleyici bir faktördür. Moleküler oksijen ile doymamış yağ asitlerinin arasında meydana gelen reaksiyonun başlıca ürünleri hidroperoksitler ve alkan, alken, aldehit, keton, alkol, ester, asit, hidrokarbonlar gibi ikincil ürünlerdir. Yağ oksidasyonu sonucu ette istenmeyen tat, renk ve doku değişimi olmaktadır (Ross and Smith, 2006).

Birincil ürün olan peroksitler ikincil ürünlere çabuk dönüştüğünden dolayı yağ oksidasyon derecesi belirlenmemektedir. Bu yüzden ikincil ürünlerin tespiti ile oksidasyon derecesi bulunmaktadır. İkincil ürünler olan karbonil ve hidrokarbonlar ile aldehitlerin oluşumu 2-tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerinin (2-thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) ölçümü ile bulunabilmektedir (Ross and Smith, 2006).

TBARS miktarını tayin etmek için ekstrakte edilen malonaldehitin spektrofotometrik olarak ölçümü yapılır. Tek olumsuz özelliği oksidasyon bileşikleri veya farklı bileşikler ile reaksiyona girmesi ve analizi etkilemesidir (Ross and Smith, 2006).

Birincil reaksiyon ürünlerinin analizi ve TBARS ölçümündeki sınırlamalardan dolayı yağ oksidasyonu için uçucu bileşik tayini popüler hale gelmiştir. Kaslı gıdalarda yağ

oksidasyon ürünlerinden en öne çıkan aldehitlerdir. Oktanal, nonanal, pentanal ve hekzanal gibi birçok aldehit oksidasyon sonucu meydana gelmektedir. Hekzanal ette yağ oksidasyonunda diğer uçuculara göre en güçlü indikatördür (Ross and Smith, 2006).

### 3.3 Taze Eti Koruma Teknolojileri

Etin içerisinde bulunan türlü besin içeriği eti mikroorganizmaların gelişimi açısından uygun hale getirmektedir. Mikrobiyal gelişim ile birlikte ette bozulma ve gıda kaynaklı patojenlerin gelişimi görülmektedir. Bu nedenle etin korunması çeşitli yöntemler ortaya çıkmıştır. Kontrolü atmosfer gazı altında ambalajlama ve vakum ambalajlama en bilinen yöntemlerdendir (Aymerich ve diğ., 2008).

Etin raf ömrü ve kalitesini etkileyen en önemli faktörler muhafaza sıcaklığı, atmosferik oksijen, enzimler, nem, ışık ve mikroorganizmalardır. Her bir faktör ya da bunların kombinasyonu etin renk, doku, koku ve tadını etkilemektedir. Etin saklanması üç kategoride incelenebilir. Bunlar ette sıcaklık kontrolü, nem kontrolü ve uygulanan işlemler (bakteri yok edici; iyonlaştırıcı ışınlama, ambalajlama, vb.) olarak kategorize edilebilir (Zhou ve diğ., 2010).

İnsanlığın ilk çağlarında düşük sıcaklıkların sağlanabilmesi için tüketilecek etler mağaralarda saklanırdı. Eski çağlardan bugüne etin muhafaza edilmesinde en çok tercih edilen yöntem soğutmadır. Soğutma ile etin sıcaklık ve nem kontrolü kolaylıkla sağlanarak mikrobiyal gelişim önlenmektedir. Taze etin soğutulması donma noktasının üstü veya altında muhafaza olarak bilinmektedir. Soğutma ile çoğu mikroorganizmanın gelişimi için ideal sıcaklıkların altına inilerek etin hijyeni, güvenliği, raf ömrü, görünüm ve çiğneme kalitesi koruma altına alınır. Hızlı karkas soğutma ile mikrobiyal gelişim engellenirken enerji verimi de sağlanabilmektedir. Ancak ultra hızlı soğutma rigor mortis öncesi ette “cold shortening”e ve sertleşmeye sebep olabilmektedir (Feldhusen ve diğ., 1995).

Et üzerine uygulanan ısı olmayan yeni teknolojilerden en bilinenleri yüksek hidrostatik basınç, modifiye atmosfer paketleme, aktif paketleme, iyonlaştıran ışınlar ve doğal antimikrobiyaller bileşikler ve biyokorumadır (Zhou ve diğ., 2010).

Isıl olmayan uygulamalarda HPP (high pressure processing, yüksek basınç uygulaması) gıdanın duyu ve besinsel özelliklerine zarar vermeden düşük

sıcaklıklarda bozulmaya sebep olan enzim ve mikroorganizmaların gelişimini engelleyen bir yöntemdir. Gıdaya 100-1000 Mpa arası basınç uygulanmaktadır. İlk maliyet, operasyon maliyeti yüksek olan uygulama bu özelliklerine rağmen Avrupa'da alternatif teknoloji olarak ilgi görmektedir (Cheftel ve Culioli, 1997).

Ambalajlama ile renkte istenmeyen görüntü, tat ve koku gelişimi, besin kaybı, doku değişimi gibi önemli faktörler engellenmektedir. Taze etin paketlenmesinde nem kaybı az da olsa meydana gelmektedir. Soğutulmuş çiğ et, hava geçirgenliği olan ambalajlama materyali ile paketlenme, düşük oksijenli vakum uygulaması, düşük veya yüksek oksijenli modifiye paketlenme ile saklanabilmektedir. Hava geçirgenliği bulunan ambalajlama sadece etin örtülmesi görevini görür, modifiye ambalaj sınıfına girmemektedir (McMillin ve diğ., 1999).

Aktif ambalajlama ise belirli bileşiklerin ambalaj içine dâhil edilerek içerik ve ortamla etkileşim sağlanır. Gıdanın raf ömrünü uzatır, etin bozulması ile ilgili bilgi vermesinden dolayı olumlu karşılanmaktadır. Küçük poşetlerde bulunan oksijen tutucular etin yüzeyini kolayca koruduğundan dolayı üreticiler için çekici hale gelmiştir (Kerry ve diğ., 2006).

İyonlaştırıcı ışınlatma yöntemi mikrobiyal gelişimin engellenmesi için direkt olarak kullanılan bir yöntemdir. Gıdada bakterilerin inaktivasyonunda oldukça etkili bir yöntemdir. Termal yöntemlerle kıyaslandığında uygulanan 10 kGy maksimum doz ile sıcaklık daha az artmaktadır. Etin tazeliği ve besinsel kalitesi korunabilmektedir. Bununla birlikte, etin içeriğinde bulunan miyogloblin, demir gibi besin maddeleri uygulama sonrası etin renginde değişime neden olabilmektedir. Bu yüzden raf ömrünün uzatılmasında tercih edilmemektedir (Aymerich ve diğ., 2008).

Kimyasal koruyucular (karbondioksit, ozon, organik asitler, alkoller ve tuzlar) ve biyokoruma ajanları (esansiyel yağlar, kitosan, nisin ve lizozim) ile etin raf ömrü uzatılabilir. Kimyasal koruyucular yerine yeşil etikete sebep olabilecek doğal koruma ajanları araştırmalara göre sağlıklı görülmesine rağmen suda az çözünür olması, diğer gıda bileşenleri ile etkileşiminin efektif olmaması nedeniyle üreticiler tarafından tercih edilmemektedir.

Son olarak koruma yöntemlerinin birlikte kullanımı olarak bilinen "engel teknolojisi" etin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Gıda korumasında en önemli engeller sıcaklık (düşük veya yüksek), su aktivitesi, asitlik, redoks potansiyeli, koruyucular ve

yarışmacı mikroorganizmalardır. Engelleri aşmak için yukarıda belirtilen olduğumuzu koruma yöntemleri belirli bir sıra ile uygulanır (Zhou ve diğ., 2010).



#### 4. ETİN BOZULMA SÜRECİNİN OPTİK YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Et endüstrisinde karşılaşılan en büyük sorun üretim prosesi boyunca etin güvenilebilirliğinin tüketici tarafından bilinmemesidir. Bu sorunu karşılamak ve etin teknolojik ve duyuşal kalitesini anlamak için hızlı, güvenilir, tahribatsız yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Son yıllarda et kalite karakterlerini ölçmek için sayısız metot geliştirilmiştir. Yöntemlerin birçoğu ise tahribatsız örnek üzerinde kolay cevap verebilecek olanlardır. Bu çalışmalarda kas içeren gıdalarda tekstür, besin içeriği ve görünüm gibi kalite kriterlerinin niceliksel değerlerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Günlük diyetle çokça yer alan etin kalite açısından ana besin içeriğinin (yağ, protein, lif, vitamin vb.) aydınlatılması ve etin güvenirliliği de kontrol edilmesi gerekir. Kimyasal madde kalıntısı, ağır metaller, patojenler ve diğere potansiyel sağlığa zararlı faktörlerin hızlıca saptanması gerekmektedir (Grunert, 1997).

Fonksiyonel özellikleri etkileyen hayvanın yaşı, cinsi ve cinsiyeti gibi biyolojik çeşitlilik faktörleri etin özellikle yumuşaklığını etkilemektedir. Hayvanın kesim sırasında stres altın olması da etin yumuşaklığını oldukça etkilemektedir. Tahribatsız optik yöntemlerle uygun et yumuşaklığı hakkında bilgi almak mümkün olmaktadır. (Judge ve Aberle, 1982).

Su içeriği etin sululuk oranını etkileyerek duyuşal özelliklerini etkilemektedir. Etin solgun, yumuşak ve eksüdatif (pale, soft, exsudative, PSE) ve koyu, sert ve kuru (dark, firm, dry, DFD) kusurlar etin su tutma kapasitesi, su aktivitesi gibi özellikleri hakkında bilgi vermektedir. PSE ve DFD kusurları miyofibril metabolizması ölçülerek belirlenebilir. Tahribatsız biyofiziksel yöntemler ile etin çoğu gerekli kalite kriterleri hakkında tahminleme yapmak mümkündür (Damez ve Clerjon, 2008).

Biyofiziksel tahribatsız metotlar 5 ana başlık altında toplanmaktadır. Bunlar; mekanik yöntemler, optik yöntemler, dielektrik metotlar, X-ray ölçümleri ve nükleer magnetik rezonans (NMR) ölçümleridir.

Düşük frekanslardan yüksek frekanslara, optik spektroskopi yakın kızılötesi, görünür ve ultraviyole (floresan dahil) gibi çoğu metodu kapsamaktadır. Gıdalarda kalite

ölçümünde tercih edilen optik metotlar spektroskopik ölçümlere dayanmaktadır. Dört ana başlıktan meydana gelmektedir. Bunlar: görünür spektroskopi ve renk ölçümü, raman spektroskopisi, kızılötesi spektroskopi ve floresan spektroskopidir. Optik metotların gıda kalite kontrolünde kullanımının yaygın olmasının en önemli sebepleri tahribatsız, hızlı, ucuz olması, online ölçümlere olanak vermesi ve kullanımı için fazla iş gücü maliyetine ihtiyaç duyulmamasıdır.

#### **4.1 Görünür Spektroskopi ve Renk Ölçümü**

Biyofiziksel metotlardan görünür spektroskopi (yakın UV ve /veya yakın kızılötesi ışınım bölgelerini) ve L\*, a\*, b\* renk aralığını kullanır. Doku karakterizasyonunda tahribatsız araç olarak tercih edilir.

Et biliminde etin PSE ve DFD kusurlarının saptanmasında görünür spektroskopi ve renk ölçümü kanatlı etlerinde potansiyel bir uygulama olarak kullanılmıştır (Barbut, 1993). Pişmiş domuz jambonunda L\*, a\*, b\* sistemi duyuşal yumuşaklığın tahmin edilmesinde tercih edilen metot olmuştur (Valkova ve diğ., 2007).

Xia ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada etin yumuşaklığında önemli faktör olan sarkomer uzunluğu ve kolajen içeriğini bulmak için görünür spektroskopi yöntemini kullanmışlardır. 450-950 nm band aralığında fiber optik probu deneyerek optik saçılımına bakmışlardır. Optik prob ile et örneklerinin absorpsiyon katsayılarını bularak, kolejan fiberleri ve miyofibril morfolojisini karar vermişlerdir. Etin yumuşaklığının göstergesi olarak kullanılmasında optik prob uygun görülmüştür.

#### **4.2 Raman Spektroskopisi**

Titreşimsel spektroskopik yöntemi olan raman spektroskopisi yoğun olarak madde fiziği, biyomedikal uygulamalar ve kimya alanında kullanılmaktadır. Elastik olmayan monokromatik ışığın saçılımı prensibine dayanmaktadır. Görünür, kızılötesi ışınım veya yakın UV spektrum aralığını kullanmaktadır. Kızılötesi radyasyon spektroskopisine benzerdir fakat daha karmaşık bilgi vermektedir.

Biyokimyasal doku analizlerinde hem makro hem mikro ölçekte analizlerde yüksek potansiyele sahiptir. Konsantrasyon, yapı ve biyokimyasal moleküllerin etkileşimi hakkında bilgi vermesi, dokuya zarar vermeden, homojenizasyon, ekstraksiyon,

arttırıcı ajanlara ihtiyaç duymadan örnek analizi yapılabildiğinden diğer konvansiyonel metotlara göre avantaj sağlamaktadır (Damez ve Clerjon, 2008).

Katı numuneler ve sulu çözeltilerin yapısıyla ilgili bilgilere karar vermekte önemli bir metot olan raman spektroskopisi kimyasal bağ değişimi ile numunenin içeriği hakkında bilgi verebilmektedir. Uygun sonuçlar elde edebilmek için hem dalga boyu hem yoğunluğunun kalibre edilmesi gerekmektedir. Uzun süreli stabilite ve güvenilir göreceli yoğunluğa sahip olan kalibrasyon sonrası uygulamalarla niceliksel analizler mümkün olmaktadır. Raman spektrumu ana titreşimsel geçişleri gösterebilmektedir. Böylelikle çeşitli bileşenlerin moleküler yapısı hakkında da bilgi edinilmektedir. Özellikle ikincil ve üçüncül protein yapıları ile ilgili bilgi sağlamaktadır (Herrero, 2008a).

Kas içeren gıda proteinlerinin karmaşık katı sistemleri hakkında yapısal bilgiye raman spektroskopisi ile ulaşılabilir. Özellikle ikincil protein yapılarındaki protein değişimlerini amid I (1650–1680  $\text{cm}^{-1}$ ) ve amid III (1200–1300  $\text{cm}^{-1}$ ) bölgeleri ile C-C gerilme bağı (940  $\text{cm}^{-1}$ ), belli protein bölgelerindeki triptofan kalıntıları, alifatik aminoasit bantları analiz edilmektedir. Farklı bileşiklerin ete katılması veya etin dondurularak veya soğutularak saklanması etkilerinin bağ doku ve kas lifindeki etkisini görmek için de kullanılmaktadır. Ayrıca etin fonksiyonel ve duyuşal özelliklerinin tahmin edilmesinde de tercih edilmektedir (Herrero, 2008b). Biyolojik makro moleküllerin ve kompleks biyolojik sistemlerin (kas içeren gıdalar dahil) içerdiği suyun yapısına karar verilmesinde Raman spektroskopisinden yararlanılır. Su genellikle 3100 ve 3500  $\text{cm}^{-1}$  band aralığında OH gerilim hareketleri göstererek tanımlanmaktadır (Maeda ve Kitano, 1995).

Etin içerisinde bulunan yağ içeriği ile ilgili bilgilere ulaşmaya da olanak tanımaktadır. Örneğin: 1750, 1660, 1470, 1443, 1306 ve 1269  $\text{cm}^{-1}$  bandları civarlarında C=C gerilimi görülmektedir. Doymamış yağ asitlerinin frekansları C=C bağlarına oldukça hassastır. Cis doymamış yağ yapısı 1670-1680  $\text{cm}^{-1}$  band aralığından gerilim gösterirken trans doymamış yağ asidi 1650-1665  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde gerilim göstermektedir (Li-Chan, 1996).

