

**YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN BAZI PATOJENLERE  
VE ETİN KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

**Tuğba ŞAYIN SERT**

**Doktora Tezi**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**1.Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Fatma ÇOŞKUN**

**2. Danışman: Doç Dr. Sami BULUT**

**2018**

**T.C.**  
**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN BAZI PATOJENLERE VE ETİN KALİTE**  
**ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

**Tuğba ŞAYİN SERT**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**1.Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Fatma ÇOŞKUN**

**2.Danışman : Doç. Dr. Sami BULUT**

**TEKİRDAĞ-2018**

**Her hakkı saklıdır.**

Bu tez NKÜBAP tarafından **00.24.DR.12.04** numaralı proje ile desteklenmiştir.

Dr. Öğretim üyesi Fatma ÇOŞKUN ve Doç Dr. Sami BULUT danışmanlığında, Tuğba Şayin SERT tarafından hazırlanan “YÜKSEK HİDROSTATİK BASINCIN BAZI PATOJENLERE VE ETİN KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ

*İmza :*

Üye : Doç. Dr. Rıfat BİRCAN

*İmza :*

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Aydın ERGE

*İmza :*

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Harun URAN

*İmza :*

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fatma ÇOŞKUN

*İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Doktora Tezi

### YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇIN BAZI PATOJENLERE VE ETİN KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

**Tuğba ŞAYİN SERT**

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

1. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Fatma COŞKUN

2. Danışman : Doç. Dr. Sami BULUT

Bu araştırmada sığır kıymasının taze halde özelliklerini en iyi koruyabileceği düşünülen yüksek hidrostatik basınç (YHB) parametreleri incelenmiş ve bu amaçla, farklı basınç (300-450 MPa) , sıcaklık (-10 ile 20 °C) ve süre (5-15 dk) aralıklarında optimum işlem koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma kapsamında inokule edilmemiş örneklerde basıncın toplam mezofilik aerobik canlı (TMAB) sayısına etkisi araştırıldığı gibi *Escherichia coli* 25922, *Salmonella typhimurium* 14028, *Listeria innocua* 33090 suşları inokule edilmiş örneklerle yapılan çalışmalarla YHB'nin ette bulunabilecek önemli patojenler üzerine olan etkisi de araştırılmıştır. Kalite parametreleri olarak kıyılmış etin renk ve tekstüründe meydana gelen değişiklikler YHB işlemi sonrası ve raf ömrü süresince incelenmiştir. YHB öncesi dondurulan örnekler ile dondurulmadan basınçlanan örnekler karşılaştırmalı olarak çalışılmış ve etin taze özelliklerinde en az değişikliğe neden olan basınçlama parametreleri araştırılmıştır. Ayrıca etin soğutucuda depolanması boyunca inokulasyon yapılmış ve yapılmamış örneklerde mikrobiyal gelişme düzeyleri, renk, tekstürel değişim ile oksidasyon oluşumu değerlendirilmiştir. YHB ile mikrobiyal güvenliği sağlanmış ve renk ile tekstür yapısı korunabilmiş basınçlanmış etlerin pişirme sonrası renk ve duyu değerleri ve tüketici kabul edilebilirliği değerlendirilmiştir. YHB ile en fazla inaktivasyon *L. innocua*'da 450 MPa (10 °C, 10 dk)'da (5,89 log kob/g), *S. typhimurium*'da 450 MPa (10 °C, 5 dk) (5,52 log kob/g) ile tespit edilmiştir. *E. coli* 25922'de ise en yüksek inaktivasyon 300 MPa (-5 °C, 5 dk) (4,10 log kob/g) ve 450 MPa (20 °C, 5 dk) (4,30 log kob/g) ile elde edilmiştir. İnokule edilmemiş örneklerde TMAB'da en fazla inaktivasyon 300 MPa (-5 °C, 15 dk) ile elde edilmiştir. 350-450 MPa (10-20 °C) YHB aralığında dondurulmamış taze et örneklerinde taze ette belirgin renk değişikliği görülmekte olup, 300 Mpa YHB ile özellikle sıfırın altındaki sıcaklıklarda taze et kontrol örneğine yakın elde edilmiştir. Bunun yanında 350 ve 450 Mpa YHB ile basınçlama öncesi dondurulmuş örneklerde belirgin renk farklılığı oluşmamıştır. Sıfırın altında sıcaklıklarda 300 Mpa (-5 °C, 5 dk) YHB ile etin doku profili değişmemekle birlikte 350 ve 450 Mpa'da (10 °C) sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, esneklik değerleri

