



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



VAKUM PAKETLİ SIĞIR ETLERİNDE MİKROFLORANIN GELİŞİMİ

Hülya GÜNDÜZTEPE

**GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR**

**ANKARA
2020**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

VAKUM PAKETLİ SIĞIR ETLERİNDE MİKROFLORANIN GELİŞİMİ

Hülya GÜNDÜZTEPE

**GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR**

**ANKARA
2020**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum " Vakum Paketli Sığır Etlerinde Mikrofloranın Gelişimi" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hülya GÜNDÜZTEPE

Tarih: 18.06.2020

İmza:



KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında

Hülya GÜNDÜZTEPE tarafından hazırlanan

"Vakum Paketli Sığır Etlerinde Mikrofloranın Gelişimi"

adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18.06.2020



İmza

Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. T. Haluk ÇELİK

Ankara Üniversitesi

Üye



Doç. Dr. Buket ER DEMİRHAN

Gazi Üniversitesi

Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Soğukta Muhafaza Edilen Etlerde Mikroflorayı Etkileyen Faktörler	3
1.1.1. pH-Değeri	3
1.1.2. Su Aktivitesi	4
1.1.3. Etin Başlangıçtaki Mikroorganizma Yüğü	5
1.1.4. Etin Parçalanma Derecesi	6
1.1.5. Muhafaza Sıcaklığı	6
1.1.6. Paketleme Tipi	7
1.2. Soğukta Muhafaza Edilen Sığır Etlerinde Mikrofloranın Seyri	8
2. GEREÇ ve YÖNTEM	16
2.1. Gereç	16
2.2. Yöntem	17
2.2.1. Mikrobiyolojik Analizler	17
2.2.2. pH-Değerlerinin Belirlenmesi	19
3. BULGULAR	20
4. TARTIŞMA	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
ÖZET	28
SUMMARY	29
KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	34

ÖNSÖZ

İnsan beslenmesinde önemli bir gıda olan et, içerdiği yüksek miktardaki su ve diğer besin öğeleri nedeniyle kolay bozulabilir gıdalardan biri olarak kabul edilir. Ette oluşan mikrobiyel aktiviteler sonucunda, etin duysal özellikleri değişikliğe uğrar. Ette meydana gelen mikrobiyal bozulmalar; mikroorganizmaların faaliyetleri, enzimatik reaksiyonlar ve yağların oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu reaksiyonlar sonucu ette oluşan bozulmalar kokuşma, renk değişimi ve slime (mukoz tabaka) oluşumu olarak fark edilmektedir. Etteki bu bozulmalar etin başlangıç mikroorganizma yükü, pH-değeri, yüzey alanı, parçalanma derecesi, oksijen varlığı, muhafaza sıcaklığı, muhafaza süresi ve paketlenme tiplerine bağlı olarak değişkenlik gösterir.

Soğukta muhafaza et ve et ürünleri gibi çabuk bozulan gıdaların korunmasında kullanılan en etkin muhafaza yöntemlerinden birisi olup, bu tekniğin kullanım amacı ise etlerin bozulmasını geciktirmektir. Ancak soğukta muhafaza edilen etlerin, florasında bulunan bazı mikroorganizmaların üremeleri, enzimatik ve enzimatik olmayan değişiklikler devam ettiğinden, belirli süre sonrası bozulma kaçınılmazdır.

Ancak soğukta muhafazanın yanı sıra, etlerin farklı materyaller ve atmosfer ile paketlenmesi de raf ömrü üzerinde etkilidir. Et ve et ürünlerinin ambalajlanmasında kullanılan yöntemler, bu ürünlerin soğukta muhafazada raf ömrünün uzatılmasını sağladığı gibi, gıda güvenliğinin artırılmasında da etkin rol oynamaktadır. Bu yöntemler vakum paketlenme, modifiye atmosferde paketlenme (MAP), akıllı paketlenme olarak sıralanabilir. Etin florasında çok sayıda mikroorganizma bulunmasına rağmen sıcaklık, muhafaza süresi, paketlenme tipleri gibi faktörlerin etkisiyle ağırlıklı olarak birkaç tür bozulmaya neden olmaktadır. Vakum paketlenmiş etlerde *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* gibi aerob Gram negatif flora baskılanırken, *Lactobacillus*, *Carnobacterium* ve *Leuconostoc* türleri predominant hale geçerek

sayılarının muhafaza periyoduna baēlı olarak, 10^7 - 10^8 kob/cm²'ye ulaşması ile slime oluşumu gözlemlenir.

Vakum paketli sığır etlerinde mikrofloranın gelişimi konusunda çalışmama vesile olan, bu çalışma süresince bilgi, deneyim ve desteēini esirgemeyerek yol gösteren deēerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR' e (Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı) teşekkür ederim.



SİMGELER VE KISALTMALAR

a_w : Su Aktivitesi

CO₂: Karbondioksit

DFD: Dark Firm Dry

H₂S: Hidrojen Sülfür

Kob: Koloni Oluşturan Birim

LAB: Laktik Asit Bakterileri

MAP: Modifiye Atmosfer Paketleme

PSE: Pale Soft Exudative

VP: Vakum Paket

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Çalışmada Kullanılan Vakum Paketli Örnekler	16
Şekil 2.2. <i>Pseudomonas</i> spp. lerin Tespit Edilmesinde Kullanılan Oksidaz Test	18
Şekil 3.1. Vakum Paketli Etlerde Mikrofloranın Gelişimi	22



ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Muhafaza Süresince Örneklerde Mikrobiyel Değişim

20



1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artmaya devam ettiği günümüzde, insanlığın en önemli sorunlarından birisi yeterli gıda üretimini sağlamaktır. İçinde yaşadığımız zaman diliminde gerek açlık gerekse yetersiz beslenmeye bağlı sağlık sorunları hala önemini korumakta ve her yıl milyonlarca insan açlığa bağlı olarak ölmektedir. Bilinen bu gerçeklere karşın, tonlarca gıda her gün hem değişik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan bozulmalar nedeniyle hem de tüketilmeden çöpe atılmaktadır.

Gıda maddeleri içerisinde önemli bir yere sahip olan et, içerdiği eksojen aminoasitler, demir, çinko ve selenyum gibi mineraller ile B grubu vitaminlere sahip olması yönüyle insanların normal gelişimi bakımından diyetle bulunması gereken önemli bir gıda maddesidir. Türkiye’de 2013 yılı toplam kırmızı et üretiminin 996 125 ton olduğu ve bunun da 869 292 tonunun sığır, 102 943 tonunun ise koyun eti olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2019).

Et yüksek su içeriği ve kimyasal bileşimi nedeniyle hızlı bozulabilir gıdalardan biri olarak kabul edilir. Ette meydana gelen bozulma, etin teknolojik kalitesine ve duyuşal özelliklerine zarar veren değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Ette mikrobiyal bozulma kokuşma, renk değişimi ve slime (müköz tabaka) oluşumuyla karakterizedir (Ercolini ve ark., 2006). Et mikrobiyolojisi konusundaki bilimsel araştırmalar, büyük ölçüde etin uzun mesafelere (örneğin Avustralya'dan İngiltere'ye) gönderilmeye başlanmasıyla ve 1950' lerde süpermarketlerin çoğalması ile artmıştır. Aynı zamanda 21. yüzyılın başlarında teknolojik ilerlemenin ve tüketici yaşam tarzlarının değişmesi ile gıda endüstrisinin pazar taleplerine cevap vermesi beklenmektedir (Nychas ve ark., 2008). Bu nedenle taze et ve bazı et ürünlerinin çeşitli yöntemler ile muhafaza süresinin uzatılması zorunlu hale gelmiştir (Dinçer, 1997; Öztan, 2003).

Etin muhafaza süresinin arttırılması için çeşitli temel işlemlerden faydalanılarak ette bozulmaya neden olan mikroorganizmaların öldürülmesi, üremelerinin

durdurulması veya engellenmesi, etin farklı etmenlerle dış faktörlerden korunması ve et enzimlerinin inaktif hale getirilmesi amaçlanmaktadır. Et ve et ürünlerinin dayanıklılığının arttırılmasında temel işlemler olarak fiziksel ve kimyasal yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerden sadece bir tanesi kullanıldığı gibi, aynı türde birkaçı birlikte veya iki türde birden fazla yöntem bir arada veya ardışık kullanılmaktadır (Dinçer, 1997; Öztan, 2003). Günümüz şartlarında etlerin muhafazasında soğutma tekniği yaygın olarak kullanılan tekniklerdendir. Soğukta muhafaza ile birlikte farklı ambalajlama tekniklerinin kullanılması da gıdaların daha uzun süre muhafazasında etkili olmaktadır. Et ve et ürünlerinin ambalajlanmasında kullanılan bu yöntemler vakum paketlenme, modifiye atmosferde paketlenme (MAP), sous-vide paketlenme, aktif paketlenme ve akıllı paketlenme olarak özetlenebilir (Hecer, 2012).

Soğukta muhafaza ile mikroorganizmaların lag fazı (üreme fazı) süresi ve enzimatik etkileri yavaşlatılarak muhafaza süresi uzatılır. Fakat soğukta muhafaza edilen etlerde, bazı mikroorganizmaların üremeleriyle birlikte enzimatik ve enzimatik olmayan değişiklikler devam ettiğinden, belirli süre sonrası bozulma kaçınılmazdır (Özdemir, 2015; Dave ve Ghaly, 2011). Bununla birlikte vakumla paketlenen et ve et ürünleri uygun koşullarda muhafaza edildiğinde, vakumla paketlenmenin mikrobiyel floranın gelişimi üzerinde selektif yönde etkisi ortaya çıkmaktadır. Vakumla paketlenmiş etlerde, esas florayı laktik asit bakterilerinin (LAB) oluşturduğu bilinmektedir. Muhafaza süresince aerob bozulma etkeni *Pseudomonas spp.*'nin üremelerinin baskılandığı, buna ilaveten *B. thermosphacta* ile *Enterobacteriaceae spp.*'nin, düşük pH-değerlerinden daha az etkilenmelerine rağmen, LAB'ne karşı rekabet yeteneklerinin az olduğu halde florada bulundukları bildirilmektedir (Gill, 1996).

Vakum paketlenme, etin düşük oksijen geçirgenliğine sahip bir ambalaj malzemesi ile vakumlanması işlemidir. Bu işlem sonrası etin yüzeyinde kalan az miktardaki oksijen, etin solunum aktivitesi ile hızla karbondioksite dönüşür. Böylece *Pseudomonas spp.* gibi aerob mikroorganizmaların gelişimi baskılanırken, diğer taraftan da florada yavaş gelişen mikroaerofilik ve fakültatif anaerob bakteriler

hakim olmaya başlar. Vakum paketlenme ile etlerin raf ömrü büyük ölçüde uzatılabilir, belirli bir süre sonunda bozulma kaçınılmazdır. Bozulma ise kötü koku oluşumu ve renk değişimi olarak gözlemlenir (Mills ve ark., 2014).