Etin bozulmasını Raman spektroskopisi ile algılamak için Sowoidnich ve diğ. (2010) etin bozulması üzerine yaptıkları çalışmada 671 nm diyot lazer ile bağlantılı optik raman probu ile et analizi yapmışlardır. Muhafaza süresi boyunca raman sinyalleri

kontrol edilerek etin bozulması hakkında fikir sahibi olmak için tipik protein spektrumları incelenmiştir. Tirosin, fenilalanin gibi aromatik amino asitler ile polipeptit omurgasında dominant amid I ve amid III spektrumlarının değişimi incelenmiştir. Her birinin raman spektrumları zaman içerisinde ana hat boyunca artmıştır. Etin bozulması ile paralel artış gösteren raman sinyalleri etin aynı zamanlama ile bozulduğunu göstermiştir.

#### 4.3 Kızılötesi Spektroskopi

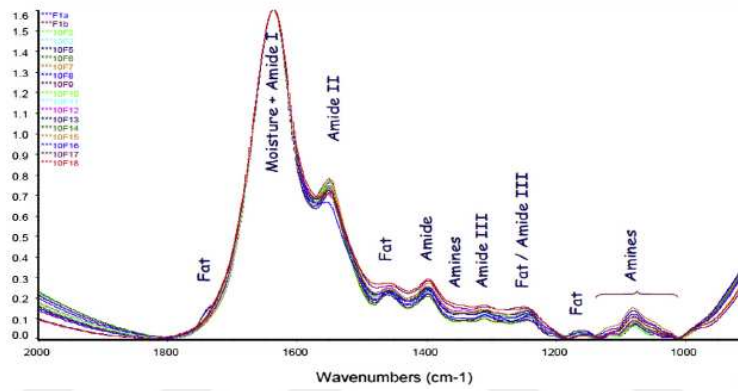
Titreşim spektroskopisi olan kızılötesi (IR) absorpsiyonun çalışma prensibi yayılan ışınların molekül hareketleri tarafından soğurulmasıdır. Diğer optik yöntemlerden farklı olarak her dalga boyunu ayrı taramaz ve hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar sağlar. Çok az miktarlar numuneye ihtiyaç duyan bu optik yöntem gıda mühendisliğinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Mikrobiyal hücrelerin tanımlanması, makromoleküllerin yapısal analizi, organik maddelerin nicel ve niteliksel analizi, yapıların aydınlatılması, saflık kontrolü gibi amaçlarla kullanımına sıklıkla rastlanılmaktadır (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

IR spekturumu ile organik ve inorganik bileşiklerin içerisindeki atomlar arasındaki bağların titreşimiyle meydana gelen frekansları, absorpsiyon piklerine karşılık gelmektedir. Maddenin parmak izi olarak da adlandırılan spekturumu her maddenin has özelliklerini göstermektedir (Vassilis ve diğ., 2014).

Hızlı, güvenilir, ucuz ve hassas ölçümler ile FTIR çalışmaları grafiklerle desteklenerek spektral veri analizi yapılmaktadır. Katı, sıvı ve gaz örnekler kullanılmakta ve farklı hazırlama teknikleri kullanılmaktadır. İlk hazırlama koşulunda potasyum bromür ile karıştırılan numune ince disk haline getirilmektedir. İkinci metotta potasyum bromür kullanılmadan numune ince bir film haline getirilir. Son metotta ise numune bir çözgen içerisinde çözüldükten sonra analiz edilmektedir (Mak ve diğ., 2013).

Karakteristik absorpsiyon bantları ile yağ, protein, karbonhidratlar ve su gibi gıda bileşenleri arasında bilgi ağı kurulabilmektedir. NH, OH, CH, C = O, C = C ve C = N gibi farklı gruplar kilit bantları olarak bilinmektedir. Karbonil ester ve CH yağları; amid grubu proteinler; COH karbonhidratları ve HOH bağlanması su absorpsiyonunu göstermektedir. Her grup farklı spektrumlarda kendini göstermektedir (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

Et endüstrisinde ise diğer optik metotlar gibi hızlı ve hassas ölçümlere ihtiyaç duyulduğundan ette bozulmanın algılanmasında FTIR yönteminden yararlanılmıştır. Elde edilen çok sayıda spektrum verileri kullanılarak bilgisayar veya kemometrik tekniklerin yardımıyla veri analizi yapılmıştır. Kısmi en küçük kareler regresyonu (partial square regression, PLS) ve ayırım fonksiyonu analizleri (discriminant function analysis, DFA) genellikle veri analizi için tercih edilmiştir (Vassilis ve diğ., 2014). FTIR spektrumu ile farklı sıcaklıklarda ette meydana gelen belirli biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkarılmıştır. Şekil 4.1'de  $1640\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen yüksek pik et örneğindeki nem ile birlikte amid-I varlığını göstermektedir.



**Şekil 4.1 :**  $10^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan kırmızı etten elde edilen FTIR spektrumu (Vassilis ve diğ., 2014).

$1550\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen ikinci yüksek pik amid-II varlığı hakkında bilgi verirken,  $1460$ ,  $1240$ ,  $1175\text{ cm}^{-1}$  et içerisindeki yağ ile ilişkilendirilmiştir. Toplam canlı sayısı, *Pseudomonas*, *Br. thermosphacta*, LAB ve *Enterobacteriaceae* gibi mikroorganizma sayılarına bakılarak FTIR spektrumunun bağlardaki değişiminin mikrobiyolojik olarak değerli veri sağlayabildiği denenmektedir. Uygun istatistiksel veri sistemleri, mikrobiyoloji analizlerle paralel yapılan analizlerde FTIR spektroskopisinin etin bozulmasında kullanılabilir bir metot olduğu görülmüştür (Argyri ve diğ., 2010).

Argyri ve diğ. (2013)'de kıymanın aerobik ve modifiye atmosfer koşullarında mikrobiyolojik değişimini FTIR ile incelediği çalışmada görülmektedir. Toplam canlı, LAB ve *Enterobacteriaceae* tahmininde istatistiksel analizlerle model yapılması amaçlanmıştır. Spektra aralığı olarak  $1800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  seçilen çalışmada  $1132$  ile  $1207\text{ cm}^{-1}$  aralığında amid III (C-N gerilimi, N-H bağı, C=O-N, amin) varlığından söz etmektedir.

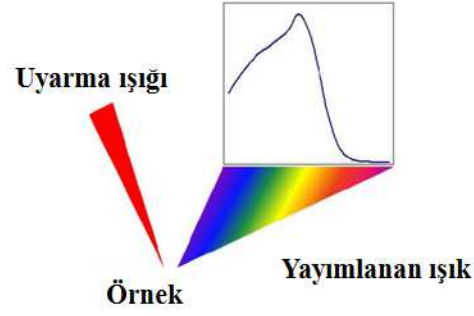
Pavli ve diğ. (2018) yaptığı çalışmada ise probiyotik destekli yenilebilir filmlerle paketlenmiş, yüksek basınç ile işlem görmüş jambon dilimlerinde meydana gelen biyokimyasal değişimleri ölçülmüş ve bozulmada Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisinin potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Toplam canlı ve LAB analizleri ile FTIR desteklenmiştir. 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  spectra aralığı değerlendirilmiştir. Metabolik parmak izi olarak görülen spektra verileri ile bozulma gözlemlenmiştir. Jambon numunesinde en yüksek pik 3350-3326  $\text{cm}^{-1}$  aralığında görülmüş -OH gerilimi ve -NH gerilim titreşimleri ile bağdaştırılmıştır. İkinci pik ise 1640  $\text{cm}^{-1}$  O-H nem bağından meydana gelmiştir.

Ropodi ve diğ. (2018) taze öğütülmüş sığır etinin dondurulduktan (-20°C) sonraki günler içindeki değişimini incelediği çalışmada multi spektral görüntüler toplanmıştır. FTIR ölçümlerinde 1650-1620  $\text{cm}^{-1}$  su / nem varlığından bahsedilirken, 1560-1530  $\text{cm}^{-1}$  amid II bandı olarak bulunmuştur. Amid II bağı bozulma prosesi ile ilişkilendirilmiştir.

#### **4.4 Floresan Spektroskopisi**

Çeşitli spektroskopi teknikleri arasında floresan spektroskopi gıda sistemleri üzerinde kimyasal dönüşümlerin hakkında tanımlayıcı bilgiler verebilmektedir. Proteinler, vitaminler, ikincil metabolitler, pigmentler, toksinler ve aroma verici ürünler gibi floresan özelliği gösteren maddeler gıdanın içerisinde doğal olarak bulunur. Hassaslığı, seçiciliği ve hızlılığı ile floresan özellik gösteren temel bileşenlerin çoğu floresan spektroskopisi ile bulunabilmektedir (Mala, 2017).

Elektromanyetik spektroskopi çeşidi olan floresan spektroskopisi numunenin içerisinde bulunan floresanı analiz etmektedir. Belli bileşiklerin moleküllerinde bulunan elektronları ışık demeti (genellikle UV ışığı) ile uyararak, düşük enerjili ışık yaymalarını sağlar. Bileşikler ilk olarak ışığın emilimi ile uyarılır. Diğer moleküller ile olan çarpışmalar ile uyarılmış molekülün titreşim enerjisi düşer en düşük titreşim konumuna inene kadar devam eder. Molekül daha sonra eski konumuna dönmek için ışık yaymaktadır. Yayılan ışıklar ise farklı enerjilere sahiptirler. Bu yüzden, floresan spektroskopisinde farklı frekanslarda yayılan ışığın analiz edilmesi ve bağlı yoğunluklarına bakılmalıdır. Bu durum farklı titreşim seviyelerindeki yapıların karar verilmesinde uygun bir sonuç elde edilmesine yardımcı olmaktadır (Damez ve Clerjon, 2008). Şekil 4.2’te tipik floresan spektroskopi görüntüsü görülmektedir (Mala, 2017).

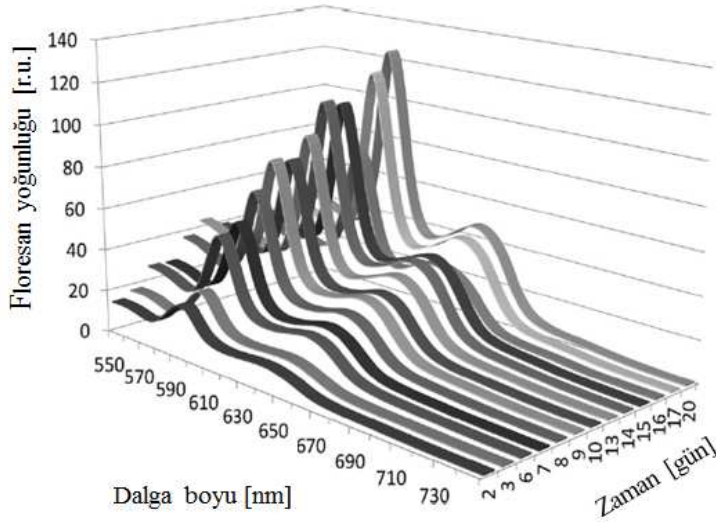


**Şekil 4.2 :** Floresan spektroskopi örnekten yansıyan görüntü (Mala, 2017).

Etin kalitesi üzerine sayısız floresan spektroskopik analizi yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazılarında biftekte etin yumuşaklığı, sertliği ve dokusu analizlenirken hindi etinde solgunluk, bozulma ve yağ oksidasyonu incelenmiştir. Başka bir çalışmada ise çiğ süttten elde edilen peynirde *Pseudomonas spp.* analizlenirken, sosiste laktik asit bakterisi ve bozulma incelenmiştir (Mala, 2017).

Gıdalardaki patojen mikroorganizmaların tespiti ve nitelendirilmesi, etin bozulmasının erken tespiti insan sağlığı için önemlidir ve kısa sürede tahminine olasılık sağlaması için floresan spektroskopisi tercih edilmiştir. Bu yüzden bakterilerin direkt tayini için hücre içi biyomoleküllerin belirgin otofloresans özelliğinden yararlanılmıştır. Koenzim NADH (nikotinamid adenin dinükleotid, koenzim), flavinler, karotenoid, klorofil ve porfirin, aminoasitlerden ise triptofan, tirozin olarak bu biyomoleküllere örnek olarak verilebilmektedir (Durek ve diğ., 2016).

Porfirin farklı mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğu gibi hemoglobinin biyosentetik sentezi ile meydana gelen klorofile benzer bir yapıya sahiptir. Protoporfirin (PP) ve çinko protoporfirin (ZnPP) floresan yoğunluğu etin muhafaza süresi ve sıcaklığı arttıkça artmaktadır. Yapılan çalışmada 420 nm'de (ışılma, Ex.) uyarılan domuz eti numunesinin 550-750 nm (emisyon, Em.) emisyon aralığında cevapları incelenmiştir. Şekil 4.3'ten görüldüğü gibi maksimum pikleri 592 ve 636 nm'de otofloresans cevapları muhafaza günleri arttıkça floresan yoğunluğu olarak artış göstermiştir. Bakterilerin gelişimi ile korelasyonu yapıp, istatistiksel değerlendirmeler ile kontaminasyonun gözlemlenmesinde kullanılabilmektedir (Durek ve diğ., 2016).



**Şekil 4.3 :** 420 nm’de uyarılan kuzu etinin floresan spektrası (Durek ve diğ., 2016).

Parma jambonunda olgunlaşma ile birlikte ZnPP formu değişmekte ve jambonun rengi değişmektedir. Kıyma domuz etinde ise 420 nm’de uyarılan numunede ZnPP 636 ve 705nm’de floresan özellik göstermiştir (Jordan ve diğ., 2009).

Schneider ve diğ. (2008)’de domuz etindeki protoporfirin tespiti için floresan spektrasını incelediği çalışmada 5<sup>0</sup>C ve 12<sup>0</sup>C’de muhafaza sıcaklıklarının etkisi incelenmiştir. 420 nm uyarılan numuneler 592, 638 ve 705 nm’de pikler vermiştir. Protoporfirin, çinko protoporfirin ile ilişkilendirmiştir. Sıcaklık etkisiyle floresan yoğunluğundaki artışı görülmüştür.

Durek ve diğ.. (2012)’de domuz eti kalitesi tespitinde floresan parmak izlerini araştırmıştır. Polietilen poşetlerde saklanan domuz etini modifiye atmosfer paketleme (70% O<sub>2</sub>, 30% CO<sub>2</sub>) ile muhafaza ederek protoporfirin ve çinko protoporfirin incelenmiştir. 400 ve 420 nm uyarılan numuneleri 550-750 nm bulgulama dalga boy aralığında analiz edip floresan pik ve yoğunluklarına bakılmıştır. 400 nm’de uyarılan numunenin pik noktası 420 nm uyarılan numune ile aynı çıkmıştır. 633 nm en yüksek floresan piki olarak görülmüştür.

Porfirin dışında ATP de etin bozulmasında önemli bir değişken olarak görülmüştür. Shirai ve diğ. (2016) domuz etin mikrobiyal kontaminasyonu incelediği çalışmada 286 nm uyardıkları et numunesinde 386 nm pikler vermiştir. Çalışmada çinko protoporfirin eldesi için domuz eti numunesi 420 nm uyarımış floresan yoğunluk grafiğine bakıldığında 596 nm’de bozulmanın yoğunluk gösterdiği kararı verilmiştir.