kontrol örneklerinden (D-, D+) farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Basınçlanmış örnekler yeniden şekillendirildiğinde kontrol örneklerine yakın değerler elde edilmiştir. YHB (350 MPa, 10 °C, 10 dk) işleminden hemen sonra bir oksidasyon oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). Depolamanın 15. gününde maksimum oksidasyon seviyesi dondurulmamış kontrol örneklerinde 2,01, basınçlanmış gruplarda 0,8-1,0 aralığında olup, tüketilebilirlik limitlerini geçmemiştir. Depolamanın 3. gününde basınçlanmış örneklerde toplam renk farklılığı ( $\Delta E$ ) sınır değerlerde tespit edilmiştir. Tekstürel parametreler YHB sonrası artış gösterse de bu artış rakamsal değer olarak düşük bir artış olarak kabul edilebilir olup, depolama boyunca stabil kalmıştır. YHB sonrasında inokule edilmemiş örneklerde 4-4,5 log kob/g inaktivasyon tespit edilmiş olup, basınçlanmış örneklerde TMAB seviyesi 45 gün süresince yasal sınırların altında kalmıştır. Taze ette *Listeria* spp., *Salmonella* spp. ve *E. coli* tespit edilmiş olup 350 MPa YHB sonrasında patojen tespit edilmemiştir. Sadece *E.coli* depolamanın 3. gününde basınçlanmış örneklerde bulunmuştur. Depolama boyunca üç bakteri türü için de kontrol ve basınçlanmış örneklerde seviye, farklı tespit edilmiş ( $P<0,05$ ) olmakla birlikte, depolamanın ilerleyen günlerinde basınçlanmış ette mikroorganizmalar gelişmiştir.. Duyusal değerleri basınçlanmış ve kontrol köfte örneklerinde benzer bulunmuştur ( $P>0,05$ ). Basınçlama öncesinde dondurma ve düşük sıcaklıkta YHB kombine kullanıldığında daha düşük basınçlarda çalışılarak mikrobiyal açıdan güvenli ve etin tazelik özelliklerine yakın tat, renk ve dokuda ürün elde edilebildiği bu çalışma ile belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yüksek hidrostatik basınç, *E. coli* 25922, *S. typhimurium*14028, *L. innocua*, kıyma

**2018, 184 sayfa**

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### THE EFFECT OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON SOME PATHOGENES AND MEAT QUALITY CHARACTERISTICS

**Tuğba ŞAYİN SERT**

Namık Kemal University in Tekirdağ  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

1. Süpervisor: Asistant Prof. Fatma ÇOŞKUN

2. Süpervisor : Associate Prof. Sami BULUT

In this study, high hydrostatic pressure (HHP) parameters, which can protect the fresh characteristics of beef meat, were investigated and optimum process conditions were tried to be determined at 300-450 MPa pressure, -10 to 20 °C temperature and 5-15 minutes interval. Within the scope of the study, the effect of the pressure treatment on TVC counting was investigated and the effect of HPP on important pathogens that could be etched was investigated with studies done with inoculated samples of *Escherichia coli* 25922, *Salmonella typhimurium* 14028, *Listeria innocua* 33090 strains. Changes in color and texture of minced meat as quality parameters, were investigated during HPP treatment and shelf life. Comparisons of frozen samples before HPP and frozen samples were investigated and the pressure treatment parameters which caused the least changes in fresh characteristics of the meat were investigated. In addition, microbial growth levels, color, textural change and oxidation formation were evaluated in inoculated and non-inoculated samples during storage of the meat in the freezer. Microbial safety was achieved with HHP and color and sensory values and consumer acceptability of pressure-treated meat with preserved color and texture were evaluated. The highest inactivation *L. innocua* and *S. typhimurium* 14028 with HHP was 450 MPa (10 °C, 10 min) (5.89 log cfu/g) at 450 MPa (10 °C, 5 min) (5.52 log cfu/g) at *S. typhimurium*. The highest inactivation in *E. coli* 25922 was achieved with 300 MPa (-5 °C, 5 min.) (4,10 log cfu/g) and 450 MPa (20 °C, 5 min) (4,30 log cfu/g). The highest inactivation in TMAB was obtained at 300 MPa (-5 °C, 15 min.) in uninoculated samples. In the unfrozen samples at 350-450 MPa (10-20°C) HPP range, significant color change was observed in fresh meat, characterized by 300 MPa HPP and was obtained close to the control sample in fresh meat at temperatures below zero. However, no significant color difference was observed in frozen samples before pressure treatment with 350 and 450 MPa HHP (P>0.05). Tissue profiles of the meat with 300 MPa (-5 °C, 5 min) HHP at subzero temperatures were not