1.1. Soğukta Muhafaza Edilen Etlerde Mikroflorayı Etkileyen Faktörler

Bozulmaların oluşumu et ekosisteminin iç ve dış faktörlerine (pH-değeri, başlangıç mikroorganizma yükü, parçalanma derecesi, dağıtım ve muhafaza sıcaklığı, muhafaza süresi, oksijenle teması gibi etkenlere) bağlı olarak değişkenlik gösterir (Jääskeläinen ve ark., 2016 ; Sade ve ark., 2017).

1.1.1. pH-Değeri

Mikroorganizmaların üremesi üzerine etkili en önemli iç faktörlerden biri olan pH-değeri, kısaca hidrojen iyonları (H^+) aktivitesinin negatif logaritması olarak tanımlanır. Mikroorganizmalar gıdanın pH-değerinden etkilenirken, aynı zamanda gıdanın pH-değerini de değiştirirler. Bugün gıdalar sahip oldukları pH-değerlerine göre alkali ($pH > 7,0$), nötr ($pH 7,0-6,5$), zayıf asidik ($pH 6,5-5,3$), orta düzeyde asidik ($pH 5,3-4,5$), asidik ($pH 4,5-3,7$) ve kuvvetli asidik ($pH < 3,7$) olarak sınıflandırılırlar (Krämer, 1997). Mikroorganizmalar optimal, minimum ve maksimum üreme gösterdikleri pH-değerlerine sahiptirler. Kesim sonrası kasaplık hayvan karkaslarında ölçülen pH-değerleri önemli olup, etin dayanma süresi ve kalitesi bakımından önemli fikirler vermektedir.

Rigor mortis oluşum şekillerine göre normal rigor ve abnormal rigor olarak adlandırılmaktadır. Genetik olarak strese dayanıklı, kesim öncesi yeterli miktarda rezerv glikojen içeren kasaplık hayvanlarda, 6-8 saat içerisinde pH-değeri yaklaşık 5,4-5,6 değerlerine kadar düşerek, normal rigor şekillenmiş olur (Özdemir, 2015). Normal rigorun dışında hem sığırlarda hem de domuz karkaslarında, PSE (Pale, Soft,

Exudative= Soluk, Yumuşak, Sulu) ve DFD (Dark, Firm, Dry= Koyu, Sert, Kuru) et olarak da bilinen, abnormal rigor mortis olayları da oluşabilmektedir (Özdemir, 2015). Bozulma sürecinin hızı kesimden önce hayvanın durumuna bağlıdır. Yorgun ya da hasta hayvandan elde edilen etlerde bozulma daha hızlı olur ve çok kısa sürede etin iç yüzeyine ulaşır (Gracey ve ark., 1999). Glikoz içermeyen ve DFD et oluşumu için gerekli koşullara sahip etlerde, ortamda karbonhidrat bulunmadığı için, mikroorganizmalar aminoasitleri kısa sürede yıkımlamaya başlar ve bozulma olayları normal pH-değerli etlerden daha hızlı gelişir (Gracey ve ark., 1999; Lawrie ve Ledward 2006). Bu tip etlerde mikroorganizma sayısının 10^6 kob/cm² düzeyine ulaşması ile bozulma olayları başlar (Özdemir, 2015). DFD etlerde *Morexella* ve *Acinetobacter*, öncelikli olarak aminoasitleri parçalayarak kötü kokulu bileşikler meydana getirmektedirler (Ray ve Bhunia, 2008). *Shewanella putrefaciens*, düşük sıcaklıklarda muhafazada, ürünün pH değeri 6'nın altında ise gelişemez. Bu nedenle DFD etlerde bozulma etkeni olduğu bildirilmiştir. Bozulma etkisi, ürettiği H₂S' nin renk pigmenti miyoglobinin ile reaksiyona girerek yeşil renk oluşumu ve kötü koku oluşumu şeklindedir (James ve James, 2002).

1.1.2. Su Aktivitesi

Mikroorganizmaların üremesi üzerine etki eden önemli iç faktörlerden birisi de su aktivite (a_w) değeridir. Mikroorganizmalar üreyebilmek ve metabolik aktivitelerini devam ettirebilmek için suya ihtiyaç duyarlar. Genelde gıdada bulunan su bağlı ve serbest su olarak bulunmakta olup, mikroorganizmalar serbest suyu kullanabilirler (Krämer, 1997). Mikroorganizmalar pH-değerinde olduğu gibi minimal, optimal ve maksimum üreyebildikleri su aktivite değerine sahiptirler. Saf suyun a_w değeri 1,0 olarak kabul edilir ve diğer tüm gıdaların a_w değeri ise 0,0-0,99 arasında bir değer taşırlar. Ette ortalama % 75 oranında su bulunur. Bu nedenle taze etler, yüksek su içeriği nedeniyle yüksek su aktivite (>0,99) değerine sahiptirler. Yine taze etler mikroorganizma gelişimi için optimum pH-değerine (5,5-6,5) ve gerekli enerji kaynaklarına sahip olması (glikoz, amino asitler ve nükleotidler, vitaminler,

mineraller) nedeniyle oldukça çeşitli tür veya tipte mikroorganizmaların gelişip üreyebilmeleri için uygun ortam oluşturlar (Pothakos ve ark., 2015).

1.1.3. Etin Başlangıçtaki Mikroorganizma Yüğü

Kesim sonrası elde edilen etlerdeki başlangıç mikrobiyal kontaminasyon düzeyi etlerin dayanma süresini etkileyen önemli etkenlerin başında gelir. Genelde hijyenik koşullarda kesilmiş sığır karkaslarında toplam aerobik mezofil bakteri yükü 10^3 - 10^5 kob/cm² arasındadır. Koliform bakteriler ile psikotrof mikroorganizmalar ise 10 - 10^2 kob/cm²'yi geçmemektedir. Genel olarak sağlıklı bir hayvanın kas dokusu steril olarak kabul edilmektedir. İnsan tüketimine sunulan kasaplık etler üretim sırasında uygulanan hijyenik koşullara bağlı olarak, belirli düzeyde mikroorganizma ile kontamine olmaktadır (Özdemir, 2015). Kesim esnasında özellikle derinin yüzülmesi ve iç organların çıkartılması aşamalarında karkasa çok sayıda mikroorganizma bulaşmaktadır. Ayrıca deri, kıl, yem, su, toz, hava ve dışkı, kesim aletleri, taşıma arabaları, personel, konveyör bant, kıyma makinesi, et dilimleyici gibi temizlenmesi zor olan ekipmanlar, hava, çalışanların elleri ve elbiseleri, mikroorganizmaların karkasa bulaşmasında önemli kaynaklardır (Ray, 1997). Bulaşan bu mikroorganizmalar, uygun şartlar altında çoğalarak ette bozulmaya neden olduğu gibi halk sağlığını da ciddi boyutlarda tehdit ederler.

Etin en önemli kontaminasyon kaynağını kesim işlemlerinden özellikle iç organ çıkarma aşaması oluşturur. Genelde bu sırada oluşan kontaminasyonlara bağlı olarak karkaslar *Clostridium perfringens* ve *Enterobacteriaceae* soyunda yer alan bakterilerle kontamine olurlar (Grace ve ark., 1999). Aynı şekilde, kesim sonrası karkasların nakil işlemleri sırasında karkas yüzeyine mikroorganizma bulaşması meydana gelmektedir. Karkaslar kesim sırasında patojenlerle bulaşmasa bile taşıma esnasında ve perakende satış noktalarında mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır. Özellikle kesim ve nakil sırasında gerekli hijyenik şartlar sağlanmazsa, etler patojen mikroorganizmalar ile kontamine olurlar (Dinçer, 1997).

1.1.4. Etin Parçalanma Derecesi

Etlerin muhafaza süresini etkileyen diğer bir önemli faktörde parçalanma derecesidir. Bu bağlamda aynı karkasdan elde edilen kuşbaşı formdaki etlere oranla, kıyma çekilmiş etlerin daha çabuk bozulmasının nedeni hem kıyma işlemi sırasında etlerin sekonder kontaminasyona maruz kalması hem de et yüzeyinin genişlemiş olması nedeniyle mikroorganizmaların tüm alanlara yayılmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, parçalanmış etler bakterilerin gelişmesi ve çoğalması için elverişli ortama sahiptir. Etin yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar kıymanın hazırlanma aşamalarında tüm ürüne bulaşarak gelişmekte ve ürünün raf ömrünün kısalmasına neden olmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş 1999). Etlerde oluşan kontaminasyonlar, ete uygulanan sekonder işlemlere (elle temas, parçalama vb) bağlı olarak artış gösterirler (Larousse ve Brown 1997).

1.1.5. Muhafaza Sıcaklığı

Mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini etkileyen dış faktörlerden en önemlisi sıcaklık derecesidir. Nitekim mikroorganizmalar sahip oldukları minimum, optimum ve maksimum üreme sıcaklık derecelerine göre Psikrofilik, psikrotrofik, mezofilik ve termofilik olarak 4 gruba ayrılırlar. Psikrofil mikroorganizmalar 5°C' nin altında üreyebilirken, 20°C' nin üzerinde üreyemezler. Psikrotrofik grupta bulunan mikroorganizmalar ise 5°C' nin altında da üreme göstermekte olup, 25-30°C' ler arasında da üreyebilirler. Genellikle soğukta muhafaza edilen etlerin bozulmasında *Pseudomonas spp.* gibi psikrotrofik karakterdeki bakteriler rol oynarlar. Mezofilik karakterde olan mikroorganizmalar ise optimal 35-37°C' lerde üreyebilirler. Genelde gıda patojenlerinin çoğu bu grupta yer alır. Az sayıda mikroorganizma ise termofilik özellikte olup, bunlar 40°C' nin üzerindeki sıcaklık derecelerinde üreyebilirler (Krämer, 1997). Muhafaza sıcaklık derecesinin artışına bağlı olarak, mikroorganizmaların üreme fazı kısalarak mikroorganizma sayısında hızla artış olur. Normal atmosferik koşullarda ve soğuk muhafazada tutulan etlerde

mikroflorayı genelde psikotrofik ve aerob çomak formundaki bakteriler oluşturur. Bu bakteriler *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ve *Psychrobacter* türlerinden oluşmaktadır. Bu bakteri gruplarından *Pseudomonas*' lar önemli olup, mikrofloranın %50-60' ını, hatta %90' ını oluşturabilirler. Bu *Pseudomonas*'lardan 0-2°C' de dahi üreyebilen *Pseudomonas fragi* dominant olarak belirlenmiştir.