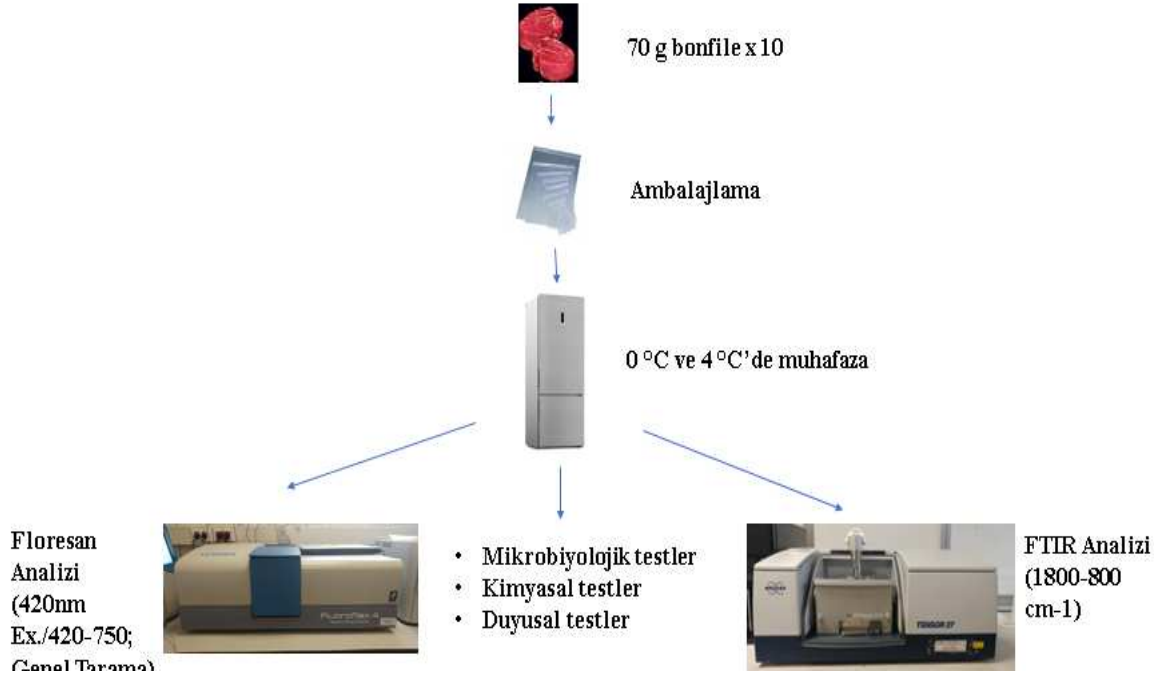
## 5. MATERYAL VE YÖNTEM

### 5.1 Materyal

Deney çalışmaları süresinde kullanılan taze, kemiksiz bonfile numuneleri Yenimahalle, Kocaeli (Türkiye)'de bulunan yerel bir kasaptan temin edilmiştir. Deney setlerinde örnekler arasında farklılık olmaması için et numuneleri aynı kasaptan temin edilmiştir.

#### 5.1.1 Et numunelerinin hazırlanması

Et numuneleri aynı bonfile parçasından olmak üzere 70 g'lık dilimler halinde hazırlanmıştır. Deney akış planı Şekil 5.1'te görülmektedir.



Şekil 5.1 : Deney akış planı

Hazırlanan numuneler, deneyin başlatılmasına yarım saat kala laboratuvara getirilerek polietilen, kilitli buzdolabı poşetlerine ayrı ayrı yerleştirilmiştir. İlk gün numunesi hariç poşetlere yerleştirilen et numuneleri buzdolabının (Arçelik, Türkiye) 0°C ve 4°C sıcaklık koşuluna eşit sayıda yerleştirilerek muhafazası sağlanmıştır.

### 5.1.2 Kullanılan kimyasallar

TBA analizi ve mikrobiyolojik analizler için kullanılan kimyasallar aşağıdaki gibi listelenmiştir:

- Trikloro asetik asit (%99,5) (Merck, Almanya)
- Tiyobarbütirik asit (%99) (Merck, Almanya)
- 1,1,3,3- tetrametoksypropan (%99) (Sigma, Almanya)
- 0,1 N titrisol hidroklorik asit ampül (Merck, Almanya)
- CASO toz besiyeri (-casein- peptone soy meal- peptone agar for the microbiology tryptic soy agar ) (Merck, Almanya)
- CFC agar base toz besiyeri (cephalothin-sodium fusidate- cetricimide agar base) (Himedia, Almanya)
- Sodyum klorür, NaCl (Merck, Almanya)

## 5.2 Yöntem

### 5.2.1 TBA oksidasyonu analizi

Ette oksidasyon deneyinde Pikul ve diğ. (1989) çalışmasındaki metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Ölçümü yapılacak numune laboratuvar tipi blender Waring 8010 EB (Amerika) ile homojenize edilerek Mettler Toledo MS 6002S hassas terazide (İsviçre) 15 g olarak tartılır. 15 g numune üzerine 30 ml %7.5 TCA (trikloro asetik asit + saf su) eklenerek homojenize edilir. Elde edilen karışım Whatman No. 1 filtre kağıdı yardımıyla süzülür. Tanık çözelti için numune yerine 15 ml su kullanılır. Elde edilen supernatant boş tüplere alınır. Üzerine 5 ml 20mM TBA (0,72g tiyobarbütirik asit + 250 ml su) eklenerek kuvvetlice çalkalanır. Tüpler kapakları kapatılarak 45 dakika boyunca 85<sup>0</sup>C'lik Memmert WNB22 (Almanya) su banyosunda bekletilir. Numuneler sıcak su banyosundan alınarak oda sıcaklığında soğutulur. 10 dakika süre ile 4100 rpm'de Nüve NF800R (Türkiye) soğutmalı santrifüj cihazında santrifüjlenir. Supernatant alınır ve 532 nm'de Perkin Elmer UV-Vis Lambda 35 spektrofotometre cihazında (Amerika Birleşik Devletleri) absorbansı ölçülür. Standart olarak 1,1,3,3-tetrametoksiopropan kullanılmıştır. Okuma sırasında ortamın ışıksız olması

sağlanmalıdır. Okutulan absorbands değeri elde edilen standart eğrisinde denkleme yerleştirilerek TBA sonucu mg MDA/ kg et olarak ifade edilir.

## **5.2.2 Mikrobiyolojik analizler**

### **5.2.2.1 Deney koşulları**

Ette mikrobiyolojik analiz Argyri ve diğ. (2010) çalışmasındaki metot iyileştirilerek kullanılmıştır. 10±2 g kırmızı et numuneleri deneysel çalışma başlatılana kadar +4 ± 2°C sıcaklıktaki ortamda hava ile teması engellenecek şekilde kapalı kaplar (steril plastik petri kapları) içerisinde saklanır. Deneysel çalışma, biyogüvenlik kabinleri içerisinde ve ortam sıcaklığında gerçekleştirilir.

### **5.2.2.2 Besiyeri hazırlama**

Üreticiden belirlenen dozajda (40g/1litre) saf su ile karıştırılarak eritilen CASO (- Casein- Peptone Soy Meal- Peptone Agar For The Microbiology Tryptic Soy Agar ) toz besiyeri toplam mezofilik arerobik canlı sayımı için kullanılmıştır. Eritme işlemi sonrası 121°C’de 15 dakika sterilize edilip, 45°C’ye ayarlı su banyosunda bekletilmiştir.

CFC Agar Base (Cephalothin-Sodium Fusidate- Cetrimide Agar Base) toz besiyeri ise *Pseudomonas spp.* sayımı için 52,4 g tartılarak 1 litre saf suda eritilmiştir. Eritme işlem sonrası 121°C’de 15 dakika sterilize edilip, 45°C’ye ayarlı su banyosunda bekletilmiştir. Steril petrilere besiyeri eklemeyen önce üreticinin belirlediği dozajda (1 litre+ 2 vial) CSC besiyerine özgü besiyeri takviyesi yapılır. Homojen bir yapı elde edilinceye kadar karıştırılmıştır Karışımdan 15-20 ml petri kaplarına dökülerek biyogüvenlik kabininde havalandırma sistemi açık iken kurumaya bırakılmıştır.

Fizyolojik tuzlu su (FTS) dilüsyon sıvısı olarak tercih edilmiştir. 8,5 g NaCl 1 litre saf su ile karıştırılır ve tüplere 9 ml olarak dağıtılmıştır. 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

### **5.2.2.3 Kırmızı ette mikrobiyolojik ekim**

Et numunesi bek alevinde bulunduğu ortamdan stomacher poşetine pens yardımıyla alınmıştır. Ağırlığına göre, 10 g kırmızı et numunesi için 90 ml FTS ilave edilmiş ve ekstraktörde içerisinde et numunesi ve FTS bulunan karışımın 90 saniye homojenizasyonu sağlanmıştır. Besiyeri olarak seçilen CASO ve CFC içeren petrilere

0,1 ml yayma plak yöntemi ile ekim yapılır. *Pseudomonas spp.* ve toplam canlı mikroorganizma gelişimi için petriler 36-38°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır

#### **5.2.2.4 Ekim sonuçlarının değerlendirilmesi**

Petrilerde gelişim gösteren kolonilerin görsel olarak belirlenmesi ile mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Koloni sayısı 25-250 olan petriler seçilerek sayım yapılmıştır. Petri içerisinde bulunan mikroorganizma sayısı dilüsyon oranı ve petriye ekimi yapılan miktar (ml) gibi faktörlerin formülasyona katılmasıyla koloni oluşturan birim (kob) olarak hesaplanmıştır. Mikroorganizma sayısını kob biriminden hesaplamak için gerekli denklem 5.1’de verilmiştir.

$$\text{Mikroorganizma sayısı (kob)} = a * b/c \quad (5.1)$$

a: Petrideki mikroorganizma sayısı (adet)

b: Seyreltme Faktörü

c: Petri kutusuna ekilen miktar (ml)

#### **5.2.3 Duyusal analiz**

Et numuneleri diğer analizlere başlamadan önce duyuşsal analize tabi tutulmuştur. Duyusal analizde kırmızılık, genel renk değişimi, tipik et kokusu, kötü koku ve genel tüketilebilirlik kriterlerinin değerlendirmesi 7 puan üzerinden yapılmıştır

Duyusal analiz; 6-8 kişilik eğitilmiş panel grubu tarafından Higenyi ve diğ. (2014) çalışmasındaki analizin iyileştirilmesiyle hazırlanmış olan duyuşsal değerlendirme formları kullanılarak yapılmış ve verilen kriterlere göre puanlama testi gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz formu Ek Çizelge A1’de verilmiştir. Panelistlerin değerlendirmeleri için kriterler ise Ek Çizelge A2’de verilmiştir.

#### **5.2.4 FTIR spektroskopisi analizi**

Et numunelerinde FTIR spektrumları KBr ışın demeti bölücüsü ile DLaTGS (deuterated L-alanine doped triglycene sulphate) detektörüne sahip Bruker Tensor 27 FTIR spektrometresi (Almanya) üzerindeki Platinum ATR (attenuated total reflectance) kristali kullanarak toplanmıştır. Şekil 5.2’de kullanılan FTIR spektrometre cihazı görülmektedir.



**Şekil 5.2 :** Deney setinde kullanılan Bruker Tensor 27 FTIR Spektrometresi

Argyri ve diğ. (2010) çalışmasında olduğu gibi numune kristal üzerine yerleştirildikten sonra kristal ile et numunesi arasında boşluk kalmaması için makine kısılcı ile baskılanmıştır. Dalga boyu aralığı  $1800- 800 \text{ cm}^{-1}$  arasında 64 tarama ve  $4 \text{ cm}^{-1}$  çözünürlük ile spektra toplanmıştır. Her numuneden spektra toplama süresi 2 dakikadır. Örneklemelerden sonra kristal yüzey etanol ile temizlenip kurutulmuştur.

### 5.2.5 Floresan spektroskopisi analizi

Etin floresan emisyon spektrası ksenon ışık kaynağına sahip Horiba Fluoromax-4 Floresan spektrometresi (Japonya) ile elde edilmiştir. Et numunesi (10 mm uzunluk x 3 mm genişlik x 1mm kalınlık) olacak şekilde kesildikten sonra karanlık kutu platformu üzerinde bulunan küveze yerleştirilip  $45^0$  açıyla ışık kaynağına yönlendirilmiştir. Durek ve diğ. (2016) çalışma prensibine benzer  $420 \text{ nm}$ 'de (Ex.) uyarılan et numunesinin 5 nm aralıklarla 550-750 nm emisyon aralığında cevaplarına bakılmıştır. Şekil 5.3'te kullanılan Floresan spektrometresi görülmektedir.



**Şekil 5.3 :** Deney setinde kullanılan Horiba Fluoromax-4 Floresan Spektrometresi

### **5.2.6 Sıcaklık analizi**

Saklama ortamlarına yerleştirilen Ebro EBI 20-TH1 (Almanya) ile her iki koşula ait sıcaklık verileri kaydedilmiştir.

### **5.2.7 İstatistiksel analiz**

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları Microsoft Excel 2016 (Amerika) hesaplanmıştır. Minitab 2017 (Amerika) programında ANOVA testinde genel lineer model analizi ile istatistiksel değişkenliğin açıklanabilirliği , Tukey testi ile de koşullar arasında karşılaştırma yapılmıştır. FTIR ve floresan analiz sonuçlarının mikrobiyal, duyuusal ve kimyasal testlerle arasında olan Pearson korelasyon katsayıları da Minitab üzerinden yapılmıştır.



## 6. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 6.1 TBA Analizi Bulguları

Yağın oksidasyonu sonucu, keton, aldehit, alkol ve hidrokarbon gibi moleküller meydana gelmektedir. Bu moleküller gıdanın tat, renk ve dokusunda istenmeyen değişiklikler meydana getirerek, gıdanın kalitesini olumsuz olarak etkilemektedir. Yağ oksidasyonu tespiti için malondialdehid (MDA) konsantrasyonu ölçülmektedir. MDA yağ oksidasyonunda ikincil ürün olmakla birlikte diğer oksidasyon ürünlerine göre daha stabil olduğu için ölçümü tercih edilmektedir. TBA ile MDA asidik koşullar altında reaksiyona girerek kırmızı ve pembe bir form almaktadır. Ette TBA analizi ile oluşan yağ oksidasyonu hakkında genel bir bilgi sağlanmaktadır (Samoel ve diğ., 2016).

Çizelge 6.1'de 0°C ve 4°C sıcaklık koşullarında muhafaza edilen etlerin TBA değerleri görülmektedir. Tüm deney sonuçları Ek Çizelge A3'te görülmektedir. Çizelge'de görüleceği gibi TBA değerleri her iki sıcaklık koşulu için de zamana bağlı artmıştır. Oksidatif stabilitedeki düşüşle birlikte TBA'nın artışının görüldüğü benzer durum Zakrys ve diğ. (2008)'nin modifiye atmosfer koşulları altında paketlenmiş biftek üzerine yaptıkları çalışma sonuçları ile de uyumludur. TBA değeri muhafaza süresi boyunca genel olarak artmıştır. Kolsarıcı (2004), tavuk etlerinin soğuk ve donmuş muhafaza stabilitesi üzerine yapmış olduğu çalışmada iki sıcaklık koşulunda da TBA değerinin zaman içerisinde arttığı görülmektedir.

Reitznerová ve diğ. (2017) çiğ ve işlenmiş et üzerine TBA metot geliştirme çalışmasında istenmeyen limit 1,0 mg MDA / kg et ve üzeri olarak belirtilmiş olup, bu konuda yasal bir sınır olmadığı da ifade edilmiştir. Limbo ve diğ. (2013) modifiye atmosfer koşulları altında etin değişimini gözlemlediği çalışmada ise eşik değer olarak 2,0 mg MDA /kg et olarak belirtilmiştir. 0°C bölmesi tek başına değerlendirildiğinde 4.günden itibaren TBA değeri 1 mg MDA /kg'i aşmıştır. En yüksek TBA değerine 2,24±0,14 mg MDA /kg ile 8.günde ulaşılmıştır. Eşik değeri 1 mg MDA /kg et olarak düşünüldüğünde, 0°C bölmesindeki numunenin kalitesi 4. günden itibaren düşmeye

başlamış olup, bu durum yağ oksidasyonundaki artışın yüksek oranda gerçekleştiğini göstermektedir. Oksijen ile yağ teması artmış ve ikincil metabolit olan MDA'nın yükselmesine sebep olmuştur.