1.1.6. Paketleme Tipi

Etlerin değişik tipte ambalaj malzemeleri ile farklı tipte (vakumla paketleme, MAP vb) paketlenmesi ürünün raf ömrünü uzatır. Herşeyden önce bu tip ürünlerin bir materyel ile ambalajlanması ürünün dışardan gelebilecek mikroorganizmalarla temasını engelleyecektir. Diğer taraftan ise ürünün farklı tipte materyal ile paketlenmesi ise direkt olarak mikroflora üzerinde selektif bir etkiye neden olmaktadır. Paketlenmiş taze etlerde, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların dağılımı kullanılan gaz kombinasyonlarına ve vakum materyalinin gaz geçirgenliğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Paketlemede genelde 3 değişik alternatif uygulama bulunmaktadır. Bunlar gaz geçirgenliği bulunan folyo, vakum paketleme ve modifiye atmosfer paketleme teknikleridir. Etlerin paketlenmesinde gaz geçirgenliğine sahip folyoların kullanılması, bozulmaya neden olan etkenlerin üzerinde etkili değildir. Etlerin vakumla paketlenmesine bağlı olarak, vakum materyali içerisinde oksijen konsantrasyonu azalmaktadır. Vakumla paketlenmiş etlerde ortamda oksijen konsantrasyonunun azalmasına karşın, karbondioksit konsantrasyonu artmakta, buna bağlı olarak da bu koşullarda gram pozitif bakterilerden laktik asit bakterilerinin üremesi hızlanmaktadır (Özdemir, 2015).

1.2. Soğukta Muhafaza Edilen Sığır Etlerinde Mikrofloranın Seyri

Mikroorganizmalar üreme sıcaklık derecelerine göre psikrofilik, psikrotrofik, mezofilik ve termofilik olarak 4 grup altında değerlendirilir. Genelde psikrofilik ve psikrotrofik karakterdeki mikroorganizmalar 5°C' nin altındaki sıcaklık derecelerinde üreme faaliyetlerini devam ettirirler. Soğukta muhafaza veya düşük sıcaklık derecelerinde mikroorganizmaların lag-fazı (üreme fazı) ve generasyon zamanları uzatılarak, gıdaların muhafaza süreleri uzatılmış olur. Diğer bir ifadeyle gıdaların muhafaza sıcaklık dereceleri, mikrofloranın seyrini yakından etkiler (Özdemir, 2015). Bu bağlamda, Belles ve ark. (2017), farklı sıcaklıklarda (-1°C ve 4°C) ve farklı ortamlarda muhafaza ettikleri örnekler üzerine yaptıkları çalışmada, -1°C' de VP' li örneklerdeki mikrobiyal gelişimin 4°C' de muhafaza edilen örneklerle göre daha yavaş olduğunu belirtmişlerdir.

Genel olarak sağlıklı ve canlı bir hayvanın kas dokusu steril olarak kabul edilmekle birlikte, kesimden itibaren etler mikroorganizmalarla doğrudan ya da dolaylı olarak çeşitli taşıyıcılarla (kesim aşaması, kesim hijyeni, personel hijyeni vb) kontamine olurlar. Ete bulaşan bu mikroorganizmaların bir kısmı, doğrudan insan sağlığını etkilemeksizin ürünlerin bozulup kokuşmalarına, bir kısmı ise insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olurlar (Dinçer, 1997). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği' ne göre karkaslarda toplam aerob bakteri sayısı ile *Enterobacteriaceae* sayısı üretim hijyen kriterleri olarak belirlenmiştir (Anon, 2011).

Taze etlerin mikroflorasında bulunan ve soğukta üreyebilen mikroorganizmalar etlerin ambalaj tiplerine bağlı olarak değişiklik göstermekte olup, vakum paketsiz olanlarda florada genellikle *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens*, *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus* türleri ile küf ve mayalar bulunur. Buna karşın vakum paketli olanlarda ise vakum materyali ve CO₂ konsantrasyonuna bağlı olarak florada benzer şekilde *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens*, *Lactobacillus* türleri ile *B. thermosphacta*

bulunabilmektedir. Bu mikroorganizmaların yanı sıra mikroflorada patojenik türde olan *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, Enterohemorajik *E. coli* (0157:H7), *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *Clostridium perfringens*’ de bulunabilmektedir (Özdemir, 2015; Ray, 1997; Ray ve Bhunia, 2008).

Soğukta muhafaza edilen etlerde ortaya çıkan bozulmalar mikroorganizmalardan ileri gelmekte olup, ette oluşan bu bozulmalar kendini et yüzeyinde yapışkan nitelikte salgı oluşumu, renk değişikliği ve arzu edilmeyen aroma bileşenlerinin oluşumu şeklinde gösterir (Özdemir, 2015). Etlerde görülen bu bozulmalar öncelikle et yüzeyinde üreyen aerob özellikteki *Pseudomonas*, *Achromobacter* ve bazı koliform bakterilerden ileri gelir. Bu mikroorganizmalar ortamdaki oksijeni tüketerek anaerobik bakterilerin (*Clostridium sporogenes* gibi) gelişimi için uygun ortamı sağlarlar (Grace ve ark., 1999). Etin florasında çok sayıda mikroorganizma bulunmasına rağmen sıcaklık, muhafaza süresi, atmosfer gibi faktörlerin etkisiyle ağırlıklı olarak birkaç tür bozulmaya neden olmaktadır (Casaburi ve ark., 2015). Ette meydana gelen bozulmalar mikroorganizmaların faaliyetlerinden, enzimatik reaksiyonlar ile yağların oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Ette bulunan enzimler iki yolla aktivitelerini göstermekte olup, bu aktivitelerden ilki substratları parçalayan katabolik enzimler, ikincisi anabolik enzimlerdir (Dave ve Ghaly, 2011). Yine *Enterobacteriaceae* soyunda bulunan *Serratia*, *Enterobacter*, *Proteus* ve *Hafnia* türleri de soğukta muhafaza edilen etlerin florasında yer alarak et bozulmasına katkıda bulunurlar. Aynı şekilde laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus*, *Carnobacterium* ve *Leuconostoc* türleri de florada bulunup soğukta muhafaza edilen etlerde bozulmaya yol açarlar (Ercolini ve ark., 2006).

Aerob koşullarda muhafaza şartlarında, bozulmadan sorumlu birçok mikroorganizma kıyaslandığında *Pseudomonas* türlerinin et yüzeyine daha hızlı bağlandığı görülmektedir. Perakende satılan etlerde, *Pseudomonas* spp. hızla gelişerek önce glikoz ve glukoz 6 fosfatı kullanırlar. Glukoz Entner-Doudoroff yolu ile hızlı bir şekilde 2-okso-glukonat veya glukonata dönüştürülür. Bu katabolik

ürünler çoğu zaman etleri bozucu bakteriler tarafından kolayca asimile edilemez. Bu durum *Pseudomonas spp.* lerinin rekabet gücünü arttırır (Grace ve ark., 1999). Daha sonra, aminoasitleri kullanır. Aminoasit metabolizması sonucu, kötü kokulu metil sülfid ester ve asitler oluşmaktadır (Ray ve Bhunia 2008). *Pseudomonas*'ların belirli serotipleri -7°C' nin altında üreyebilirler (Özdemir, 2015). Bazı *Pseudomonas* türleri aerobik koşullarda dominant florayı oluşturur, glikoz ve amino asit yıkım yeteneklerinden dolayı düşük sıcaklıklarda dahi bozulmaya aktif olarak katkıda bulunurlar (Ercolini ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda, *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. gessardii*, *P. lundensis* türleri genellikle bozulmuş gıdalardan izole edilmiştir (Doulgeraki ve ark., 2012). Nychas ve ark. (2008), soğukta muhafaza edilen etler üzerine yaptıkları çalışmada ise bu türler arasında *P. fragi*' nin aerob koşullarda muhafaza edilen etlerde bozulmadan birinci derecede sorumlu olduğunu tespit etmişlerdir. *Pseudomonas* türleri, gıda kalitesini ve tüketici tarafından ürünün kabul edilebilirliğini tehlikeye atan, slime ve kötü koku oluşumundan sorumludurlar. Farklı *Pseudomonas* türleri ve biyotipleri, yüzeylerin ve aletlerin rutin temizlenmesine ve biyofilm oluşumu yeteneğine karşı direnç ile karakterize edilirler. Bu özellikler, onları gıda işleme ortamında dirençli hale getirmek için ideal adaylar haline getirir (Stellato ve ark., 2017). Garcia-Lopez ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada MAP' li ve 5°C' de muhafaza edilen örneklerde *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* türlerinin gelişiminin VP' li örneklerle oranla daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Benzer şekilde *B. thermosphacta*'da etlerde sıklıkla görülen bozulma etkenlerinden olup, tuza ve düşük pH-değerlerine toleransı, kuvvetli lipaz aktivitesine sahip olması, düşük sıcaklıklarda gelişme yeteneği ve organoleptik olarak hoş olmayan bileşikler üretebilmesi nedeniyle et ve et ürünleri teknolojisinde önemlidir. Nychas ve ark. (1991), *B. thermosphacta*' nın sığır etlerinin mikroflorasında *Pseudomonas spp.*' lerinden sonra sıklıkla bulunduğunu bildirmişlerdir. *B. thermosphacta* aerobik, anaerobik ve MAP ile paketlenmiş etlerde üreyerek dominant bozulma etkeni olabilir. Genelde aerob koşullarda muhafaza edilen etlerde, bozulma etmeni büyük ölçüde *Pseudomonas spp.* olsada, *B. thermosphacta*' da ürünün raf ömrünün ksalmasında önemli bir rol oynar

(Stanborough ve ark., 2016). Nitekim Russo ve ark. (2006), *B. thermosphacta*'nın aerob koşullarda muhafaza edilen etlerde daha hızlı geliştiğini belirtmişlerdir. *B. thermosphacta* glikozdan L-laktat oluşturur ve şekerleri değişik metabolik yollardan parçalayabilir. Etken, fazla glikojen ve oksijen varlığında heterofermentatif özellik gösterirken, düşük glikoz ve oksijen varlığında homofermentatif özellikte bir bakteri gibi davranır (Blackburn, 2006). *B. thermosphacta* proteolitik özellikte olmayan bozulma etkeni olarak kabul edilir ve ette kokuşmaya yol açarak bozulmaya neden olur. *B.thermosphacta* anaerobik koşullar veya oksijen sınırlaması altında ise daha küçük miktarlarda format ve asetat ile birlikte, birincil son ürünler olarak laktik asit ve etanol üretir (Russo ve ark., 2006; Stanborough ve ark., 2016). Bir başka araştırmacılar Gribble ve Brightwell (2013) ise yaptıkları çalışmada -1,5°C' nin altındaki sıcaklıklarda muhafaza edilen VP' li koyun etlerinde, *B. thermosphacta*'nın birinci derecede bozulmadan sorumlu olduğunu saptamışlardır.

Laktik asit bakterileri (LAB) etlerin bozulmasının en önemli nedeni değilse de bozulma etkeni olarak kabul edilen mikroorganizmalardır (Nychas ve ark., 2008). Laktik asit bakterileri grubundaki birçok tür için, fermentasyon ürünleri nispeten zararsızdır ve bu nedenle azami sayıya ulaşınca kadar (10^8 kob/cm²) bozulma fark edilmez (Jones, 2004). Laktik asit bakterileri anaerobik koşullar altında dominant olan bozulma etkenleridir ve düşük sıcaklıklarda VP' li ve MAP' li etlerde daha yaygın olarak bulunur (Doulgeraki ve ark., 2012). Laktik asit bakterilerinin çok sayıda cins ve türleri bozulmuş et ve et ürünlerinde tespit edilmiştir. Genelde VP' li ve MAP' li olarak muhafaza edilen etlerde, *Lactobacillus* cinsine ait türler *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus algidus*, *Lactobacillus fuchuensis*, *Lactobacillus oligofermentas* gibi türler olup, bunlar ürünün asitleşmesi ile ilişkili kötü kokulu bileşiklerin oluşturulmasından ve slime oluşumundan sorumludurlar. *Leuconostoc* cinsine ait türler (*Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc mesenteroides*) ise her çeşit paketlenmiş et ürünlerinde, sıklıkla organik asit üretimi (asetik asit gibi), tereyağ aroması oluşumu, slime oluşumu ve yeşil renk oluşumu ile ilişkilendirilirler. *Carnobacterium spp.* de düşük oksijenli atmosferde muhafaza edilen etlerde, bozulma yapabilirler (Pothakos ve ark., 2015). Laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan ve egzopolisakkarit yapısındaki

slime güçlü ve tiksindirici bir kokuya sahiptir (Adams ve Moss, 2000). Laktik asit bakterileri ette ya mutlak heterofermentatif olarak laktik asit, asetik asit, CO₂ ve etanol üretir ya da fakültatif heterofermentatif olarak glukozdan 2 mol laktat üretir. Fakültatif heterofermentatif laktik asit bakterileri, Hegsozları Emb' den-Meyerhof yoluna göre, pentozlar ve diğer bazı substratları ise fosfoketolaz enzim aktivitesine dayalı metabolik yola göre parçalarlar. Sonuçta, laktik asitin yanı sıra tipik olarak asetik asit ve etanol oluştururlar (Casaburi ve ark., 2015).

Etin aerob koşullarda muhafazası sırasında, düşük konsantrasyonda glikoz varlığında laktik asit bakterileri laktat ve pruvat kullanarak asetat oluşturur. Yüksek asetat konsantrasyonu keskin sirke kokusu oluşturarak duyu kaliteyi bozar. Yapılan çalışmalarda *L. sakei*' nin düşük glikoz konsantrasyonlarında arginin kullanabilme yeteneğine sahip olduğu, aynı zamanda çeşitli biyojen aminler ve organik asitler meydana getirdiği tespit edilmiştir (Pothakos ve ark., 2015). Schillinger ve Holzapfel (2003) yaptıkları çalışmada *L. sakei*' nin VP' li etlerde dominant bozulma etkeni olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar ayrıca *L. sakei*' nin H₂S üretimiyle yeşil renk oluşumuna neden olduğunu da bildirmişlerdir.

Leuconostoc spp. gibi heterofermentatif LAB, glikojen, protein ya da yağ asitlerinden enerji almazlar. Fermente şekerleri kullanırlar. Fermentasyon sonucu CO₂ oluşumu nedeniyle paketlerde şişme gözlemlenir. Daha çok marine edilmiş et ürünlerinde bozulmaya neden olurlar. Ancak *L. gelidum*, *L. gasicamitatum* gibi bazı türleri et bozulmasından sorumludurlar (Pothakos ve ark., 2015). Diez ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada *Leuconostoc spp.* ette peynirimsi koku ve slime oluşumuna neden olduğunu belirtmişlerdir. Leisner ve ark. (2007) ile Ercolini ve ark. (2011) yaptığı çalışmalarda muhafaza sırasında *Carnobacteria*' nin 2 türünün (*C. divergens* ve *C. maltaromaticum*) çiğ etlerin mikrobiyotasında önemli düzeyde bulunduklarını ve hem oksijenli ortamda hem de VP' li olarak muhafaza edilen etlerde bozulmaya neden olduklarını bildirmişlerdir.

Soğukta muhafaza edilen etlerin mikroflorasında *Enterobacteriaceae* soyundan *Serratia* spp. ette en çok bulunan türlerdir. Bu türlerden *S. grimesii* ve *S. proteamaculans* normal, VP ve MAP' li etlerde tespit edilmiştir. *S. grimesii* sıklıkla muhafazanın ileriki safhalarında gözlemlenmiştir. Yine *S. liquefaciens* farklı atmosferlerde muhafaza edilmiş etlerde *Enterobacteriaceae*' nin en yaygın üyesi olarak bulunurken, *Hafnia alvei* MAP veya VP' li olarak muhafaza edilen sığır kıymalarında çok sık rastlanmıştır (Doulgeraki ve ark., 2011; Doulgeraki ve ark., 2012).

Enterobacteriaceae üyeleri MAP' li etlerde yaygın olarak görülür, ancak sayıları genellikle laktik asit bakterilerine göre daha düşüktür. *Enterobacteriaceae* familyası patojen bakterileri içerdiğinden, özellikle etin usulüne uygun olarak pişirilmemesi veya işlenmemesi durumunda halk sağlığını tehlikeye atabilir. *Enterobacteriaceae* soyunda yer alan türler öncelikle glikozu kullanırlar. Daha sonra aminoasitleri parçalayarak ette kokuşmaya neden olan amin, amonyak ve merkaptanları üretirler. Amonyak ve aminin üretimi sonucu etin pH-değeri alkaliye dönüşür (Sade ve ark., 2013; Mills ve ark., 2014). Bu bakteri grupları aynı zamanda etin kesim, üretim, nakliye ve satış sırasındaki hijyenik durumu hakkında bilgi vermesi bakımından da önemlidir (James ve James, 2002).

Diğer taraftan, VP' li etlerde psikrotrofik özellikteki bazı *Clostridium* spp. mikroflorada bulunarak bozulmaya neden olurlar. Bozulma ette kötü koku oluşumu, yapışkan sıvı birikimi, etin tekstür kaybı şeklinde gözlemlenir. *Clostridium* spp. nispeten yavaş büyür ve bozulma tipik olarak 4-6 hafta sonra, soğutulmuş etler içinde gerçekleşir. Bozulma gaz üretimi ile veya gaz üretimi olmadan etin üzerinde metalik bir parlaklık ve koku (H_2S) ile karakterizedir. *Clostridium algidicarnis*, *Clostridium frigidicarnis*, *Clostridium bowmanii*, *Clostridium frigidicarnis* ve *Clostridium ruminantium* gaz üretimi olmaksızın bozulma ile ilişkilendirilmiştir (Cavill ve ark., 2011). *Clostridium estertheticum* ve *Clostridium gasigenes* gibi diğer türler de büyük miktarlarda gaz üretirler. *Clostridium estertheticum*, et endüstrisi için önemli finansal kayıplara neden olur. Ette gelişimleri esnasında glikoz kullanırlar. Ortamdaki glikoz tükendiğinde gelişimleri durur, ancak organizma laktik asit fermentasyonu ile gaz

üretmeye devam ederek paketlerin şişmesine neden olur. Bu nedenle, bu tür bir bozulma genellikle “şişmiş paket bozulması” olarak adlandırılır (Moschonas ve ark., 2010; Yang ve ark., 2011). Bazı *Clostridium* ve *Enterococcus*’ lar sığır karkaslarında kemiğe yakın yerde *bone sore* veya *bone taint* denilen kemik kokuşmasına neden olmaktadır (Ray ve Bhunia, 2008).

Bozulmaya neden olan mikroorganizmaların ilk başta kullanmayı tercih edecekleri bileşen glikozdur. Özellikle aerobik koşullarda, bozulmanın en önemli etkenlerinden biri olan *Pseudomonas spp.* diğer mikroorganizmalara oranla glikozu daha iyi kullanabilmektedir. *Pseudomonas spp.* tarafından glikoz glukonatlara çevrilmektedir. Bunlar sadece *Pseudomonas spp.* tarafından enerji rezervi olarak kullanılacağından avantaj sağlamaktadır. Böylece daha hızlı çoğalabilmekte ve baskın hale geçebilmektedir. İkinci olarak aerobik ve anaerobik koşullarda tercih edilen karbonhidrat laktatdır. Bozulma oranı ve türü, glikoz, laktik asit, azotlu bileşikler ve et içinde mevcut olan serbest amino asitler gibi organik maddelerin konsantrasyonuna bağlıdır. Mikrobiyal türlere ve bunların oksijen duyarlılığına bağlı olarak farklı yan ürünler üretmek için bu organik maddeler sırayla parçalanırlar. Son ürün olarak organik asitler, uçucu yağ asitleri, etil esterler, kükürt bileşikleri, ketonlar, aldehytler, alkoller, amonyak gibi molekülleri sayabiliriz. Bütün bu moleküller, hem taze hem de pişmiş etin duysal kalitesini etkilemektedir. Koku eşiklerine, uçucu maddeler ve uçucu olmayan bileşikler arasındaki sinerjik ve maskeleye etkilerine bağlı olarak etleri bozacak kötü kokulara neden olurlar (Casaburi ve ark., 2015).

Genel olarak en son tercih edilen bileşen aminoasitlerdir. Karbonhidrat yokluğunda mikroorganizmalar amino asitlere saldırıp, kötü koku ve renk değişimine neden olan erken bozulmayı meydana getirebilirler. Bakterilerin metabolizmaları sonucu çeşitli metabolitler oluşur. Alkoller, aldehytler, ketonlar, esterler, hidrokarbonlar, aromatik hidrokarbonlar gibi. Genellikle etin bileşenleri sırasıyla metabolize edilir. Bozulmanın ilk göstergesi tereyağ ve peynirimsi kokudur (2,3-butandiol, asetoin, metilbutanol, 2-metilpropanol). Bu bileşikler *Enterobacteriaceae* üyeleri, *laktik asit bakterileri* ve *B. thermosphacta*’nın faaliyetleri sonucu

oluşturulur. Daha sonra *Pseudomonas spp.* ette 6nemini artırmaya başlar ve ette tatlı ya da meyveli bir koku g6zlemlenir. Bunun nedeni, *Pseudomonas spp.*' nin glikoz ve amino asitleri parçalaması sonucu oluşan asit ve alkollerin esterleştirilmesidir. Ester 6retimi 6zellikle glikozdan asetik, butanoik ve hegzanoik asitlerin etil esterlerini 6retebilen *P. fragi* ile ilişkilidir (Adams ve Moss, 2000). S6lf6rl6 bileşikler genellikle s6lf6rl6 amino asit katabolizmasından kaynaklanır. Bazı metil ketonlar lipolitik yolla 6retilse de farklı birçok 6retim yolu vardır. *Pseudomonas* tarafından alkan degradasyonuyla, karbon iskeletinde değişim yapmadan 6retilmesi bu yollardan birine 6rnektir. (Casaburi ve ark., 2015).