**Çizelge 6.1 :** 0°C ve 4°C sıcaklık koşulunda muhafaza edilen taze bonfile et numunelerinin TBA değerleri.

	TBA (mg MDA/ kg et)	
	0°C	4°C
0.gün	0,94±0,01 <sub>c</sub> <sup>a</sup>	0,94±0,01 <sub>c</sub> <sup>a</sup>
2.gün	0,65±0,22 <sub>d</sub> <sup>a</sup>	0,79±0,07 <sub>c</sub> <sup>a</sup>
4.gün	1,05±0,13 <sub>c</sub> <sup>a</sup>	1,05±0,11 <sub>c</sub> <sup>a</sup>
8.gün	2,24±0,14 <sub>a</sub> <sup>a</sup>	2,42±0,14 <sub>b</sub> <sup>b</sup>
9.gün	1,93±0,04 <sub>b</sub> <sup>a</sup>	4,13±0,68 <sub>a</sub> <sup>b</sup>
10.gün	2,10±0,20 <sub>ab</sub> <sup>a</sup>	3,98±0,06 <sub>a</sub> <sup>b</sup>

- Aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Ortalama± standart sapma

4°C sıcaklık koşulunda bulunan et numuneleri 4.günden itibaren 1 mg MDA /kg et eşiğini aşmıştır. 0°C bölmesine göre TBA değerleri yüksek bulunmuş olup, 9. günde en yüksek değer olan 4,13±0,68'e ulaşmıştır. Muhafaza koşulları sonunda TBA değerleri 0°C ve 4°C sıcaklık koşulu için sırasıyla 2,10±0,20 ve 3,98 ±0,06'ya ulaşmıştır. Sıcaklık değerinin yüksek olduğu 4°C sıcaklık koşulunda muhafaza süresi bitmesine doğru TBA değeri neredeyse 0°C sıcaklık koşulundaki değerin iki katına ulaşmıştır. Burada sıcaklığın yağ oksidasyonu üzerindeki etkisi net olarak görülmektedir. İstatiksel olarak gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımına bakıldığında TBA değerleri arasındaki fark, 8.günden sonra önemlilik kazanmıştır (p<0,05). Sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımı 0°C ve 4°C sıcaklık koşulu incelendiğinde sıcaklık etkisi iki koşulda da önemlidir (p<0,05).

## 6.2 Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Gıdaların doğal mikroflorasında yer alan mikroorganizmalar dışında kalan patojen mikroorganizmalar da dahil çoğu mikroorganizmanın kontrol altında tutulması gerekmektedir. Bu yüzden toplam canlı sayımı gıdada mikrobiyolojik açıdan kalite kriteri durumuna gelen belirleyici bir unsurdur (Koçak, 2014).

Sıcaklık, asitlik, su aktivitesi gibi dış faktörlerin etkisi altında spesifik besin maddelerine ihtiyaç duymadan gıdaların çoğunda kolaylıkla gelişen birçok bakteri aerobik-mezofilik mikroorganizma olarak tanımlanmaktadır. Gelişmesi ve çoğalması kolay olan bu mikroorganizmalar incelendiğinde, en önemli olan kısmın bakterilerin cins ve türlerinin ayrı ayrı etkisi değil, hepsinin toplam etkisi olduğunu göstermiştir. Gıda maddesinin raf ömrü, hijyen kalitesi ve ortamda patojen mikroorganizma gelişiminin uygunluğu toplam canlı sayımı kontrolü ile sağlanabilmektedir (Koçak, 2014). Mikrobiyal gelişim ile birlikte etin yapısı, kokusu ve renginde istenmeyen organoleptik değişimler muhafaza süresi boyunca gözlemlenebilmektedir. Patojen mikroorganizmaların da dahil olmasıyla birlikte gıda zehirlenmeleri, akut ve kronik hastalıklar hatta ölümler meydana gelebilmektedir (Candoğan, 2009).

Çizelge 6.2’de zamana bağlı toplam canlı sayısındaki değişimler görülmektedir. Tüm deney sonuçları ise Ek Çizelge A4’te verilmiştir. Genel olarak muhafaza süresi boyunca iki sıcaklık koşulunda da toplam canlı sayısında artış gözlemlenmiştir. Çiçek ve diğ. (2013)’nin, ambalajlama yöntemleri ve depolama süresinin dana kuşbaşı etindeki fizyolojik ve mikrobiyolojik etkisini incelediği araştırmasında, toplam aerobik canlı sayısı 4°C sıcak koşulunda 7 gün boyunca artmaktadır. Benzer bir sonuç Haleem ve diğ. (2013)’in kanatlı etindeki mikrobiyolojik gelişimi incelediği çalışmasında da görülmektedir. Sabit sıcaklıkta muhafaza süresi boyunca toplam canlı sayısı drastik olarak artmıştır. 48 saat sonra göğüs etinde toplam canlı sayısı 0,25 log<sub>10</sub> kob/ml artış göstermiştir.

**Çizelge 6.2 :** 0°C ve 4°C sıcaklık koşulunda zamana bağlı toplam canlı sayısındaki değişim(log<sub>10</sub>kob/ml).

	Toplam canlı sayısı (log <sub>10</sub> kob/ml)	
	0°C	4°C
0.gün	5,13±0,11 <sup>ab</sup>	5,13±0,11 <sup>c</sup>
2.gün	5,10±0,12 <sup>ab</sup>	5,14±0,12 <sup>a</sup>
4.gün	4,61±0,18 <sup>b</sup>	5,08±0,18 <sup>c</sup>
8.gün	5,58±0,02 <sup>ab</sup>	6,00±0,02 <sup>b</sup>
9.gün	5,59±0,16 <sup>ab</sup>	6,24±0,16 <sup>ab</sup>
10.gün	6,25±0,03 <sup>a</sup>	6,89±0,03 <sup>a</sup>

- Aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Ortalama± standart sapma

Çizelge 6.2'den de görüldüğü gibi etin başlangıç yükü  $5,13 \pm 0,11 \log_{10}$  kob/ml'dir.  $0^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulunda 8.günden itibaren toplam canlı sayısı  $5,5 \log_{10}$  kob/ml değerinin üzerine çıkarken, 10.günde toplam canlı sayısı  $6,25 \pm 0,03$ 'e kadar ulaşmıştır.  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşuluna bakıldığında ise ilk günden itibaren genel olarak toplam canlı sayısı artış göstermektedir. 8. günden itibaren ise  $6 \log_{10}$  kob/ml değerinin üzerine çıkarak, 10. günde  $6,89 \pm 0,03 \log_{10}$  kob/ml'e ulaştığı görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (28157/2011) içeriğinde çiğ kırmızı et için aerobik koloni sayımı alt ve üst birim olarak sınırlandırılmıştır. Tebliğ, alınan 5 numuneden sadece 2 tanesinin  $5 \times 10^5$ - $5 \times 10^6$  aralığında olmasını uygun bulmuştur. Üst limit  $5 \times 10^6$  kob/ml olarak ifade edilmiştir. Bu değer logaritmik olarak  $6,69 \log_{10}$  kob/ml'a karşılık geldiği düşünüldüğünde,  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulunda muhafaza edilen etlerin 10. günde limit değeri aştığı söylenebilir. İstatiksel olarak gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımına bakıldığında toplam canlı sayısındaki fark 8. gün ve 10. gün önem kazanmıştır ( $p < 0,05$ ). Sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımı  $0^{\circ}\text{C}$  ve  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulu için incelendiğinde sıcaklık etkisi iki bölmede de önemlidir ( $p < 0,05$ ).

Çiğ kırmızı etin soğuk muhafazasında, aerobik koşullar altında *Pseudomonas spp.* başlıca bozulma etkeni olarak bilinmektedir. Buzdolabı sıcaklıklarında ( $4^{\circ}\text{C}$ ) günler içerisinde çiğ ette gelişim göstermektedir. Etin duyuşal özelliklerinde istenmeyen koku ve tada neden olmaktadır (Ayhan, 2000).

Çizelge 6.3'te zamana göre *Pseudomonas spp.* sayısındaki değişimler her iki sıcaklık için de görülmektedir. Tüm deney sonuçları ise Ek Çizelge A5'te verilmiştir.  $0^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşullarına bakıldığında *Pseudomonas spp.* ilk güne göre 2., 4. ve 8. gün daha düşük seviyededir. Bunun sebebi etin homojen bir yapıya sahip olmaması ile ilişkilendirilebilir. Takip eden günlerde artış göstererek son gün  $4,77 \pm 0,09 \log_{10}$  kob/ml'ye kadar yükselmiştir.  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulunda ise ilk 4 gün *Pseudomonas spp.* sayımında önemli bir farklılık görülmemektedir. 8.gün ile birlikte mikroorganizma sayısı oldukça yükselerek en yüksek değeri  $5,28 \pm 0,02 \log_{10}$  kob/ml ile 9.günde göstermiştir. İki sıcaklık için de muhafaza günü sonuna doğru 2 log artış göstererek yaklaşık iki katına yükselmiştir. İstatiksel olarak gün etkisinin sıcak koşullarına göre dağılımına bakıldığında *Pseudomonas spp.* sayısındaki fark 2., 9. ve

10. günde önemlidir ( $p<0,05$ ). Sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımı  $0^{\circ}\text{C}$  ve  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulları için incelendiğinde her iki sıcaklık için de önemlidir ( $p<0,05$ ).

**Çizelge 6.3 :**  $0^{\circ}\text{C}$  ve  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulunda zamana bağlı *Pseudomonas spp.* sayısındaki değişim( $\log_{10}\text{kob/ml}$ ).

	<i>Pseudomonas spp.</i> ( $\log_{10}\text{kob/ml}$ )	
	$0^{\circ}\text{C}$	$4^{\circ}\text{C}$
0.gün	$2,28\pm 0,02_{bc}^a$	$2,28\pm 0,02_c^a$
2.gün	$1,13\pm 0,17_c^b$	$2,15\pm 0,15_c^a$
4.gün	$1,84\pm 0,06_c^a$	$1,81\pm 0,03_c^a$
8.gün	$1,45\pm 0,45_c^a$	$3,09\pm 0,05_b^a$
9.gün	$3,64\pm 0,34_{ab}^b$	$5,28\pm 0,02_a^a$
10.gün	$4,77\pm 0,09_a^b$	$4,82\pm 0,17_a^a$

- Aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımını ifade etmektedir ( $p<0,05$ ).
- Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımını ifade etmektedir ( $p<0,05$ ).
- Ortalama $\pm$  standart sapma

*Pseudomonas spp.* sayısındaki artışı diğer çalışmalarda görmek mümkündür. Careaga ve diğ. (2003)'te çiğ sığır eti numunesinde kırmızı biber ekstraktının antibakteriyel etkisini incelediği çalışmada, kontrol et grubunda yedinci günün sonunda *Pseudomonas aeruginosa* koloni sayısındaki artışın 1 log olduğu görülmüştür. Benzer bir çalışmada yenilebilir filme esansiyel yağ eklenmesini deneyen Oussalah ve diğ. (2004) ette *Pseudomonas spp.* değişimini incelemiştir. Kontrol grubunda  $4^{\circ}\text{C}$  sıcaklık koşulunda yedi günün sonunda *Pseudomonas spp.* sayısının 0,3 log arttığını gözlemlemiştir.

### 6.3 Duyusal Analiz Bulguları

Ette kalite algısında en önemli faktör görünümüdür. Etin rengini belirleyen ise miyoglobin proteini olup, kesim sonrası renk değişimi sürmektedir. Miyoglobin miktarı ve redoks kapasitesi algılanan et rengini etkileyen ana nedenlerdendir (Faustman ve Suman, 2017). Kırmızı ette istenilen renk dana eti için parlak kırmızı veya pembemsi kırmızı olarak tanımlanmaktadır. Çiğ ette duyusal olarak ikinci kriter ise kokudur. Etin mikrobiyolojik olarak iyi olması veya su tutma kapasitesinin iyi olması etin tüketici tarafından tercih edileceği anlamına gelmemektedir. Lezzet bileşenlerinden tat ve kokunun da istenilen kriterlere uygun olması gerekmektedir (Anonim, 2013). Çizelge 6.4'te iki farklı sıcaklık koşulunda numunelerin duyusal

analiz sonuçları görülmektedir. Tüm analiz sonuçları Ek Çizelge A6 ve Çizelge A7’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, 0°C bölümünde kırmızılık ve renk değişimi panelistlerden ilk dört gün 6 puan ve üzeri puanlar almıştır. Etin rengi parlak kırmızı olarak görülmüştür. 8. gün ile birlikte renkte oluşan kayıplar önemli seviyelere ulaşmıştır. 10. günde ise bonfile numunesi tamamen kahverengi renge dönüşmüş ve rengi tamamen değişmiştir. Panelistler 8. günden sonra eti tüketilebilirlik açısından uygun bulmamıştır. 4°C sıcaklık koşulunda ise renkteki değişim 2. günden itibaren kahverengi oluşumlar ile birlikte fark edilmektedir. 4. günden sonra ise etin yüzey alanının yarısından çoğu kahverengileşmiştir. Aynı zaman aralığında oluşan kokulardan dolayı panelistlerin değerlendirmede verdiği puanlar önemli derecede farklılık göstermiştir. Etlerin genel tüketilebilirliği 4. günden itibaren sınırın altında olmuştur. İki sıcaklık koşulu arasındaki en önemli fark ise etin duyuşal olarak uygunluğunu 4°C koşulunda daha erken kaybetmesidir.

**Çizelge 6.4 :** 0°C ve 4°C sıcaklık koşulunda zamana bağlı duyuşal analiz sonuçları.

	0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün	
0°C	Kırmızılık	7,0±0,0 <sup>a</sup>	6,0±0,0 <sup>b</sup>	6,4±0,4 <sup>ab</sup>	2,5±0,5 <sup>c</sup>	2,8±0,3 <sup>c</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Genel renk değişimi	7,0±0,0 <sup>a</sup>	6,0±0,0 <sup>b</sup>	6,5±0,3 <sup>ab</sup>	2,5±0,5 <sup>c</sup>	2,8±0,3 <sup>c</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Tipik et kokusu	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,8±0,3 <sup>b</sup>	6,0±0,0 <sup>b</sup>	2,8±0,3 <sup>c</sup>	2,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>e</sup>
	Kötü koku	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,8±0,3 <sup>b</sup>	6,0±0,0 <sup>b</sup>	2,8±0,3 <sup>c</sup>	2,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>e</sup>
	Genel tüketilebilirlik	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,8±0,3 <sup>b</sup>	6,0±0,0 <sup>b</sup>	2,8±0,3 <sup>c</sup>	2,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>e</sup>
4°C	Kırmızılık	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,5±0,0 <sup>b</sup>	3,8±0,3 <sup>c</sup>	1,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Genel renk değişimi	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,3±0,3 <sup>b</sup>	3,8±0,3 <sup>c</sup>	1,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Tipik et kokusu	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,3±0,3 <sup>b</sup>	3,5±0,4 <sup>c</sup>	1,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Kötü koku	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,3±0,3 <sup>b</sup>	3,5±0,4 <sup>c</sup>	1,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>
	Genel tüketilebilirlik	7,0±0,0 <sup>a</sup>	5,3±0,3 <sup>b</sup>	3,5±0,4 <sup>c</sup>	1,3±0,3 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>

- Aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı veya aynı harfler gün etkisinin sıcaklık koşullarına göre dağılımını ifade etmektedir (p<0,05).
- Ortalama± standart sapma

İstatistiksel olarak gün etkisinin sıcaklık koşullarındaki dağılımına bakıldığında kırmızılık, genel renk değişimi, tipik et kokusu, kötü koku ve genel tüketilebilirlik kriterlerinin hepsinde panelist puanları arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0,05).