Bu alışma, vakumla paketlenerek yaklaşık $2\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de 10 hafta s6reyle muhafaza edilen, sığır *M. longissimus dorsi* kası 6rneklerinde mikrofloranın değişimini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. GEREÇ

Bu çalışmada materyal olarak, mezbahada yeni kesilmiş sığır karkaslarının *M. longissimus dorsi* kaslarına ait örnekler kullanıldı. Bu amaçla alınan örnekler aseptik koşullarda ve soğuk zincirde laboratuvara getirilerek yaklaşık 10x5 cm boyutlarında ve 2 cm kalınlığında olacak şekilde kesilerek, polyamid/polyetilen karışımından yapılmış ambalaj materyali ile (oksijen geçirgenliği 36cm³/m². gün, 25°C' de; su buharı geçirgenliği 3,2 cm³/m².gün, 38°C' de) vakumla paketlenerek, yaklaşık 2±1°C' de 10 hafta süreyle muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. Çalışmada Kullanılan Vakumla Paketlenmiş Örnekler.

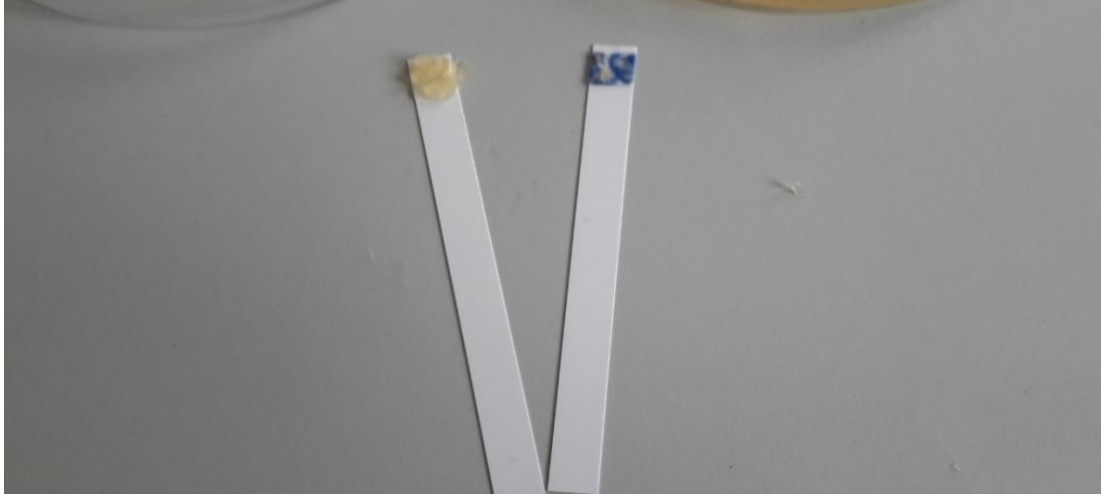
2.2.YÖNTEM

2.2.1. Mikrobiyolojik Analizler

Örneklerde mikrobiyolojik analizler, muhafaza süresinin 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9. ve 10. haftalarında yapıldı. Örneklerde mikrobiyolojik analizler toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, *Brochothrix thermosphacta*, laktik asit bakterileri, enterobakteriler ve sülfid indirgeyen anaeroblar yönünden yapılmıştır. Bu amaçla analiz günleri örneklerden 10 g alınarak, üzerine 90 ml peptonlu su ilave edilip, stomacherde yaklaşık 2-3 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Daha sonra hazırlanan homojenattan gerekli dilüsyonlar hazırlanarak, bu dilüsyonlardan 0,1 ml alınıp, damla plak yöntemine göre ekimleri yapıldı (Baumgart, 1997).

Toplam Bakteri Sayısının Belirlenmesi: Örneklerde toplam bakteri sayısının belirlenmesi amacıyla, hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml Tryptone Soya Agar'a (Oxoid CM131) ekim yapılarak, plaklar 30°C' de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı (Baumgart, 1997).

***Pseudomonas*'ların Belirlenmesi:** Örneklerde *Pseudomonas*'ların saptanması amacıyla, hazırlanan dilüsyonlardan *Pseudomonas* Agar Base (CFC Agar, Oxoid CM 559, suppl. SR 103) 0,1 ml ekim yapılarak, plaklar 30°C' de 24-48 saat süreyle aerob olarak inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üreyen kolonilere oksidaz testi (Merck, Bactident Oxidase 1.13300) yapıp, oksidaz testi pozitif koloniler *Pseudomonas* olarak değerlendirildi (Baumgart, 1997).



Şekil 2.2. *Pseudomonas* spp.'lerin Tespit Edilmesinde Kullanılan Oksidaz Test.

Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi: Örneklerde laktik asit bakterilerinin belirlenmesi amacıyla MRS Agar (Oxoid CM 361) kullanıldı. Bu amaçla hazırlanan dilüsyonlardan MRS agara 0,1 ml ekim yapılarak, plaklar 37°C' de 48-72 saat süreyle anaerob ortamda (Merck, Anaerocult A) inkübasyona bırakıldı (Yang ve ark. 2016).

***Brochothrix thermosphacta*'nın Belirlenmesi:** Aynı şekilde örneklerde *B. thermosphacta*'nın belirlenmesi amacıyla, hazırlanan dilüsyonlardan Streptomycine Thalliumacetat-Actidion-Agar'a (STAA agar, Oxoid CM 881, suppl. SR 151) 0,1 ml ekilerek, plaklar 25°C' de 48 saat süreyle aerob koşullarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda besi yerinde üreyen koloniler *B. thermosphacta* olarak değerlendirildi (Yang ve ark. 2016).

Enterobakterilerin Belirlenmesi: Bu amaçla, hazırlanan dilüsyonlardan Violet Red Bile Dextrose Agar'a (Oxoid CM 485) 0,1 ml ekim yapılarak, plaklar 37°C' de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası besi yerinde üreyen kırmızı-pembe renkte ve presipitasyon oluşturan koloniler, enterobakteri olarak değerlendirildi (Baumgart, 1997).

Sülfıt İndirgeyen Anaerobların Belirlenmesi: Yine bu amaçla, hazırlanan dilüsyonlardan, 0,1 ml alınarak SPS agara (Merck 10235.500) ekimler yapıp, plaklar 35°C’ de 24-48 saat süreyle anaerob ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası besi yerinde üreyen, siyah renkteki koloniler sülfıt indirgeyen anaerob bakteriler olarak değeriendirildi (Baumgart, 1997).

2.2.2. pH-Değerlerinin Belirlenmesi

Mikrobiyolojik analizlere paralel olarak, aynı zamanda örneklerde pH-değerleri de ölçüldü. Örneklerin pH-değerleri elektronik pH-metre (Mettler Toledo, Inlab 427) ile elektrot örnek içeriisine daldırılarak ölçüldü (Wirth, 1978).

3. BULGULAR

Bu çalışmada, mezbahada yeni kesilmiş sığır karkaslarının *M. longissimus dorsi* kaslarından 10x5 cm boyutlarında ve 2 cm kalınlığında olacak şekilde kesilerek, vakumla paketlenmiş ve yaklaşık $2\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de 10 hafta süreyle muhafaza edilen örneklerde mikrofloranın gelişimi incelenmiştir.

Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda muhafaza süresinin 0. gününde örneklerde toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, laktik asit bakterileri ile *B. thermosphacta* sırasıyla, 4,2; 2,6; 2,3; 3,11 log düzeyinde bulunurken, enterobakteriler ile sülfid indirgeyen anaeroblar ise saptama sınırının (<2.0 log) altında bulunmuştur. Aynı şekilde örneklerde muhafaza süresinin 1. haftasında ise mikroorganizma sayıları toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*' lar, laktik asit bakterileri, *B. thermosphacta*, enterobakteriler ile sülfid indirgeyen anaeroblar için sırasıyla 4,75; 3,5; 2,62; 3,62; $<2,0$; $<2,0$ log düzeyinde saptanmıştır. Örneklerde muhafaza süresince saptanan mikroorganizma düzeyleri Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Muhafaza Süresince Örneklerde Mikrobiyel Değişim ($\log_{10}$ kob/g).

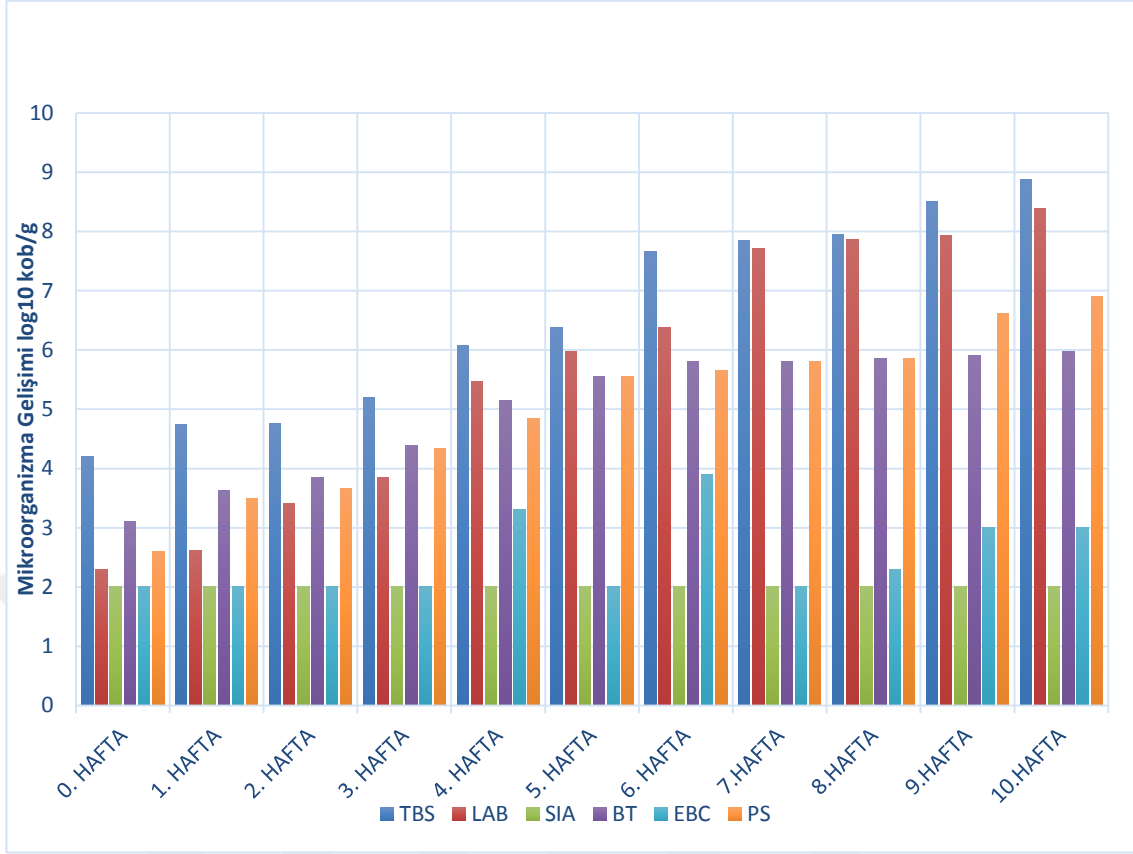
Mikroorganizma	Muhafaza Süresi (Hafta)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Toplam bakteri sayısı	4,2	4,75	4,76	5,2	6,07	6,38	7,66	7,85	7,95	8,5	8,87
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,6	3,5	3,66	4,34	4,84	5,55	5,66	5,8	5,85	6,62	6,9
Laktik asit bakterileri	2,3	2,62	3,41	3,85	5,47	5,97	6,38	7,72	7,87	7,93	8,38
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	3,11	3,62	3,85	4,38	5,14	5,55	5,8	5,8	5,85	5,91	5,97
Enterobakteriler	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	3,3	$<2,0$	3,9	$<2,0$	2,3	3,0	3,0
Sülfid indirgeyen anaeroblar	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$	$<2,0$

n=2

Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1' de görüldüğü gibi örneklerde toplam bakteri sayısı muhafaza süresinin 0. gününde 4,2 log düzeyinde bulunmasına karşın, muhafaza süresinin 3. haftasından itibaren artış göstererek 4. ve 5. haftalarda 6 log düzeyine, 6. ve 8. haftalarda ise 7 log düzeyinde belirlenmiştir. Muhafaza süresinin 9. ve 10. haftalarında ise örneklerde toplam bakteri sayısı 8 log düzeyinin üzerinde tespit edilmiştir.

Pseudomonas'lar ise muhafaza süresinin 0. gününde 2,6 log düzeyinde bulunmuştur. Muhafaza süresinin 1. ve 4. haftaları arasında 3,5-4,84 log düzeyinde, muhafaza süresinin 5. ve 8. haftaları arasında 5,55-5,85 log düzeyinde bulunmuş olup, muhafaza süresinin 10. haftasında ise sayıları 6,9 log düzeyine kadar ulaşmıştır. Aynı şekilde bu çalışmada muhafaza süresinin 0. ve 1. haftalarında 2,3-2,62 log düzeyinde tespit edilen laktik asit bakterilerinin sayısı muhafaza süresinin 2. haftasından itibaren artış göstererek 2. ve 5. haftalarda 3,41-5,97 log arasında saptanmış olup, 6. haftadan itibaren ise sayısal olarak artmaya devam ederek, 7. ve 10 haftalar arasında yaklaşık 8,0 log düzeyine ulaşmışlardır. Diğer bir deyişle muhafaza süresinin başlangıcında sayıları düşük düzeyde bulunan laktik asit bakterilerinin sayısı muhafaza süresinin 3. haftasından itibaren artış göstererek, florada hakim düzeye ulaşmışlardır.

Yine bu çalışmada *B. thermosphacta* muhafaza süresinin başlangıcında 3,11 log düzeyinde bulunmuş olup, bu sayı 2. haftanın sonlarına kadar aynı düzeyde kalmıştır. Ancak muhafaza süresinin 3. haftasından itibaren yaklaşık 2 log düzeyinde artış göstererek 4. ve 10. haftalar arasında 5,14-5,97 log arasında seyretmiştir. Bu çalışmada mikrofloranın değişimi kapsamında, araştırılan enterobakteriler ise genelde saptama sınırının (<2.0 log) altında tespit edilmiş olup, muhafaza süresinin 4., 6., ve 8. hafta ile bunu izleyen haftalarda 3,3-3,0 log düzeyinde bulunmuştur. Sülfid indirgeyen anaerobler ise muhafaza süresince saptama sınırının (<2.0 log) altında bulunmuşlardır.



TBS: Toplam Bakteri Sayısı, PS: *Pseudomonas*, LAB: Laktik Asit Bakterileri, BT: *Brochothrix thermosphacta*, EBC: Enterobakteriler, SIA: Sülfid İndirgeyen Anaeroblar.

Şekil 3.1. Vakum Paketli Etlerde Mikrofloranın Gelişimi ($\log_{10}$ kob/g).

Bu çalışmada, mikrobiyolojik analizlere paralel olarak örneklerde pH-değerleri de ölçülmüştür. Yapılan ölçümlerde örneklerde pH-değerlerinin muhafaza süresine bağlı olarak yavaşta olsa düşüş göstererek seyrettiği saptanmıştır. Nitekim yapılan ölçümlerde muhafaza süresinin 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., ve 10. haftalarında pH-değerlerinin sırasıyla 5,78; 5,73; 5,66; 5,56; 5,44; 5,47; 5,43; 5,41; 5,38; 5,42 ve 5,48 düzeyinde bulunduğu belirlenmiştir. Tüm bu bulguların dışında, bu çalışmanın içeriğinde bulunmamakla birlikte örneklerin analiz günleri vakum poşetleri açıldığında, duyuşal ve görsel olarak koku ve renk değişimleri de sübjektif olarak değerlendirilmiş olup, özellikle vakumla paketlenmenin 5. haftasından itibaren koku yönünden değişimlerin başladığı, ayrıca poşet içerisinde toplanan slime benzeri sıvının renginin de hafif yeşilimsi renge dönüşmeye başladığı gözlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *M. longissimus dorsi* kaslarından 10x5 cm boyutlarında ve 2 cm kalınlığında olacak şekilde hazırlanan örnekler, vakumla paketlenerek $2\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de muhafaza edilmiş ve örnekler 10 hafta süreyle muhafaza edilerek, mikrofloranın seyri araştırılmıştır. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucu, muhafaza süresine bağlı olarak toplam bakteri sayısının arttığı tespit edilmiştir. Nitekim muhafaza süresinin 0. gününde 4,2 log düzeyinde bulunan toplam bakteri sayıları 1.ve 3. haftalar arasında 4,75-5,2 log düzeyinde bulunurken, sayısal olarak artmaya devam ederek 4. haftada 6,07 log, 10. haftada ise 8,87 log düzeyine kadar yükselmiştir.

Benzer konuda çalışan araştırmacılardan Rodriguez ve ark. (2000) sığır *M. longissimus dorsi* kaslarından oluşan ve vakumla paketlenmiş ($16\text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{ h/atm}$) örnekleri $1,15^{\circ}\text{C}$ ' de $\pm 0,78$ muhafaza ederek, muhafaza sürelerinin 30., 60. ve 90. günlerinde toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, laktobasiller, *B. thermosphacta* ve enterobakteriler yönünden mikrobiyolojik yönden analiz yapmışlardır. Araştırmacılar muhafaza süresince toplam bakteri sayılarının başlangıçta 2,58 log düzeyinde iken sayılarının muhafaza süresince sırasıyla 6,17; 6, 10 ve 6,98 log düzeyine ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı örneklerde *Pseudomona spp.*' lerinin ise başlangıçta 1,92 log düzeyinde bulunmakla birlikte, muhafaza süresine bağlı olarak sırasıyla 4,46; 5,19 ve 4, 29 log düzeyinde bulunduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacıların toplam bakteri sayıları için belirttiği değerler ile muhafaza süresine bağlı olarak belirlediğimiz değerler arasında (6,07-7,95) genelde uyum bulunmakla birlikte, bunun üzerinde başta kesim hijyeni olmak üzere muhafaza koşulları ve paketlenme materyalinin özellikleri gibi birçok faktör etkili olmaktadır. Aynı çalışmada örneklerde *Pseudomonas* sayıları başlangıçta 1,92 log düzeyinde bulunmasına karşın, muhafaza sürelerinin 30., 60. ve 90. günlerinde ise sırasıyla 4,46; 5,19 ve 4, 29 log düzeyinde bulunmuş olup, bu çalışmada ise 0. günde 2,6 log, 4. haftada 4,84 log ve 8. haftada ise 5,85 log düzeyinde bulunmuş olup, sonuçlar genelde uyumludur. Aynı çalışmada *B. thermosphacta* başlangıçta 1,67 log

düzeyinde iken sayıları muhafaza süresince sırasıyla 2,44; 3,43 ve 1,97 log düzeyinde, laktobasiller ise başlangıçta 1,67 log iken yine muhafaza süresince sırasıyla 5,29; 4,76 ve 5,56 log düzeyinde bulunmuştur. Araştırmacılar aynı zamanda laktobasillerin muhafaza süresinin 30. gününden itibaren mikroflorada dominant olarak bulunduklarını bildirmişlerdir. Bununla benzer olarak, bu çalışmada da yaklaşık muhafaza süresinin 5. haftasından itibaren florada sayısal olarak en fazla laktik asit bakterileri tespit edilmiştir.

Wiegner (1985), yaptığı çalışmada, başlangıç pH-değerleri farklı olan vakum paketlenmiş sığır etlerini $4\pm1^{\circ}\text{C}$ ' de 14 hafta süreyle muhafaza ederek, mikrofloranın seyrini araştırmışlardır. Araştırmacı örneklerde toplam bakteri sayısının muhafaza süresinin 3. haftasından itibaren artarak 7,0-8,0 log düzeyine kadar ulaştığını bildirmiştir. Araştırmacılar laktobasillerin ise muhafaza süresine bağlı olarak sayılarının artarak seyrettiğini ve florada sayısal olarak 6,0-7,0 log düzeyine ulaşarak florada dominant düzeye ulaştıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacıların tespit ettikleri sonuçlar ile bu çalışmanın sonuçları arasında büyük oranda benzerlik bulunmaktadır. Benzer şekilde araştırmacı örneklerde, *Pseudomonas*'lar ile *B. thermosphacta*'nın da sayısal olarak muhafaza süresine bağlı olarak arttığını, ancak floraya hakim olmadıklarını bildirmişlerdir. Ancak araştırmacının çalışmasında tespit ettiği enterobakteriler, sayısal olarak muhafaza süresinin sonunda 4,0-6,0 log düzeyinde saptanmış olup, bu sonuçlar bizim saptadığımız sonuçlardan yüksektir. Bunun da muhtemelen başta hijyenik faktörler olmak üzere, farklılığa neden olabilecek birçok etkenden (etlerin başlangıçtaki mikroorganizma yükü, örneklerin büyüklüğü, vakum materyalinin özelliği, muhafaza sıcaklığı ve örnekleme tekniği vb) kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Aerob muhafaza koşullarında, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların araştırıldığı çalışmalarda, *Pseudomonas* türlerinin et yüzeyine daha kolay tutunduğu belirtilmektedir. Bu çerçevede Ercolini ve ark. (2011), yaptığı farklı çalışmalarda *P. fragi*' nin paketsiz, modifiye atmosfer ve vakumla paketlenmiş örneklerin her 3'ünde de bozulma etkeni olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar ayrıca, farklı paketleme teknikleri kullanarak 4°C 'de muhafaza edilen örneklerden vakumla paketlenmişlerde