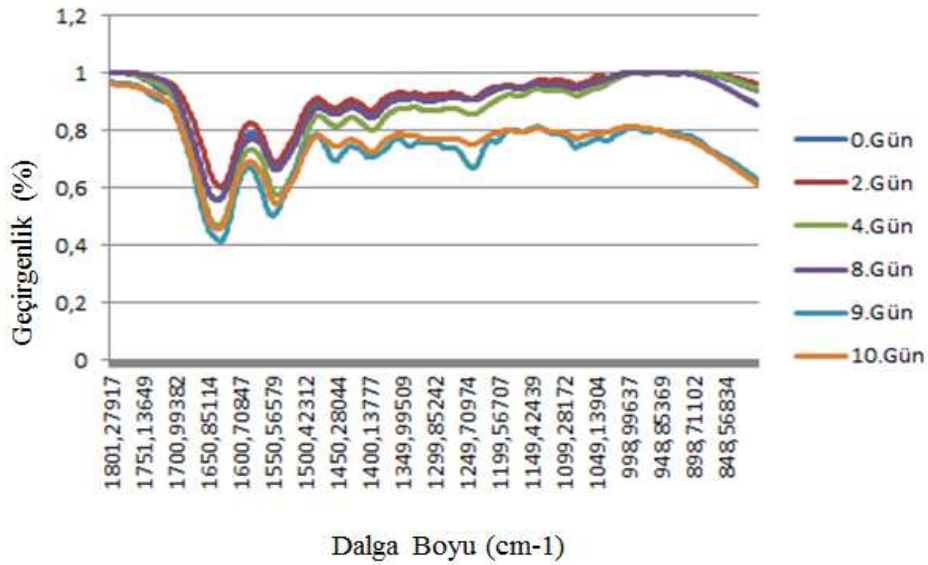
Sıcaklık etkisinin günlere göre dağılımında, 0<sup>0</sup>C sıcaklık koşulu incelendiğinde tüm kriterler için sıcaklık etkisinin etkisinin önemli olduğu görülmektedir. 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda ise ilk 8 gün etki önemlidir (p<0,05).

#### 6.4 FTIR Spektroskopisi Analiz Bulguları

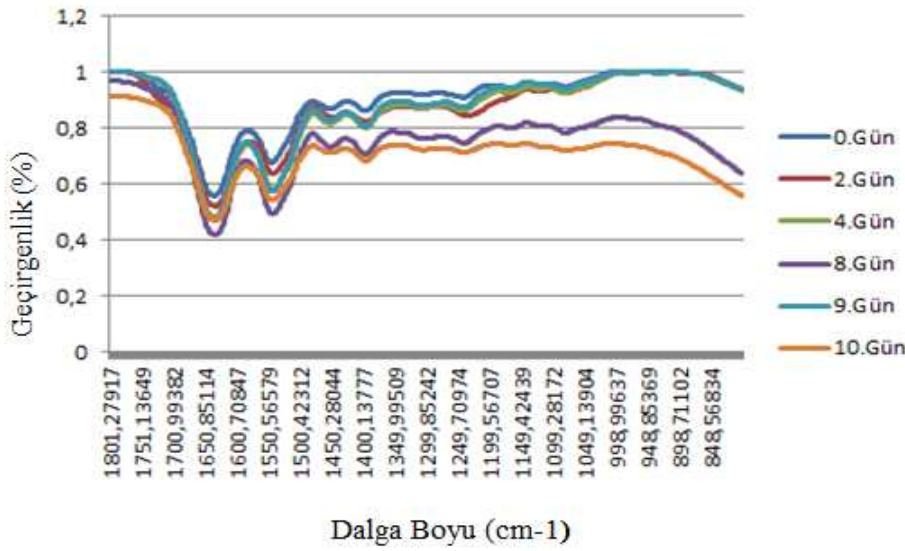
Etin mikrobiyolojik olarak bozulduğu veya kontaminasyona uğradığını belirlemek amacıyla 50’den fazla ölçüm tekniği uygulanabilmektedir. Çoğu tespit tekniği, zaman alan, eğitilmiş personele ihtiyaç duyan, çevrimiçi denetlenemeyen yöntemlerden oluşmaktadır. Bu nedenle gıdalarda oluşan mikrobiyal bozulmalar biyosensör, elektronik burun ve titreşime dayalı spektroskopi metotları ile tahribatsız olarak incelenmiştir (Vassilis ve diğ., 2014)

FTIR spektroskopisi ile hızlı, tahribatsız çalışılarak bir numunenin tam spektrumunu dakikalar içerisinde öğrenmek mümkündür. FTIR’ın mikroorganizmalarla ilişkisinin kurulması basit bir mekanizmaya dayandırılmaktadır. Mikroorganizmalar et içerisinde gelişmek isterken ortamdaki besinleri tüketerek yan ürünler, metabolitler üretmektedir. Bu metabolitlerin niteliği ile herhangi bir biyokimyasal maddenin parmakizi karakteristiği tespit edilebilmektedir (Argyri ve diğ., 2010).

Şekil 6.1 ve 6.2’de sırasıyla 0<sup>0</sup>C ve 4<sup>0</sup>C muhafaza sıcaklığı için ete ait zamana bağlı FTIR spektrum sonuçları görülmektedir.



Şekil 6.1 : 0<sup>0</sup>C sıcaklık koşulu için ete ait zamana bağlı FTIR spektrumu



**Şekil 6.2 :** 4°C sıcaklık koşulu için ete ait zamana bağlı FTIR spektrumu

Spektrum grafikleri incelendiğinde, iki farklı sıcaklık koşulu için de spektrum eğrileri aynı yolu izlerken geçirgenlik miktarlarındaki değişiklik ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar. 0°C sıcaklığında, geçirgenlik zamana bağlı düşmeye devam etmiştir. 4°C sıcaklığında muhafaza edilen etlerde ise bu durum artış ve azalışlarla sürse de genel olarak zaman bağlı geçirgenlikte azalma meydana gelmiştir. Argyri ve diğ. (2013)'nin kıymanın aerobik ve modifiye atmosfer koşullarında mikrobiyolojik değişimini FTIR ile incelediği çalışmasında, absorbansın muhafaza süresince bozulma ile birlikte düştüğü görülmektedir. 5°C'de muhafaza edilen numunelerin her iki koşul içinde absorbans eğrisinde düşüş gösterdiği fark edilmektedir.

Şekil 6.1 ve 6.2'de görüldüğü gibi 2 önemli tepe noktası dikkati çekmektedir. Bu noktaların birincisi 1640-1650 cm<sup>-1</sup> arasına denk gelirken, ikinci önemli tepe noktası ise 1550 cm<sup>-1</sup>'e denk gelmektedir. Benzer sonuç Argyri ve diğ. (2010) sığır filetosu üzerine yaptığı FTIR çalışmasında görülmektedir. 5°C'de sakladıkları numunenin taze ve bozulmuş iki durumu incelendiğinde, 1640 cm<sup>-1</sup>'de gördüğü spektrum değişikliğini O-H bağı yani nemin varlığına yorumlarken, ayrıca amid I'in varlığından bahsedilmiştir. 1550 cm<sup>-1</sup>'de görülen değişimin ise N-H ve C-N bağlarından kaynaklandığını, bunun ise amid-II geçirgenliği olduğunu ifade etmektedir. Vassilis ve diğ. (2013) etin bozulmasını FTIR ile incelediği çalışmada ise 10°C'de altı gün sakladıkları sığır filetosunda 1640 1cm<sup>-1</sup> ve 1550 cm<sup>-1</sup> sırasıyla nem ve amid-I; amid II'deki gerilimle ilişkilendirmiştir.

Ellis ve diğ. (2002)'nin tavuk göğüs etinin FTIR ile incelediği çalışmada benzer iki tepe noktası aralığını amid I ve amid II ile bağdaştırmıştır. Bu bilgi ile et içerisindeki proteinlerin kullanıldığı ve mikroorganizma faaliyetinin olduğu belirtilmiştir. Ammor ve diğ. (2009)'nin taze kıymanın bozulma sürecini mikrobiyal ve spektroskopik olarak incelediği çalışmada ise zaman içerisinde olan biyokimyasal değişimleri sırasıyla özetlemiştir. Amid I ve amid II, nem harici 1458 cm<sup>-1</sup>'de oluşan tepe noktasını C-H bağlarındaki değişimi yağ içeriğindeki değişim olarak göstermiştir. 1398 cm<sup>-1</sup>'de C-N bağından kaynaklı amid gerilimi görülmüştür.

Chen ve diğ. (1988)'nin Çedar peynirinin olgunlaşma sürecini FTIR ile takip ettiği çalışmada, yağ ve protein bantlarındaki keskin değişimi öne sürmüştür. 1650 cm<sup>-1</sup> ve 1540 cm<sup>-1</sup>'de meydana gelen bant izlenimlerinin peynir örneklerindeki protein içeriğinden kaynaklandığını belirtmiştir. Peynirin olgunlaşma sürecinin mikroorganizma takibinden çok FTIR ile protein bağlarının takibinde bulmuştur.

FTIR analiz sonuçları pearson korelasyon testleri duyusal, TBA analizi, toplam canlı ve *Pseudomonas spp.* verileri kullanılarak yapılmıştır. Korelasyon değerleri Çizelge 6.5'te görülmektedir. 1550 ve 1640 cm<sup>-1</sup>değerlerinde iki sıcaklık için de bakıldığında, duyusal analiz sonuçları ile elde edilen korelasyon değerlerinin yüksek derecede pozitif ilişki sergilediği görülmektedir. 4°C sıcaklık koşulu için duyusal analiz ile elde edilen korelasyon sonuçları diğer parametrelere göre yüksek olup, 1550 ve 1640 cm<sup>-1</sup> dalga boyları için sırasıyla 0,910 ve 0,887'dir.

**Çizelge 6.5 :** FTIR ile elde edilen 1550 cm<sup>-1</sup> ve 1640 cm<sup>-1</sup>'bant değişimlerinin diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları.

	<b>Dalga boyu (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Duyusal</b>	<b>TBA (mg MDA / kg et)</b>	<b>Toplam canlı (log<sub>10</sub>kob/ml)</b>	<b><i>Pseudomonas spp.</i> (log<sub>10</sub>kob/ml)</b>
0°C	1550	0,628	-0,518	-0,386	-0,776
	1640	0,550	-0,525	-0,316	-0,763
4°C	1550	0,910	-0,627	-0,694	-0,478
	1640	0,887	-0,552	-0,579	-0,403

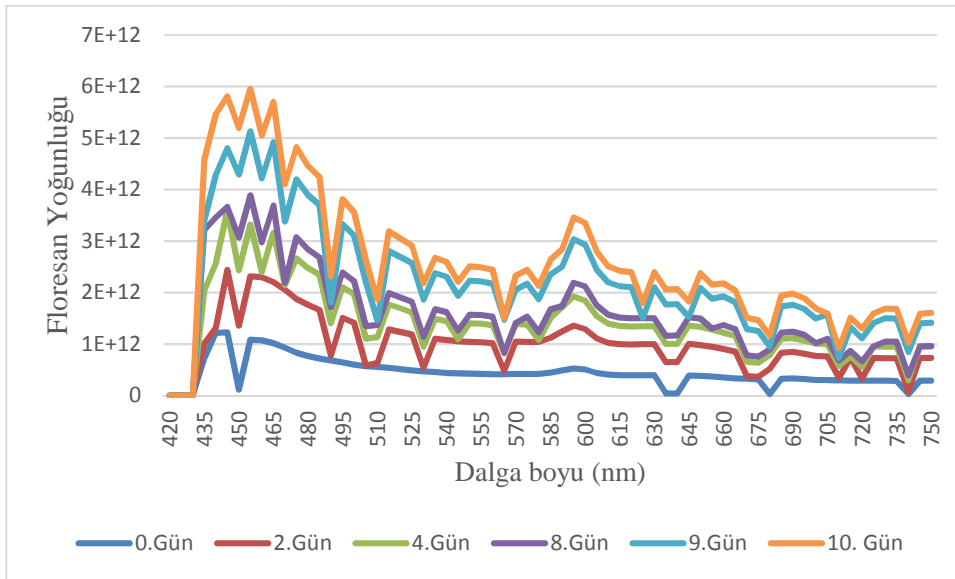
Yapılan çalışmalar ile analiz sonuçları kıyaslandığında protein ve nem içeriğindeki değişimin paralel gittiği görülmektedir. Toplam canlı sayısının zaman içerisinde artması ile birlikte her iki sıcaklıkta muhafaza edilen etlerin protein ve nem miktarlarının düştüğü gözlenmiştir. Bu durum Ellis ve diğ. (2002)'nin de belirttiği gibi, ortamdaki proteinlerin mikroorganizmalar tarafından parçalanarak/kullanılarak C-N bağ yapısında azalma ile açıklanabilmektedir. Pearson korelasyon değerlerine

bakıldığında ise FTIR ve duyu analizi sonuçları arasındaki korelasyon değeri pozitif yönde oldukça yüksektir.

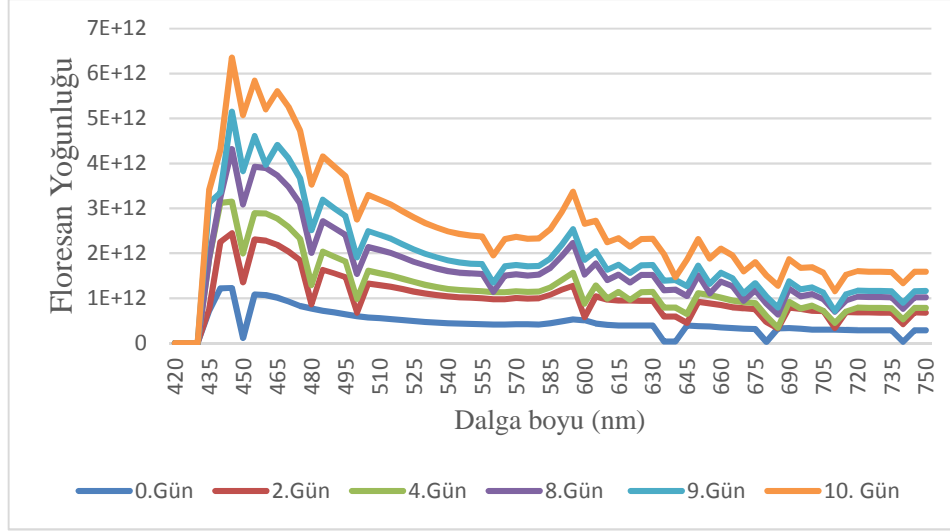
### 6.5 Floresan Spektroskopisi Analiz Bulguları

Patojen mikroorganizmaların neden olduğu bozulma reaksiyonları kimyasal analizler gibi zaman alan süreçlerle tespit edilebilir. Bu nedenle biyolojik kontaminasyon tespitinde güvenilirliği ve verimliliği yüksek floresan spektroskopisi kullanılmaya başlanmıştır. Çoğu mikroorganizmanın ve hayvan hücresinin salgıladığı porfirin değişimi ile ette mikroorganizma gelişimi ilişkilendirilmiştir. Etin muhafaza süresi boyunca floresan özelliğinde artış görülen porfirin metaboliti ile etin kalitesi tayininde potansiyel bir analiz çeşidi olmuştur (Courrol ve Samad, 2018).

Şekil 6.3 ve 6.4'te 420 nm'de uyarılan bonfile numunesinin 550-750 nm arasındaki floresan spektrumunu 0°C ve 4°C koşulları için sırasıyla verilmiştir. Uyarılma dalga boyunun 420 nm tercih edilmesindeki neden porfirin floresansının etkin olarak beklenen bulgulara dalga boyunda görülmesidir. İki şekilde de görüldüğü gibi floresan eğrileri çizgisel olarak aynı yolu takip etmeseler de floresan yoğunluğu 0. günden 10. güne kadar artış göstermiştir.



**Şekil 6.3 :** 420 nm'de uyarılan bonfile numunesine ait floresan spektrasının 0°C sıcaklık koşulunda zamana bağlı değişimi



**Şekil 6.4 :** 420 nm’de uyarılan bonfile numunesine ait floresan spektrasının 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda zamana bağlı değişimi

0<sup>0</sup>C muhafaza sıcaklığındaki etlerde 450 ve 740 nm bulgulama dalga boyları gün bazında aynı yolu izlerken, 0. gün (başlangıç) hariç 495, 510, 570 ve 710 nm bulgulama dalga boylarının düzenli bir yol izlediği görülmektedir. 4<sup>0</sup>C muhafaza sıcaklığındaki etlerde ise 450 nm ve 740 nm bulgulama dalga boyu hariç aynı yol zamana bağlı düzenli olarak takip edilmemiştir. 0.gün hariç 480, 500, 565 ve 710 nm bulgulama dalga boylarında düzenli bir izlenim görülmektedir.

Durek ve diğ. (2016), kuzu ve domuz etinde porfirinin floresan yoğunluğuna bağlı olarak toplam canlı sayısının incelendiği çalışmada numuneleri buzdolabı poşetinde 20 gün boyunca 5<sup>0</sup>C’de muhafaza etmiştir. Yaklaşık her gün floresan spektrumu alınan çalışmada iki numune de 420 nm’de uyarılmıştır. Her iki numunenin porfirin floresan yoğunluğu düzenli olarak artış göstermiştir. Domuz etinde en yüksek yoğunluk 592, 636 ve 705 nm bulgulama dalga boylarında görülmüştür. Bu üç tepe noktasının protoporfirin ve çinko protoporfirinin izi olduğu iddia edilmektedir. Kuzu etinde de aynı tepe noktaları görülürken floresan yoğunluğunun domuz etine göre az olması dikkat çekmektedir. Bunun sebebi olarak kuzu etinde miyogloblin miktarının fazla olması ve enerjiyi daha çok absorbe etmesi olarak belirtilmiştir (Durek ve diğ. (2016), Schneider ve diğ. (2008)’nin domuz etindeki porfirin tespiti için floresan spektrumunu incelediği çalışmasında, 5<sup>0</sup>C ve 12<sup>0</sup>C’de muhafaza sıcaklıklarının etkisi incelenmiştir. 420 nm’de uyarılan numuneler 592, 638 ve 705 nm’de pikler vermiştir. Protoporfirin, çinko protoporfirin ile ilişkilendirmiştir. İki sıcaklık koşuluna bakıldığında 12<sup>0</sup>C’de muhafaza edilen et numunesinin floresan yoğunluğunun 550-750 nm boyunca 5<sup>0</sup>C’de

12 gün boyunca yüksek olduğu görülmüştür. 0°C ve 4°C sıcaklıklarına bakıldığında az farkla dahi olsa 4°C’de muhafaza edilen etlerin floresan yoğunluğunun daha yüksek olduğu görülmektedir.

Courrol ve Samad (2018)’in tavuk etinde kontaminasyonu protoporfirin floresanı ile tespit ettiği çalışmada üç koşul denenmiştir. Numunenin kontrol grubu buzdolabı sıcaklığında depolanırken, diğer iki numuneden biri ise oda sıcaklığında 24 saat ve 30 saat depolanmıştır. 400 nm’de uyarılan numunelerde 30 saat oda sıcaklığında tutulan numunenin floresan yoğunluğu en yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada görülen tek floresan piki ise 630 nm’dir.

Wakamatsu ve diğ. (2004)’nin kurutulmuş kürlenmiş jambon örneklerinin çinko protoporfirin mekanizmasını çözmek için yaptığı çalışmasında, uyarılma dalga boyu 420 nm olarak seçilmiştir. Floresan yoğunluğunun pik gösterdiği bulgulama dalga boyları 590 ve 640 nm olarak tespit edilmiştir. Çizelge 6.6 ve 6.7’de floresan yoğunluğunun duyuşal, TBA, toplam canlı ve *Pseudomonas spp.* sayısı ile arasındaki Pearson korelasyon test sonuçları görülmektedir.

**Çizelge 6.6 :** 0°C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları.

Dalga boyu (nm)	Duyusal	TBA (mg MDA / kg et)	Toplam canlı ( $\log_{10}$ kob/ml)	<i>Pseudomonas spp.</i> ( $\log_{10}$ kob/ml)
435	-0,227	0,409	0,210	0,101
440	-0,092	0,327	0,090	0,441
445	0,426	-0,660	-0,310	0,224
450	-0,305	0,006	-0,017	0,080
455	0,427	-0,643	-0,387	-0,006
460	-0,083	-0,101	0,346	0,203
465	0,368	-0,593	-0,350	0,019
470	0,023	-0,276	0,200	0,298
475	0,299	-0,530	-0,309	0,024
480	0,293	-0,524	-0,301	0,018
485	0,271	-0,505	-0,284	0,032
490	0,344	-0,152	-0,206	0,115
495	0,245	-0,485	-0,257	0,048
500	0,240	-0,480	-0,248	0,045
505	-0,175	0,284	0,074	0,564
510	0,354	-0,168	-0,208	0,124
515	0,239	-0,475	-0,249	0,028
520	0,243	-0,475	-0,253	0,016
525	0,244	-0,474	-0,254	0,007
530	-0,130	0,219	0,032	0,515
535	0,248	-0,473	-0,252	-0,010

**Çizelge 6.6 (devam):** 0°C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları.

<b>Dalga boyu (nm)</b>	<b>Duyusal</b>	<b>TBA (mg MDA / kg et)</b>	<b>Toplam canlı (<math>\log_{10}</math>kob/ml)</b>	<b><i>Pseudomonas spp.</i> (<math>\log_{10}</math>kob/ml)</b>
540	0,246	-0,471	-0,249	-0,011
545	-0,005	-0,202	0,159	0,115
550	0,247	-0,473	-0,247	-0,013
555	0,248	-0,477	-0,249	-0,017
560	0,247	-0,477	-0,249	-0,015
565	0,208	-0,128	-0,305	0,191
570	0,284	-0,541	-0,249	0,068
575	0,262	-0,494	-0,248	-0,033
580	0,023	-0,241	0,135	0,085
585	0,279	-0,519	-0,274	-0,056
590	0,298	-0,566	-0,290	0,051
595	0,244	-0,500	-0,301	0,035
600	0,219	-0,484	-0,283	0,011
605	0,223	-0,487	-0,254	0,001
610	0,234	-0,494	-0,241	0,000
615	0,237	-0,496	-0,234	0,001
620	0,238	-0,497	-0,233	0,001
625	0,589	<u>-0,875</u>	-0,418	0,293
630	0,242	-0,504	-0,236	0,004
635	-0,174	-0,146	-0,049	-0,046
640	-0,174	-0,146	-0,049	0,046
645	0,647	<u>-0,813</u>	-0,429	-0,472
650	0,24	-0,503	-0,247	-0,018
655	0,269	-0,548	-0,248	0,083
660	0,247	-0,500	-0,252	-0,031
665	0,254	-0,503	-0,256	-0,037
670	-0,131	0,210	0,034	0,521
675	-0,126	0,204	0,033	0,519
680	0,227	-0,518	-0,271	-0,389
685	0,257	-0,502	-0,245	-0,038
690	0,252	-0,496	-0,237	-0,032
695	0,247	-0,489	-0,228	-0,027
700	0,268	-0,533	-0,229	0,066
705	0,440	-0,559	-0,475	-0,323
710	0,414	-0,229	-0,222	0,111
715	0,011	-0,235	0,141	0,096
720	-0,136	0,205	0,062	0,528
725	0,261	-0,527	-0,219	0,077
730	0,233	-0,477	-0,211	-0,012
735	0,237	-0,481	-0,214	0,017
740	-0,518	0,453	0,206	0,545
745	0,261	-0,527	-0,218	0,077
750	0,255	-0,521	-0,213	0,075

**Çizelge 6.7 :** 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları

<b>Dalga boyu (nm)</b>	<b>Duyusal</b>	<b>TBA (mg MDA / kg et)</b>	<b>Toplam canlı (log<sub>10</sub>kob/ml)</b>	<b><i>Pseudomonas spp.</i> (log<sub>10</sub>kob/ml)</b>
435	-0,019	0,132	-0,145	0,153
440	0,747	-0,578	-0,433	-0,516
445	0,287	-0,106	0,136	-0,049
450	-0,562	0,347	0,499	0,295
455	0,224	-0,058	0,204	-0,003
460	0,363	-0,370	-0,055	-0,378
465	0,195	-0,026	0,235	0,03
470	0,164	-0,002	0,259	0,052
475	0,149	0,015	0,275	0,069
480	-0,345	0,518	0,647	0,456
485	0,133	0,031	0,290	0,085
490	0,135	0,031	0,289	0,085
495	0,126	0,045	0,301	0,100
500	-0,341	0,528	0,671	0,471
505	0,126	0,041	0,298	0,095
510	0,130	0,036	0,293	0,090
515	0,133	0,030	0,288	0,084
520	0,134	0,030	0,288	0,084
525	0,130	0,036	0,294	0,090
530	0,133	0,034	0,292	0,087
535	0,132	0,036	0,294	0,090
540	0,135	0,033	0,292	0,087
545	0,142	0,029	0,287	0,084
550	0,144	0,024	0,282	0,078
555	0,142	0,024	0,283	0,078
560	0,338	-0,025	0,108	0,087
565	0,146	0,018	0,277	0,071
570	0,150	0,018	0,276	0,072
575	0,164	0,009	0,266	0,065
580	0,166	-0,008	0,253	0,047
585	0,152	0,020	0,248	0,027
590	0,090	0,001	0,281	0,031
595	-0,017	0,061	0,351	0,067
600	-0,452	0,526	0,696	0,435
605	0,012	0,077	0,359	0,098
610	0,044	0,154	0,384	0,218
615	0,116	0,017	0,285	0,060
620	0,079	0,127	0,354	0,196
625	0,129	0,005	0,272	0,050
630	0,126	0,005	0,273	0,049
635	-0,402	0,276	0,477	0,249
640	0,013	-0,309	-0,293	-0,304
645	-0,354	0,501	0,674	0,434
650	0,240	-0,503	-0,247	-0,018
655	0,269	-0,548	-0,248	0,083

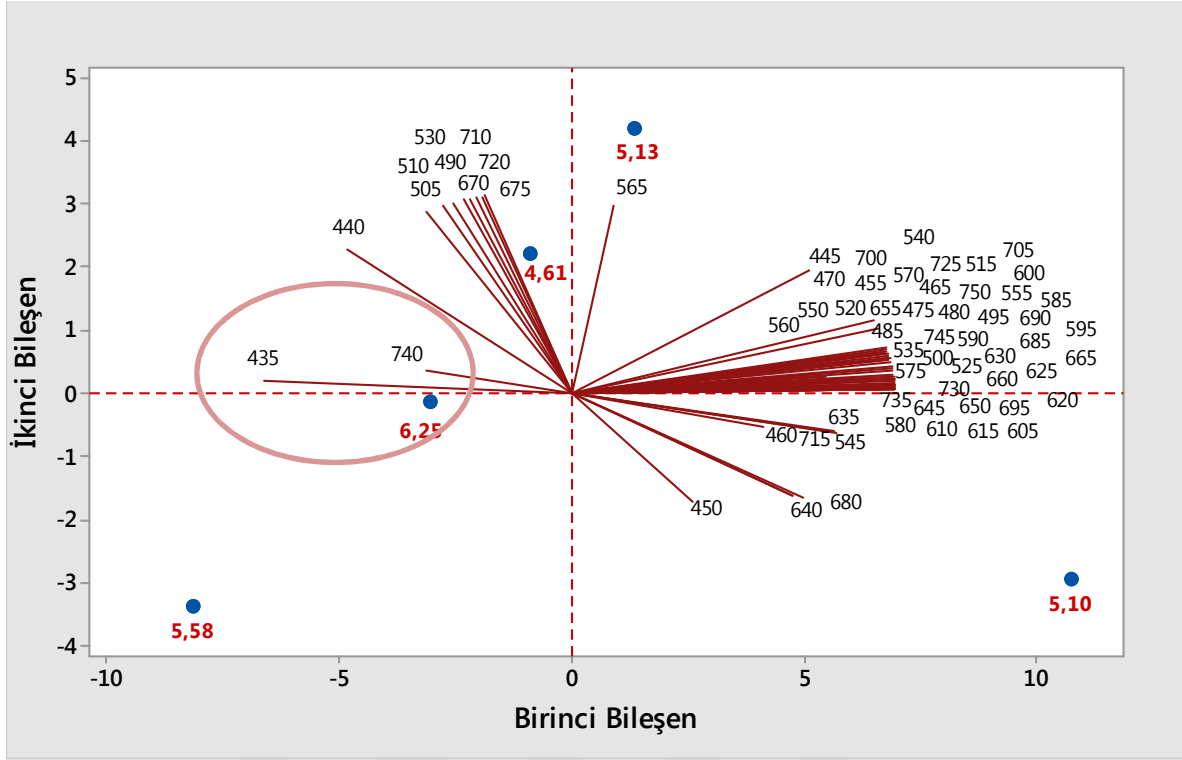
**Çizelge 6.7 (devam):** 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulu için etin floresan yoğunluğunun diğer kalite parametreleri ile Pearson korelasyon katsayıları

<b>Dalga boyu (nm)</b>	<b>Duyusal</b>	<b>TBA (mg MDA / kg et)</b>	<b>Toplam canlı (<math>\log_{10}</math>kob/ml)</b>	<b><i>Pseudomonas spp.</i> (<math>\log_{10}</math>kob/ml)</b>
660	0,247	-0,500	-0,252	-0,031
665	0,254	-0,503	-0,256	-0,037
670	-0,131	0,210	0,034	0,521
675	-0,126	0,204	0,033	0,519
680	0,227	-0,518	-0,271	-0,389
685	0,257	-0,502	-0,245	-0,038
690	0,252	-0,496	-0,237	-0,032
695	0,247	-0,489	-0,228	-0,027
700	0,268	-0,533	-0,229	0,066
705	0,440	-0,559	-0,475	-0,323
710	0,414	-0,229	-0,222	0,111
715	0,011	-0,235	0,141	0,096
720	-0,136	0,205	0,062	0,528
725	0,261	-0,527	-0,219	0,077
730	0,233	-0,477	-0,211	-0,012
735	0,237	-0,481	-0,214	0,017
740	-0,518	0,453	0,206	0,545
745	0,261	-0,527	-0,218	0,077
750	0,255	-0,521	-0,213	0,075

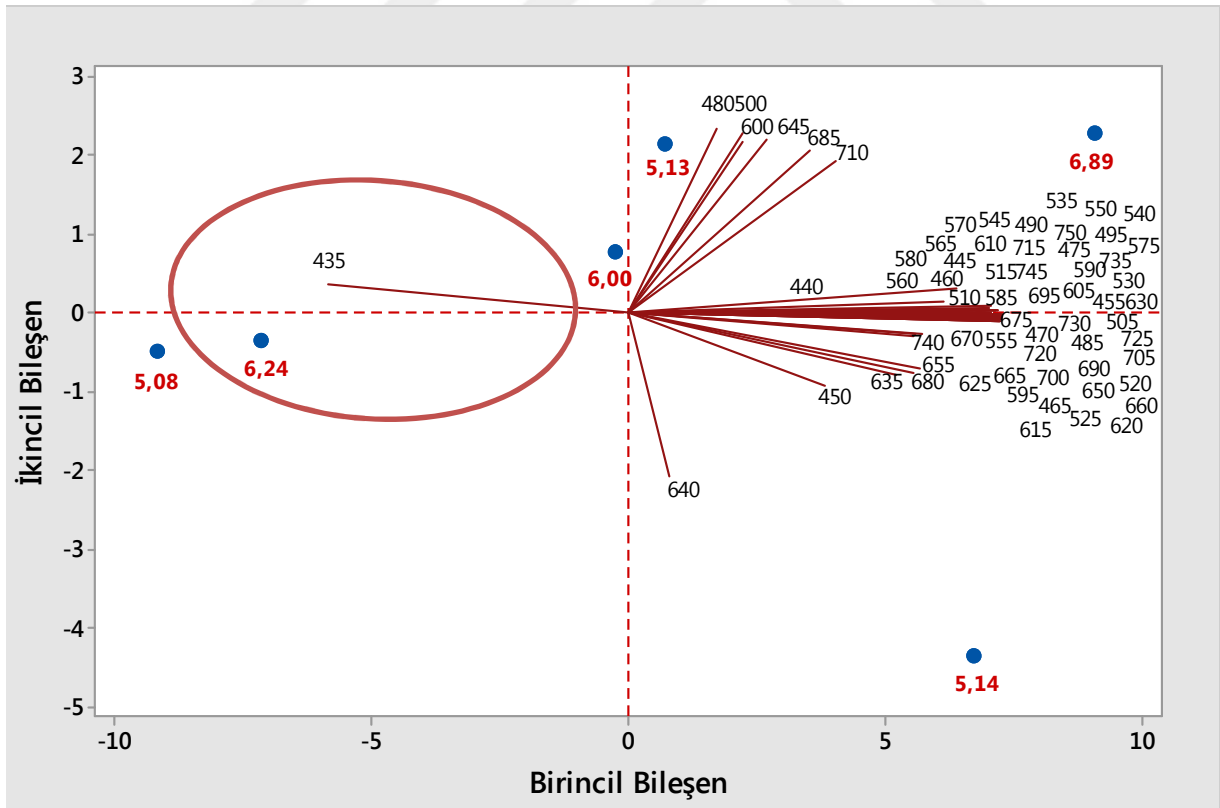
Pearson korelasyon değerlerine bakıldığında en yüksek katsayı değerleri 0<sup>0</sup>C sıcaklığı için TBA değerlerinin 625 ve 645 nm bulgulama dalga boyu ile arasındaki korelasyonunda elde edilmiştir. Bu katsayılar sırasıyla 0,875 ve 0,813'tür. 4<sup>0</sup>C sıcaklığında ise en yüksek korelasyon katsayısı 0,747 değeri ile 440 nm bulgulama dalga boyunun duyuşsal analiz ile yapılan korelasyonunda elde edilmiştir.