muhafaza süresinin 34. gününde *B. thermosphacta*'nın 6,1 log, laktik asit bakterilerinin 6,8 log, *Pseudomonas spp.*'nin 3,84 log düzeyinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Yine Stanbridge ve Davies' de (1998), yaptıkları çalışmalar sonucunda soğukta muhafaza edilen etlerde *P. fragi*'nin önemli bozulma etkeni olduğunu belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada Jääskeläinen ve ark. (2016), 6°C' de muhafaza edilen etlerde laktik asit bakterileri sayılarının hem vakumla paketlenmiş, hem de modifiye atmosferle paketlenmiş örneklerde yüksek düzeye ulaştığını tespit ederek, bunların ette renk değişimi ile kötü kokulu bileşikler ürettiklerini belirtmişlerdir. Lavieri ve Williams (2014) ise yaptıkları çalışma sonucunda, vakumla paketlenmiş etlerde laktik asit bakterilerinin genelde mikrofloraya hakim olduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca vakumla paketlenme işlemi sonucu pakette ortalama % 1 düzeyinde oksijen bulunabileceğini ve bu oksijenin başlangıçta psikrotrofik mikroorganizmaların gelişimini desteklediğini belirtmiş olup, ortamdaki oksijenin tükenmesiyle oluşan karbondioksitin ise daha sonraki zamanda laktik asit bakterilerinin ürenmesini hızlandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmamızda laktik asit bakterileri genelde muhafaza süresinin 4. haftasından itibaren sayısal olarak artış göstererek seyretmiş ve mikrofloraya hakim olmuşlardır. Dolayısıyla bu yönüyle çalışmalar arasında uyum bulunmaktadır.

Bu çalışmada örneklerde pH-değerleri muhafaza süresine bağlı olarak düşüş göstererek seyretmiş olup, muhafaza süresinin 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., ve 10. haftalarında pH-değerleri sırasıyla 5,78; 5,73; 5,66; 5,56; 5,44; 5,47; 5,43; 5,41; 5,38; 5,42 ve 5,48 düzeyinde ölçülmüştür. Benzer konuda çalışan, Rodriguez ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada vakumla paketlenmiş sığır *M. longissimus dorsi* kaslarında pH-değerlerini başlangıçta 5,45 düzeyinde ölçmüşken bu değerlerin muhafaza süresinin 30., 60. ve 90. günlerinde giderek azaldığını ve değerlerin 5,35; 5,26 ve 5,07 düzeyinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir araştırmacı Wiegner (1985), ise yaptığı çalışmada incelediği bazı örneklerde pH-değerlerinin muhafaza süresine bağlı olarak, düşük düzeyde azalarak (5,5-5,2) seyrettiğini, bazı örneklerde ise pH-değerleri arasında önemli düzeyde bir farklılık (6,1-5,9) oluşmadığını

belirtmiştir. Araştırmacıların sonuçlarıyla, bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında genelde sonuçların uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. Yine Özdemir ve Çadırcı (2003), yaptıkları çalışmada, 30 gün süreyle muhafaza edilen vakumla paketlenmiş sığır etlerinde pH-değerlerinin muhafaza süresine bağlı olarak, azalarak seyrettiğini belirtmişlerdir.

Aynı şekilde Lavieri ve Williams'da (2014), vakumla ve modifiye atmosferle paketlenmiş et örneklerinde pH-değerlerinin muhafaza süresine bağlı olarak düşerek seyrettiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar pH-değerindeki bu düşüşün, çözünmüş CO₂ varlığında laktik asit bakterilerinin üremesindeki artıştan kaynaklandığını ayrıca CO₂'in ette kolayca çözünmesine bağlı olarak oluşan karbonik asitinde bunda etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Yang ve ark. (2016), ile Russel ve ark. (1996), çalışmalarında aynı sonuçlara ulaştıklarını bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, soğukta muhafaza edilen vakum paketli sığır etlerinde mikrofloranın gelişimi araştırılmıştır. Değerli bir besin kaynağı olan et, insanlar için hayvansal proteinlerin karşılanmasında ilk tercihi oluşturmaktadır. Et zengin besin içeriğinden dolayı taşıma ve depolama koşullarına bağlı olarak çeşitli bozulmalara maruz kalmaktadır. Et ve et ürünlerinin önemli miktarları tüketici ve perakendeci hatalarından bozulmaktadır. Etin bozulmasında, etin karbonhidrat, protein ve yağ bileşenlerinin parçalanması sonucu kötü koku, slime (müköz yapı) oluşumu ve renk değişimi gözlenir.

Dünya çapında nüfus artışıyla paralel olarak artan gıda arzı nedeniyle etin raf ömrünü uzatmak, besin değerini, tekstürünü ve lezzetini korumak için et bozulmasının engellenmesi önemlidir. Uygun kullanım, ön hazırlık ve koruma teknikleri, et ve et ürünlerinin kalitesini artırabilir ve raf ömrünü uzatabilir. Bu çalışmada, muhaza süresince etlerdeki mikrofloranın değişimi izlenmiş olup, özellikle 4. haftadan itibaren laktik asit bakteri sayılarının mikroflorada sayılarının artarak seyrettiği ve floraya hakim oldukları gözlenmiştir. Vakum paketlemede kullanılan, vakum materyalinin oksijen geçirgenliği mikrofloranın seyrini yakından etkilemekte olup, vakum paketlenmiş etlerde aerob özellikteki *Pseudomonas*'ların gelişimi devam edebilmektedir. Bu çalışmada kullanılan vakum materyali, üretici firmanın bilgileri ışığında oksijen geçirgenliği yönünden, 25°C' de 36cm³/m². gün özelliğine sahipti. Aynı şekilde pH-değerlerinin de muhafaza süresine bağlı olarak düşerek seyretmiş olması önemlidir. Nitekim bu çalışmanın kapsamında örneklerin organoleptik (renk, koku vb) nitelikleri bulunmamakla birlikte, çalışma sırasında özellikle vakum paketler açıldığında koku ve etin renk değişimi izlenmiştir. Gerek muhafaza süresince mikrofloranın seyri, gerekse bu izlenimler bize vakumla paketlenerek 2±1°C' de muhafaza edilen etlerin belirli süre boyunca raf ömrünü koruyabileceğini göstermiştir.

ÖZET

Vakum Paketli Sığır Etlerinde Mikrofloranın Gelişimi

Bu çalışma, soğukta ($2\pm1^{\circ}\text{C}$) muhafaza edilen vakum paketli sığır etlerinde mikrofloranın gelişimini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla sığır *M. longissimus dorsi* kaslarından hazırlanan (10x5 cm boyutlarında ve 2 cm kalınlığında) örnekler materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler muhafaza süresinin 0., 1., 2, 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9. ve 10. haftalarında toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, *Enterobacteriaceae*, laktik asit bakterileri, *Brochotrix thermosphacta* ve sülfid indirgeyen anaeroblar yönünden analiz edilmiştir. Ayrıca örneklerin pH-değerleri de ölçülmüştür.

Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucu örneklerde muhafaza süresinin 0. gününde toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, laktik asit bakterileri, *B. thermosphacta*, enterobakteriler ile sülfid indirgeyen anaeroblar sırasıyla, 4,2; 2,6; 2,3; 3,11; <2,0; <2,0 log düzeyinde bulunurken, muhafaza süresinin 1. haftasında ise sırasıyla 4,75; 3,5; 2,62; 3,62; <2,0; <2,0 log düzeyinde belirlenmiştir. Muhafaza süresinin 4. haftasından itibaren ise mikroorganizma sayılarının artarak, toplam bakteri sayısı, *Pseudomonas*'lar, laktik asit bakterileri, *B. thermosphacta* ile enterobakterilerin sırasıyla 6,07-8,87; 4,84-6,9; 5,47-8,38; 5,14-5,97; 3,3-3,0 log düzeyinde saptanmıştır. Benzer şekilde muhafaza süresinin 4. haftasından itibaren mikrofloraya laktik asit bakterilerinin hakim olmaya başladıkları görülmüştür. Aynı şekilde örneklerde pH-değerleri de muhafaza süresine bağlı olarak düşük düzeyde azalarak seyretmiştir. Yapılan ölçümlerde, muhafaza süresinin 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., ve 10. haftalarında pH-değerleri sırasıyla 5,78; 5,73; 5,66; 5,56; 5,44; 5,47; 5,43; 5,41; 5,38; 5,42 ve 5,48 düzeyinde tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, vakumla paketlenmiş etlerde mikrofloranın muhafaza süresine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ve muhafaza süresinin ilerleyen dönemlerinde floraya laktik asit bakterilerinin hakim olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Mikroflora, sığır eti, vakum paket.

SUMMARY

Development of microflora in vacuum packed beef

This study was carried out to determine the development of microflora in vacuum packaged beef kept in cold (2 ± 1 °C) storage. For this purpose, samples prepared from bovine *M. longissimus dorsi* muscles (10x5 cm in size and 2 cm in thickness) were used as materials. Examples was analyzed include the number of total bacteria count, *Pseudomonas* spp, lactic acid bacteria, *Brochotrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* and sulfide-reducing anaerobes at 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 weeks of storage period. In addition, the pH-values of the samples were measured.

As a result of microbiological analysis, the number of total bacteria count, *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria, *B. thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* and sulfide-reducing anaerobes in the samples on the 0th day of the storage period are found at the level of 4,2; 2,6; 2,3; 3,11; <2,00; <2,00 log, respectively. In the first week of its duration, it was determined at the level of 4,75; 3,5; 2,62; 3,62; <2,00; <2,00 log, respectively. From the 4th week of storage period, the number of microorganisms increased, and it was determined at the level total bacteria count, *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria, *B. thermosphacta* and *Enterobacteriaceae* 6,07 to 8,87; 4,84 to 6,9; 5,47 to 8,38; 5,14 to 5,97; 3,3 to 3,0 log, respectively. Similarly, lactic acid bacteria started to dominate the microflora from the 4th week of storage period. Likewise, pH-values in the samples have decreased with a low level depending on the storage period. In the measurements made, pH-values in the 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9., and 10. weeks of storage period are 5,78; 5,73; 5,66; 5,56; 5,44; 5,47; 5,43; 5,41; 5,38; 5,42 and 5,48 respectively.

As a result, it has been determined that microflora varies depending on the storage time in vacuum packed meats and lactic acid bacteria dominates the flora later in the storage period.

Keywords: Microflora, beef, vacuum package.