### 6.5.1 Temel bileşen analizi

Floresan bulgulama dalga boyları ile toplam canlı sayısı sonuçları kullanılarak yapılan temel bileşen analiz sonuçları 0<sup>0</sup>C ve 4<sup>0</sup>C koşulu için sırasıyla Şekil 6.5 ve 6.6'da verilmiştir. Kırmızı ile gösterilen noktalar ölçülen toplam canlı sayısı değerlerini, siyah ile yazılmış olanlar ise dalga boylarını göstermektedir. 0<sup>0</sup>C sıcaklık sonuçlarına ait yükleme grafikleri incelendiğinde, 435 ve 740 nm bulgulama dalga boylarındaki değişimlerin toplam canlı sayısındaki bozulma sınır değeri (~6 log kob) ile çakıştığı ve bozulmuş etin sınıflandırılmasında karakteristik olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 6.5 : 0°C sıcaklık koşulu için floresan dalga boyu ve toplam canlı kullanılarak yapılan temel bileşen analizi



Şekil 6.6 : 4°C sıcaklık koşulu için floresan dalga boyu ve toplam canlı kullanılarak yapılan temel bileşen analizi

4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulları için yükleme grafiklerine bakıldığında ise, 0<sup>0</sup>C için belirleyici olabileceği düşünülen 435 nm değerindeki değişimin bozulma sınırındaki etler için karakteristik olarak kullanılabilmesi söylenebilmektedir. İki koşulun temel bileşen analizi incelendiğinde 435 nm bulgulama dalga boyunun bozuk etin sınıflandırılmasında kullanılabilmesi mümkün görülmektedir. Etin diğer tazelik aşamalarının (taze, yarı-taze vb.) sınıflandırılmasına ilişkin, temel bileşen analizinin çok net bir gösterge verdiği söylenememektedir.

Literatür çalışmaları ile bu tez çalışmasına ait analiz sonuçları karşılaştırıldığında, floresan yoğunluğunun gün geçtikçe artması ve sıcaklık farkının floresan yoğunluğuna etkisi literatür bulguları ile uyumludur (Durek ve diğ.,2016; Schneider ve diğ., 2008; Courrol ve Samad, 2018). Literatür çalışmalarında ortak protoporfirin pik noktasının 592, 630 ve 705 nm etrafında olduğu görülmektedir. Bulgulama dalga boylarının bozulmaya hassasiyet gösterme eğilimleri temel bileşen analizinde incelendiğinde ise 435 nm'deki değişimin diğer piklere göre bozulma sürecine daha hassas olduğu görülmektedir. Literatür çalışmalarından farklı olarak bozulmaya en çok hassasiyet gösteren bulgulama dalga boyunun temel bileşen analizine göre 435 nm olduğuna karar verilmiştir ve literatüre göre farklı yerde bulgulama dalga boyu sonucuna varılmıştır (Durek ve diğ.,2016; Schneider ve diğ., 2008; Courrol ve Samad, 2018). Farklı sonuç elde edilmesinin temel sebepleri arasında etin homojen olmayan yapısı, hayvanın cinsi ve bölgesi, fiziksel deneysel parametrelerindeki farklılıkların olduğu düşünülmektedir. Korelasyon katsayıları incelendiğinde ise TBA ile korelasyonda elde edilen en yüksek değerlerin 625 ve 640 nm olduğu görülmektedir. TBA analiz sonuçları ile floresan yoğunlukları pozitif yönde uyumluluk göstermiştir.

## **6.6 Sıcaklık Verileri**

0<sup>0</sup>C ve 4<sup>0</sup>C koşullarına ait sıcaklık verileri Şekil B1 ve Şekil B2'dedir.



## 7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Hızlı, güvenilirliği yüksek tahribatsız yöntemler arasında sayılan FTIR ve floresan spektroskopisi kullanılarak, farklı sıcaklık koşulları altında muhafaza edilen etlerde muhafaza süresince meydana gelen bağ ve floresan değişimi incelenmiştir. Konvansiyonel kalite analizleri ile etlerde meydana gelen mikrobiyal gelişim, lipid oksidasyonundaki değişim ve duyuşal değişikliklere bakılmıştır. 10 günlük muhafaza süresi boyunca toplam canlı ve *Pseudomonas spp.* sayısı artış göstermiştir. 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda toplam canlı sayısı 10. günde yasal limitleri aşmıştır. *Pseudomonas spp.* her iki sıcaklık koşulu için neredeyse 2 katına yükselerek soğuk muhafaza koşullarında gelişimini sürdürmüştür. 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda mikroorganizma gelişiminin 0<sup>0</sup>C bölmesine göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Lipid oksidasyonunda MDA oluşumu her iki sıcaklık için de bozulma limitlerinin üzerine 4. günden itibaren çıkmıştır. Sıcaklık farkından dolayı lipid oksidasyonu değişimi ile 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda MDA oluşumu 0<sup>0</sup>C'ye göre oldukça yüksektir. Duyusal analiz ile elde edilen verilerde, genel tükelitebilirlik 0<sup>0</sup>C bölmesinde 8. günden itibaren sınırın altında kalırken, 4<sup>0</sup>C bölmesinde 4. günden itibaren sınırın altında kalmıştır.

Analizi yapılan numuneler incelendiğinde sıcaklık farkından dolayı mikrobiyal gelişim 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda daha yüksektir. FTIR spektroskopisi ile spektrum eğrileri iki bölme için de aynı yolu izlemiştir. 0<sup>0</sup>C bölmesinde geçirgenlik zamana bağlı düşmeye devam etmiştir. 4<sup>0</sup>C bölmesinde ise bu durum artış ve azalışlarla sürse de genel olarak zamana bağlı geçirgenlikte azalma meydana gelmektedir. Toplam canlı sayısının zaman içerisinde artması ile birlikte her iki sıcaklık için de protein ve nem kaynağında düşüş meydana gelmiştir. Ortamdaki proteinlerin mikroorganizmalar tarafından parçalanmasıyla C-N bağ yapısında azalmanın olduğu görülmüştür.

Floresan spektroskopisi ile elde edilen verilere bakıldığında her iki sıcaklık için de floresan yoğunluğu günlere paralel olarak artarken, 4<sup>0</sup>C sıcaklık koşulunda muhafaza edilen etlerde floresan yoğunluğunun daha yüksek olduğu görülmektedir. Porfirin'e ait floresan yoğunluk pikleri diğer literatür çalışmalarından genel olarak farklıdır.

Temel bileşen analizi sonucu, her iki sıcaklık şartında 435 nm bulgulama dalga boyu ile etin bozulma durumuna yaklaştığı karakteristik olarak sınıflandırılabilir.

Optik yöntemlerin genel olarak konvansiyonel analiz sonuçlarına paralel olarak uyumluluk gösterdiği tespit edilmiştir. Gelecek çalışmalarda, incelenecek fiziksel parametre sayısının ve aralığının genişletilerek validasyonun sağlanması ile, ette mikrobiyal ve biyokimyasal kaynaklı bozulmaların tespitinde hızlı yanıt verebilen optik yöntemlerin tercih edileceği ve geliştirileceği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Anon.** (2013). Et ve ürünleri analizleri, Gıda Teknolojisi, Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara.
- Anon.** (2014). Animal production and health division: meat & meat products, FAO Retrieved from <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/background.html>, 02.03.2018.
- Argyri, A.A., Panagou, E.Z., Tarantilis, P.A., Polysiou, M., Nychas, G.-J.E.** (2010). Rapid qualitative and quantitative detection of beef fillets spoilage based on Fourier transform infrared spectroscopy data and artificial neural networks. *Sensor and Actuators B: Chemical*, 145, 146–154.
- Argyri, A.A., Jarvis, R.M. Wedge, D., Xu, Y., Panagou, R.G., Nychas, G.J.E.** (2013). A comparison of Raman and FT-IR spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, 29, 461-470.
- Ayhan, K.** (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. *Gıdalarda Mikroorganizma Gelişmesini Etkileyen Faktörler*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara.
- Aymerich, T., Picouet, P. A., & Monfort, J. M.** (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78, 114–129.
- Barbut, S.** (1993). Color measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Research International*, 26(1), 39–43.
- Bhutta Z.** (1999). *Protein: digestibility and availability*. In: Encyclopedia of Human Nutrition. M Sadler, J Strain and B. Caballero (Editors). San Diego: Academic Press, 1646-1656.
- Bautista, DA., Foods, D.M. ve Creek, W.** (2014). Problems caused by bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 3, 465-470.
- Blisesalski, H. K.** (2005). Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science* 70, 509–524.
- Briggs, G.M. ve Schweigert, B.S.** (1990). An overview of meat in the diet. In A.M. Pearson, & T.R. Dutson. *Advances in Meat Research*, 6,1-18. New York: Elsevier Applied Science.
- Büyüksırt, T. ve Kuleaşan, H.** (2014). Fourier dönüşümlü kızılılötesi (ftir) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *Gıda*, 39(4), 235-241.
- Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G.J. and Villani, F.** (2015). Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology*, 45, 83-102.

- Candoğan, K.** (2009). Antimikrobiyal ve antioksidan özellikteki yenilebilir filmlerin taze etlerin raf ömrüne etkisi. *Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu* (Proje No: 2006-0745-046). Ankara Üniversitesi.
- Careaga, M. Ferna'ndezb, E., Dorantesi L. et al.** (2003). Antibacterial activity of capsicum extract against salmonella typhimurium and pseudomonas aeruginosa inoculated in raw beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 331 – 335.
- Cheftel, J. C. ve Culioli, J.** (1997). Effects of high pressure on meat: a review. *Meat Science*, 46, 211–236.
- Chen, M. Irudayaraj, J. McMahan, D.J.** (1998). Examination of full fat and reduced fat cheddar cheese during ripening by fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 81(11), 2791-2797.
- Courrol, L.C. and Samad, R.E.** (2018). Determination of chicken meat contamination by porphyrin fluorescence. *Journal of Luminescence*, 199, 67-70.
- Çiçek, Ü. Karabıyıklı, Ş. Çabuk, D.** (2013). Dana etinin bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine farklı ambalajlama yöntemleri ve depolama süresinin etkisi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30 (2), 62-70.
- Damez, J.L. ve Clerjon, S.** (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 80, 132-149.
- Durek, J., Bolling, S., Knorr, D., Schwagele, F., Schlüter, O.** (2012). Effects of different storage conditions on quality related porphyrin fluorescence signatures of pork slices. *Meat Science*, 90, 252-258.
- Durek, J., Fröhling, A. Bolling, J. Etc.** (2016). Non-destructive mobile monitoring of microbial contaminations on meat surfaces using porphyrin fluorescence intensities. *Meat Science*, 115,1-8.
- Eliis, D. I., Broadhurst, D. Kell, D.B: Rowland, J.J., Goodacre, R.** (2002). Rapid and quantitative detection of microbial spoilage of meat by fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2822-2828.
- Feldhusen, F., Kirschner, T., Koch, R., Giese, W., & Wenzel, S.** (1995). Influence on meat colour of spray-chilling the surface of pig carcasses. *Meat Science*, 40, 245-251.
- Grujic, R.** (2015). Meat in human nutrition. *Quality of Life*, 1(1), 16-25.
- Grunert, K. G.** (1997). What's in a steak? A cross-cultural study on the quality perception of beef. *Food Quality and Preference*, 8(3), 157–174.
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G., & Skibsted, L. H.** (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68, 479–484.
- Haleem, A.M., Al-Bakri, S.A. and Al-Hiyaly, A.K.** (2013). Determination of microbial content in poultry meat in local iraqi markets. *Journal of Microbiology Research*, 3(6), 205-207

- Heinz, G. ve Hautzinger, P.** (2007). Meat processing technology for small- to medium-scale producers. Food and Agriculture Organization of The United Nations Regional Office for Asia and The Pacific Bangkok.
- Herrero, A.M.** (2008a). Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish. *Food Chemistry*, 107, 1642–1651.
- Herrero, A. M.** (2008b). Raman spectroscopy for monitoring protein structure in muscle food systems. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 48 (6), 512-523.
- Higenyi, J., Kabasa, J.D. ve Muyanja, C.** (2014). Evaluation of microbial and sensory quality of raw and processed poultry sausages from native poultry in Uganda. *International Journal of Science, Technology and Society*, 2(2), 18-27.
- Joo, S.T., Kim, G.D., Hwang Y.H. and Ryu, Y.C.** (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95, 828–836.
- Jordan, G., Thomasiusi R. Shröderi H. Etc.** (2009). Non-invasive mobile monitoring of meat quality. *J. Verbr, Lebensm* 4, 7-14.
- Judge, M. D. ve Aberle, E. D.** (1982). Effects of chronological age and postmortem aging on thermal shrinkage temperature of bovine intramuscular collagen. *Journal of Animal Science*, 54(1), 68–71.
- Karacan, R.** (2017). Türkiye’de kırmızı et talebinin, beyaz et tüketimi ve gelir dağılımı açısından değerlendirilmesi. *Finans Politik & Ekonomik Yorumlar*, 54 (630), 67-73.
- Kerry, J. P., O’Grady, M. N., & Hogan, S. A.** (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74, 113–130.
- Kolsarıcı, N.** (2004). *Mekanik ayrılmış tavuk etlerinin soğuk ve donmuş depolama stabilitesi*. Ankara Üniversitesi (Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu). Ankara, Türkiye.
- Koçak, P.** (2014). *Aydın ilindeki mandıralarda üretilip satışa sunulan beyaz, tulum, kaşar ve lor peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.
- Li-Chan, E. C. Y.** (1996). The applications of Raman spectroscopy in food science. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 361–370.
- Limbo, S. Uboldi, E. Adobati, A. Lametti, S. et al.** (2013). Shelf life of case-ready beef steaks (Semitendinosus muscle) stored in oxygen-depleted master bag system with oxygen scavengers and CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 93, 477-484.
- Mak Y.W., Chuah L.O., Ahmad R., Bhat, R.** (2013). Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. *Journal of King Saud University-Science*, 25(4), 275-282.

- Mala, D.M.** (2017). *Development of fluorescence fingerprint (ff) monitoring system for microbial content of meat* (Doktora Tezi). The University of Tsukuba, Japonya.
- McMillin, K. W., Huang, N. Y., Ho, C. P., & Smith, B. S.** (1999). *Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging*. In Y. L. Xiong, F. Shahidi, & C. T. Ho (Eds.), *Quality attributes in muscle foods* (pp. 73–93). New York: ACS Symposium Series, Plenum Publishing Corporation.
- Nychas, G-JE and Drosinos, E.H.** (2014) Spoilage of meat, Agricultural University of Athens, Athens, Greece.
- Olmedilla-Alonso, B. Colmenero-Jimenez, F. And J. Sanchez-Muniz, F.** (2013). Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95, 919–930.
- Oussalah, M. Caillet, S. Salmiéri, S. et al.** (2004). Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5598–5605.
- Pavli, F., Argyri, A. A., Nychas, G. J., Tassou, C., & Choriantopoulos, N.** (2018). Use of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring the shelf life of ham slices packed with probiotic supplemented edible films after treatment with high pressure processing. *Food Research International*, 106, 1061-1068.
- Pikul, J., Leszczynski, D.E. ve Kummerow, F.A.** (1989). Evaluation of three modified tba methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1309-1313.
- Processed meats do cause cancer – WHO.** (2015) Retrieved April 14, 20181, from <http://www.bbc.com/news/health-34615621>
- Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J. et al.** (2017). Lipid peroxidation process in meat and meat products: a comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 22, 1-12.
- Ropodi, A.I., Panagou, E.Z., Nychas, G.J.E.** (2018). Rapid detection of frozen-then-thawed minced beef using multispectral imaging and Fourier transform infrared spectroscopy. *Meat Science*, 135, 142-147.
- Ross, C.F. and Smith, D. M.** (2006). Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 18-25.
- Samooel, J. Nam, K.C. and Jo, C.** (2016). Detection of malondialdehyde in processed meat products without interference from the ingredients. *Food Chemistry*, 209, 90-94.
- Schneider, J. Wulf, J., Surowsky, B. Schmidt, H.** (2008). Fluorimetric detection of protoporphyrins as an indicator for quality monitoring of fresh intact pork meat. *Meat Science*, 80, 1320–1325.

- Shiari, H., Oshita, S. Makino, Y.** (2016). Detection of fluorescence signals from ATP in the second derivative excitation–emission matrix of a pork meat surface for cleanliness evaluation. *Journal of Food Engineering*, 168, 173-179.
- Sowoidnich, K., Schmidt, H. & Maiwald, M.** (2010). Application of diode-laser raman spectroscopy for in situ investigation of meat spoilage. *Food Bioprocess Technol*, 3, 878-882.
- Türk standartları enstitüsü.** (2014) TS 6160. Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011). T.C. Resmi Gazete, 28157 (3.Mükerrer).**
- Valkova, V., Salakova, A., Buchtova, H., & Tremlova, B.** (2007). Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. *Meat Science*, 77(4), 608–615.
- Vassilis, S. K., Kontogianni, E. Ve Lygouras, J.N.** (2014). Neural network based identification of meat spoilage using Fourier-transform infrared, *Journal of Food Engineering*, 142, 118-131.
- Wakamatsu, J., Okui, J., Ikedai Y. Nishimura, T., Hattori, A.** Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn–protoporphyrin IX is formed in nitrite-free dry-cured ham. *Meat Science*, 68, 313-317.
- Williams, P.G.** (2007). Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics*, 64 (4),113–119.
- Xia, J. J., Berg, E. P., Lee, J. W., & Yao, G.** (2007). Characterizing beef muscles with optical scattering and absorption coefficients in VIS-NIR region. *Meat Science*, 75, 78–83.
- Zakrys, P.J., Hogan, S.A., Sullivan, M.G. et al.** (2008). Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 79, 648-655.
- Zhou, G.H., Xu, X.L. and Liu, Y.** (2010). Preservation technologies for fresh meat. *Meat Science*, 86, 11.



## **EKLER**

**EK A:** Çizelgeler

**EK B:** Şekiller



**Çizelge A.1:** Duyusal değerlendirme formu

Tarih	Kod	Kırmızılık	Genel Renk Değişimi	Tipik Et Kokusu	Kötü Koku	Genel Tüketilebilirlik
-------	-----	------------	---------------------	-----------------	-----------	------------------------

**Çizelge A.2:** Kırmızı et duyusal değerlendirme kriterleri

Duyusal Parametre	Değerlendirme	Puanlar
Kırmızılık (Renk) Değerlendirme	Parlak kırmızı	7
	Mat kırmızı	6
	Çok az şiddette kahverengimsi kırmızı (%1-20)	5
	Az şiddette kahverengimsi kırmızı (%20-39)	4
	Orta şiddette kahverengimsi kırmızı (%40-59)	3
	Yüksek şiddette kahverengimsi kırmızı (%60-79)	2
	Neredeyse kahverengi	1
Genel Renk Değişimi	Renk değişimi yok	7
	Çok az şiddette renk değişimi (%1-20)	6
	Az şiddette renk değişimi (%20-39)	5
	Orta şiddette renk değişimi (%40-59)	4
	Yüksek şiddette renk değişimi (%60-79)	3
	Çok yüksek şiddette renk değişimi (%80-95)	2
	Tamamen değişmiş renk (%96-100)	1
Tipik Et (Bonfile) Kokusu Değerlendirme	Tipik bonfile kokusu (yabancı koku yok)	7
	Neredeyse bonfile kokusu (yabancı koku yok)	6
	Az/ belli belirsiz bonfile kokusu (yabancı koku yok)	5
	Az şiddette bonfile olmayan koku	4
	Orta şiddette bonfile olmayan koku	3
	Yüksek şiddette bonfile olmayan koku	2
	Tamamen yabancı koku	1
Kötü Koku Değerlendirme	Kötü koku yok	7
	Çok hafif şiddetli kötü koku	6
	Hafif şiddetli kötü koku	5
	Orta şiddetli kötü koku	4
	Orta-yüksek şiddetli kötü koku	3
	Şiddetli kötü koku	2
	Çok şiddetli kötü koku	1
Genel Tüketilebilirlik	Tüketilebilirlik çok iyi	7
	Tüketilebilirlik iyi	6
	Tüketilebilirlik orta	5
	Tüketilebilirlik sınırda	4
	Tüketilebilirlik kötü	3
	Tüketilebilirlik çok kötü	2
	Kesinlikle reddedilir	1

**Çizelge A.3:** Zamana göre TBA analiz sonuçları (mg MDA/ kg et)

		0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün
0°C	1.paralel	0,9460	0,4395	0,9431	2,4195	1,9143	2,1198
		0,9318	0,4102	0,9599	2,4241	1,9139	2,1064
	2.paralel	0,9335	0,4353	0,9862	2,3274	1,8846	2,4003
		0,9511	0,4186	0,9870	2,3299	1,8837	2,3986
	1.paralel	0,9329	0,8580	1,2939	2,0825	1,9830	2,0586
		0,9295	0,8593	1,2555	2,0837	1,9879	2,0548
2.paralel	0,9316	0,8551	0,9778	2,1380	1,9425	1,8429	
	0,9328	0,8560	0,9791	2,1329	1,9499	1,8412	
4°C	1.paralel	0,9460	0,8535	0,8602	2,3212	3,0479	3,9307
		0,9318	0,8611	0,8573	2,3362	3,0508	3,9169
	2.paralel	0,9335	0,7120	1,0582	2,2400	4,9329	3,9420
		0,9511	0,7196	1,0532	2,4000	4,9178	3,9445
	1.paralel	0,9329	0,7262	1,1328	2,5369	4,2266	4,0783
		0,9295	0,7304	1,1369	2,5473	4,1968	4,0535
2.paralel	0,9316	0,8428	1,1378	2,5642	4,3534	3,9882	
	0,9328	0,8461	1,1253	2,5671	4,3051	3,9878	

**Çizelge A.4:** Zaman ve sıcaklık koşullarına göre toplam canlı değişimi(log<sub>10</sub>kob/ml).

		0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün
0°C	1.paralel	5,2455	5,5416	4,5563	5,5888	5,7952	6,3010
	2.paralel	5,0170	4,6532	4,6721	5,5752	5,3802	6,2041
4°C	1.paralel	5,2455	5,2648	5,2553	5,9859	6,0792	6,8573
	2.paralel	5,0170	5,0170	4,9031	6,0170	6,4082	6,9243

**Çizelge A.5:** Zaman ve sıcaklık koşullarına göre *Pseudomonas spp.* değişimi (log<sub>10</sub>kob/ml).

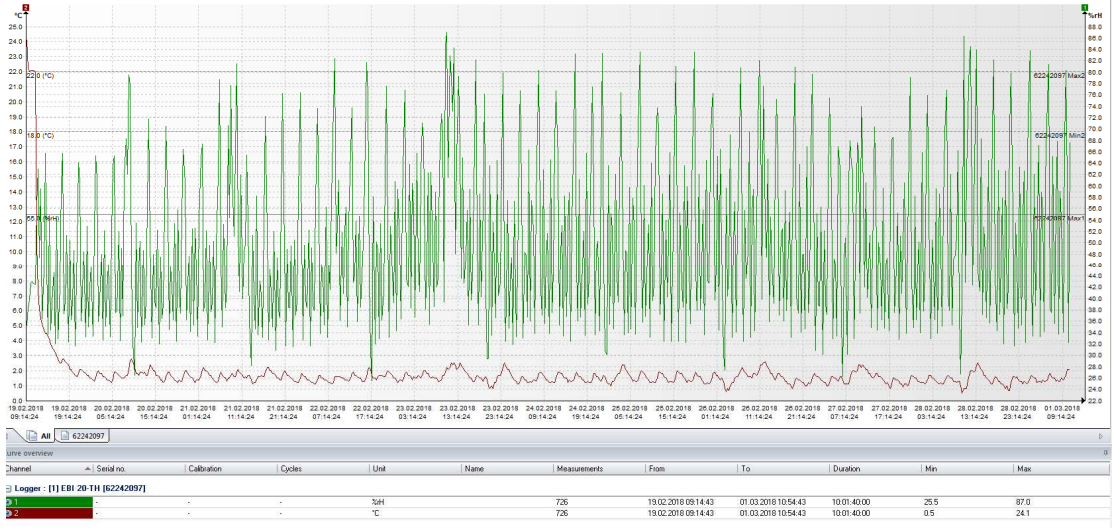
		0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün
0°C	1.paralel	2,2552	1,3010	1,9030	1,0000	3,9777	4,6812
	2.paralel	2,3010	0,9542	1,7781	1,9000	3,3010	4,8573
4°C	1.paralel	2,2552	2,3010	1,8450	3,1500	5,2648	4,6513
	2.paralel	2,3010	2,0000	1,7780	3,0400	5,2975	4,9823

**Çizelge A.6:** 0°C sıcaklık koşulu için etin duyusal analiz sonuçları

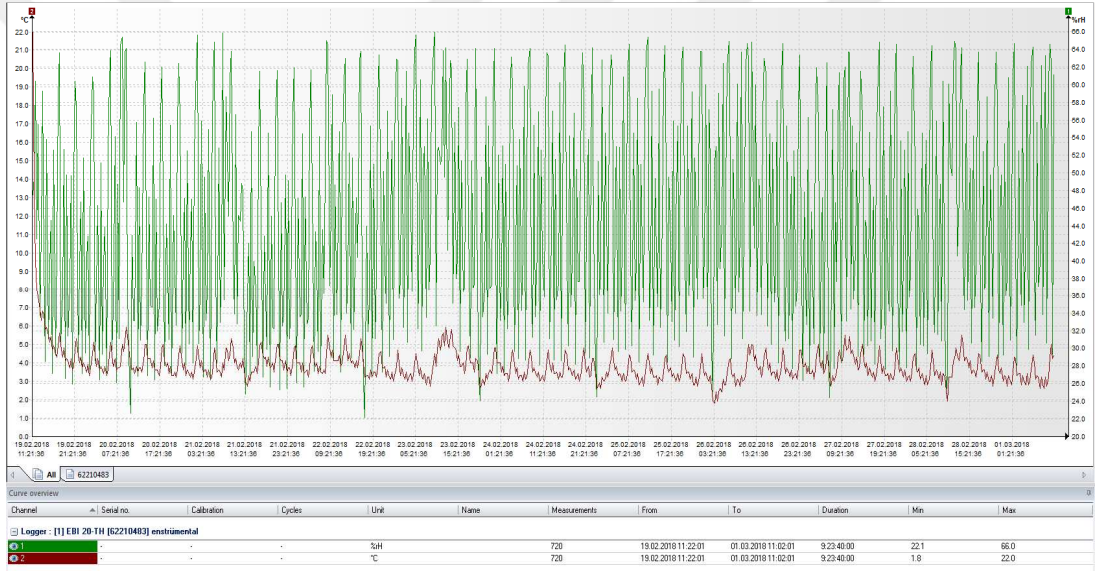
		0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün
Kırmızılık	1.panelist	7,0	6,0	6,5	3,0	3,0	1,0
	2.panelist	7,0	6,0	7,0	2,0	2,5	1,0
	3.panelist	7,0	6,0	6,5	3,0	3,0	1,0
	4.panelist	7,0	6,0	6,0	2,0	2,5	1,0
Genel renk değişimi	1.panelist	7,0	6,0	6,5	3,0	3,0	1,0
	2.panelist	7,0	6,0	7,0	2,0	2,5	1,0
	3.panelist	7,0	6,0	6,5	3,0	3,0	1,0
	4.panelist	7,0	6,0	6,0	2,0	2,5	1,0
Tipik et kokusu	1.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,0	1,0
	2.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,0	1,0
	4.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0
Kötü koku	1.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,0	1,0
	2.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,0	1,0
	4.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0
Genel tüketilebilirlik	1.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,5	1,0
	2.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	6,0	2,5	2,5	1,0
	4.panelist	7,0	6,0	6,0	3,0	2,0	1,0

**Çizelge A.7:** 4°C sıcaklık koşulu için etin duyusal analiz sonuçları.

		0.gün	2.gün	4.gün	8.gün	9.gün	10.gün
Kırmızılık	1.panelist	7,0	5,5	4,0	1,5	1,0	1,0
	2.panelist	7,0	5,5	4,0	1,0	1,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	3,5	1,5	1,0	1,0
	4.panelist	7,0	5,5	3,5	1,0	1,0	1,0
Genel renk değişimi	1.panelist	7,0	5,5	4,0	1,5	1,0	1,0
	2.panelist	7,0	5,0	4,0	1,0	1,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	3,5	1,5	1,0	1,0
	4.panelist	7,0	5,0	3,5	1,0	1,0	1,0
Tipik et kokusu	1.panelist	7,0	5,5	3,5	1,5	1,0	1,0
	2.panelist	7,0	5,0	3,5	1,0	1,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	3,0	1,5	1,0	1,0
	4.panelist	7,0	5,0	4,0	1,0	1,0	1,0
Kötü koku	1.panelist	7,0	5,5	3,5	1,5	1,0	1,0
	2.panelist	7,0	5,0	3,5	1,0	1,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	3,0	1,5	1,0	1,0
	4.panelist	7,0	5,0	4,0	1,0	1,0	1,0
Genel tüketilebilirlik	1.panelist	7,0	5,5	3,5	1,5	1,0	1,0
	2.panelist	7,0	5,0	3,5	1,0	1,0	1,0
	3.panelist	7,0	5,5	3,0	1,5	1,0	1,0
	4.panelist	7,0	5,0	4,0	1,0	1,0	1,0



Şekil B.1: 0°C muhafaza koşullarının sıcaklık verileri



Şekil B.2: 4°C muhafaza koşullarının sıcaklık verileri



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Elif OLFAZ HEZER

**Doğum Tarihi ve Yeri** : 02.02.1990 / SAMSUN

**e-posta** : elifolfaz@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU:

**Lisans** : 2015, İTÜ, Kimya-Metalurji, Kimya Mühendisliği (ing.)

**Lisans** : 2016, İTÜ, Kimya- Metalurji, Gıda Mühendisliği (çift anadal)