KAYNAKLAR

- ADAMS MR, MOSS MO (2000). Food Microbiology, Second Edition, University of Surrey, Guildford, UK.
- ANONİM (2011). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi Gazete Sayı: 28157 (3. Mükerrer).
- ANONİM (2019). Tarım İstatistikleri Özetleri. TÜİK, ANKARA.
- BAUMGART J (1997). Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg.
- BELLES M, ALONSO V, RONCALES P, BELTRAN JA (2017). The Combined Effects Of Superchilling And Packaging On The Shelf Life Of Lamb. *Meat Sci.* **133**:126-132.
- BLACKBURN W (2006). Food Spoilage Microorganisms, Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition, Edited by Clive de W. Blackburn, Cambridge, England.
- CASABURI A, PIOMBINO P, NYCHAS G, VILLANI F, ERCOLINI D (2015). Bacterial Populations and The Volatilome Associated to Meat Spoilage. *Food Microbiol.* **45**, 83-102.
- CAVILL L, RENTERIA AL, CORRY J (2011). Detection of Cold-Tolerant Clostridia Other Than *Clostridium estertheticum* in Raw Vacuum-Packed Chill-Stored Meat. *Food Microbiol.* **28** (5): 957-963.
- DAVE D, GHALY A.E (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques, *American Journal of Agricultural and Biological Science*, **6**, 486-510.
- DIEZ AM, BJORKROTH J, JAIME I, ROVIRA J (2009). Microbial, Sensory and Volatile Changes During the Anaerobic Cold Storage Of Morcilla de Burgos Previously Inoculated with *Weissella viridescens* and *Leuconostoc mesenteroides*. *Int. J. Food Microbiol.* **131** (2-3): 168-177.
- DİNÇER B (1979). Et Bilimi ve Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Teksir.
- DOULGERAKI A, PARAMITHIOTIS S, NYCHAS E (2011). Characterization Of The *Enterobacteriaceae* Community That Developed During Storage Of Minced Beef Under Aerobic or Modified Atmosphere Packaging Conditions. *Int. J. Food Microbiol.* **145**, 77-83
- DOULGERAKI A, ERCOLINI D, VILLANI F, NYCHAS G (2012). Spoilage Microbiota During Distribution, Associated To The Storage Of Raw Meat In Different Conditions. *Int. J Food Microbiol.* **157**: 130-147.

- ERCOLINI D, FERROCINO I, NASI A, NDAGIJIMANA M, VERNOCCHI P, STORIA A, LAGHI L, MAURIELLO G, GUERZONI M, VILLANI F (2011). Monitoring Of Microbial Metabolites and Bacterial Diversity in Beef Stored Under Different Packaging Conditions. *Appl Environ Microbiol*, **77(20)**: 7372–7381.
- ERCOLINI D, RUSSO F, TORROERO E, MASI P, VILLANI F (2006). Changes In The Spoilage-Related Microbiota Of Beef During Refrigerated Storage Under Different Packaging Conditions. *Appl. Environ. Microbiol*, **(72)7**: 4663-4671.
- GARCÍA-LÓPEZ ML., PRIETO M, OTERO A (1998). The Physiological Attributes Of Gram Negative Bacteria Associated With Spoilage of Meat and Meat Products. In: *The Microbiology of Meat and Poultry* (Eds, Davies, A. and Board, R.), Blackie Academic & Professional, London, 1–34.
- GILL C (1996). Extending The Storage Of Raw Chilled Meats, *Meat Sci.***43 (1)**: 99-109.
- GRACEY JF, COLLINS DS, HUEY RJ (1999). Meat Hygiene, Tenth Edition, W.b. Saunders Company LTD, London.
- GRIBBLE A, BRIGHTWELL G (2013). Spoilage Characteristics Of *Brochothrix Thermosphacta* and *Campestris* In Chilled Vacuum Packaged Lamb, and Their Detection and Identification By Real Time PCR. *Meat Sci.* **94 (3)**: 361–368.
- HECER C (2012). Et Teknolojisinde Ambalajlama Yöntemleri, *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.* **31 (1)**:57-61.
- JÄÄSKELÄINEN E, HULTMAN J, PARSHİNTSEV J, RIEKKOLA M, BJORKROTH J (2016). Development Of Spoilage Bacterial Community And Volatile Compounds In Chilled Beef Under Vacuum Or High Oxygen Atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* **223**: 25-32.
- JAMES S, JAMES C (2002). Meat Refrigeration, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- JONES R (2004). Observations On The Succession Dynamics Of Lactic Acid Bacteria Populations In Chill-Stored Vacuum-Packaged Beef. *Int. J. Food Microbiol.* **90**, 273-282.
- KRÄMER J (1997). Lebensmittel – Mikrobiologie. 3. Auflage. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.
- LAROUSSE J and BROWN B.E (1997). Food Canning Technology, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- LAVIERI N, WILLIAMS SK (2014). Effects Of Packaging Systems And Fat Concentrations On Microbiology, Sensory and Physical Properties Of Ground Beef Stored at 4 ± 1 °C for 25 Days. *Meat Sci.* **97 (4)**: 534-541
- LAWRIE RA, LEDWARD DA (2006). Lawrie's Meat Science, Cambridge, England.
- LEISNER J, LAURSEN B, PRÉVOST H, DRIDER D, DALGAARD P (2007). *Carnobacterium*: Positive And Negative Effects In The Environment And In Foods, *Fems Microbiology Reviews* **31**, 592-613.

- MILLS J, DONNISON A, BRIGHTWELL G (2014). Factor Affecting Spoilage And Shelf-Life Of Chilled Vacuum Packed Lamb Transported To Disatant Markets: A review. *Meat Sci.* **98**:71-80.
- MOSCHONAS G, BOLTO, DJ, SHERIDAN JJ, MCDOWEL DA (2010). The Effect Of Storage Temperature And Inoculum Level On The Time Of Onset Of 'Blown Pack' Spoilage. *J. Appl. Microbiol.* ISSN 1364-5072.
- NYCHAS G, ROBINSON A, BOARD R (1991). Microbiological And Physico-Chemical Evaluation Of Ground Beef From Retail Shops. *Food Sci. Technology*, 71:9, p 1057-1059.
- NYCHAS G, SKANDAMIS P, TASSOU C, KOUTSOUMANIS K (2008). Meat Spoilage During Distribution. *Meat Sci.* **78**: 77-89.
- ÖZDEMİR H (2015). Et Hijyeni Ve Muayenesi. Ankara Üni. Vet. Fak. Gıda Hijyeni ve Tek. ABD. Öğrenci Ders Notları.
- ÖZDEMİR H, ÇADIRCI Ö (2003). Vakum Paketli Sığır Etlerinde Laktobasil Türlerinin Dağılımı. Veteriner Hekimler Dergisi. Eylül – Ekim 2003, 41-45.
- ÖZTAN A (2003). Et Bilimi Ve Teknolojisi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- POTHAKOS V, DEVLIEGHERE F, VILLANI F, BJÖRKROTH J, ERCOLINI D (2015). *Lactic Acid Bacteria* And Their Controversial Role In Fresh Meat Spoilage. *Meat Sci.* **109**: 66-74.
- RAY B, BHUNIA A (2008). Fundamental Food Microbiology, CRC Press, Boca Raton.
- RAY B (1997) Fundamental Food Microbiology, CRC Press, Boca Raton.
- RODRIGUEZ HR, MEICHTRI LH, MARGARIA CAI PENSEL NA, RIVI A, MASANA MO (2000). Shelf Life Evaluation Of Refrigerated Vacuum Packed Beef Kept For Extended Storage. 46. ICoMST Argentina. Congress Proceedings Vol. 2, 668-669.
- RUSSEL SM, GLETCHER DL, COX NA (1996). Spoilage Bacteria Of Fresh Broiler Chicken Carcasses. *Poultry Sci*, **75**: 2041-2047.
- RUSSO F, ERCOLINI D, MAURIELLO G, VILLANI F (2006). Behaviour Of *Brochothrix Thermosphacta* In Presence Of Other Meat Spoilage Microbial Groups. *Food Microbiol.* **23**:797-802.
- SADE E, MURROS A, BJORKROTH J (2013). Predominant Enterobacteria On Modified Atmosphere Packaged Meat And Poultry, *Food Microbiol*, **34** (2): 252-257.
- SADE E, PENTTINEN K, BJÖRKROTH J, HULTMAN J (2017). Exploring lot-to-lot Variation In Spoilage Bacterial Communities On Commercial Modified Atmosphere Packaged Beef, *Food Microbiol.* **62**,147-152.
- SCHILLINGER U, HOLZAPFEL WH (2003). Culture Media For Lactic Acid Bacteria. In *Culture Media For Food Microbiology* (Corry, J.E.L, Curtis, G.D.W., and Baird, R.M., eds), pp. 127-140. Amsterdam: Elsevier.

- STANBOROUGH T, FEGAN N, POWEL S, TAMPLİN M, CHANDRY S (2016). Comparative Genomic 1 Study of The Meat Spoilage Organism *Brochothrix thermosphacta*, AEM Accepted Manuscript Posted Online.
- STANBRIDGE LH, DAVIES AR (1998). In The Microbiology Of Meat And Poultry (Eds, Davies, A. and Board, R.), Blackie Academic & Professional, London, 174–219.
- STELLATO G, UTTER D, VOORHIS A, ANGELIS M, EREN M, ERCOLINI D (2017). A Few *Pseudomonas* Oligotypes Dominate In The Meat And Dairy Processing Environment, *Frontiers in Microbiology*. **8**: 264.
- ÜNLÜTÜRK A, TURANTAŞ F (1999). Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı İzmir.
- WIEGNER J (1985). Sensorische Analyse, Microbiologischer Befund und D (-)-Lactat-Konzentration als Parameter zur Frischecharakterisierung von Vakuumverpacktem Rindfleisch. Dissertation. Freien Universität Berlin.
- WIRTH F (1978). pH-Wert und Fleischwarenherstellung. *Fleischwirtsch.* **9**, 1458-1468.
- YANG X, BALAMURUGAN S, GILL CO (2011). Effects On The Development Of Blown Pack Spoilage Of The Initial Numbers Of *Clostridium Estertheticum* Spores And *Leuconostoc Mesenteroides* On Vacuum Packed Beef. *Meat Sci.* **88**, 361–367.
- YANG X, ZHANG Y, ZHU L, HAN M, GAO S, LUO X (2016). Effect Of Packaging Atmospheres On Storage Quality Characteristics Of Heavily Marbled Beef Longissimus Steaks. *Meat Sci.* **117**, 50-56.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Hülya
Soyadı: GÜNDÜZTEPE
Doğum yeri ve tarihi: Trabzon, 1981
Uyruğu: T.C.
Medeni durumu: Evli
İletişim adresi ve telefonu: Turgut Özal Mh. 2139 Sk. Başpınar New Batı
Konutları. B blok. No: 16 Batıkent / ANKARA
0552 513 49 81

II- Eğitimi

19 Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü 2004
Sinop Atatürk Süper Lisesi 1999

III- Ünvanları

Mühendis 2004

IV- Mesleki Deneyimi

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi – Memur – 2019
Özel Sektör – Gıda Mühendisi – 2004-2019

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII- Diğer Bilgiler