changed, but at 350 and 450 MPa (10 °C) hardness, chewiness, gumminess, recillence were found different from control samples. When pressure treated samples were reshaped, values close to control samples were obtained. Any oxidation did not occur immediately after HPP (350 MPa, 10 °C, 10 min) ( $P>0.05$ ). The maximum level on the 15 day of storage was 2.01 for unfrozen controlsamples and 0.8-1.0 for pressure treated groups and the oxidation levels did not exceed the consumption limits. In pressure treated samples at the 3day of storage, total color difference ( $\Delta E$ ) was determined at the limit values. When the synthetic parameters increase after HHP, this increase can be regarded as a low increase in numerical value and remain stable during storage. 4-4.5 log cfu/g inactivation was detected in uninoculated samples after HHP and TMAB level in pressure treated samples remained below legal limits during 45 days. *Listeria* spp., *Salmonella* spp. and *E. coli* were detected in fresh meat and no pathogene was detected after 350 MPa HHP. Only *E. coli* was found on HHP treated samples on the 3rd day of storage. During storage, levels of three bacteria species were also different in control and HHP treated samples ( $P<0.05$ ). In the following days of storage microorganisms developed in the pressured meat. Sensory values were found to be similar at pressure treated and control meatballs.in this study it has been determined that low temperature and pressure prior to freezing and HHP combined with lower pressures can be used to obtain microbial safe and fresh products with similar taste, color and texture.

**Keywords :** High Hydrostatic Presurre, Beef Mince, *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 3309

**2018, 184 pages**



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR TARAMASI.....</b>	<b>4</b>
2.1 Geleneksel YHB ile Mikrobiyal İnaktivasyon .....	4
2.2 Düşük ve Sıfır Altındaki Sıcaklıkta YHB ile Mikrobiyal İnaktivasyon .....	5
2.3 Mikrobiyal Yaralanma .....	6
2.4 Etin Rengine YHB'ın Etkisi .....	7
2.5 Etin Tekstürüne YHB'ın Etkisi .....	8
2.6 Dondurulmuş Suspansiyonlarda/Gıdalarda YHB .....	10
2.7 Gıda Bileşenleri Üzerine YHB'ın Etkileri .....	12
2.7.1 YHB'ın su üzerine etkisi .....	12
2.7.1.1 Adyabatik ısıtma (Sıkıştırma ısısı) .....	12
2.7.1.2 YHB'ın faz değişimi üzerine etkileri.....	13
2.7.2 YHB'ın proteinler üzerine etkileri .....	15
2.7.3 YHB'ın lipidler üzerine etkileri (Oksidasyon) .....	17
2.7.4 YHB'ın karbonhidratlar üzerine etkileri .....	19
2.8 YHB Uygulamalarında Kritik İşlem Faktörleri .....	19
2.8.1 Basınç .....	19
2.8.2 Sıcaklık .....	20
2.8.3 İkincil faktörler .....	21
2.9 YHB'ın Mikroorganizmalar Üzerinde İnaktivasyon Mekanizması .....	23
2.9.1 Hücre morfolojisinde oluşan değişimler .....	24
2.9.2 Hücre duvarında meydana gelen değişiklikler .....	24
2.9.3 Biyokimyasal reaksiyonlarda meydana gelen değişiklikler .....	25
2.9.4 Genetik mekanizmada meydana gelen değişiklikler .....	26
2.10 YHB'ın Depolama Sürecinde Mikrobiyal, Fiziksel ve Kalite Özelliklerine Etkisi .....	26
2.11 YHB'ın Etin Duyusal Bileşenlerine Etkisi .....	28

<b>3. MATERYAL METOT .....</b>	<b>30</b>
3.1 Materyal.....	30
3.2 Metot.....	30
3.2.1 Kıyma örneklerini basınçlama işlemine hazırlanması.....	30
3.2.2 İnokulasyon yöntemi ... ..	33
3.2.2.1 Deney test mikroorganizmalarının çoğaltılması .....	33
3.2.2.2 İnokulasyon .....	33
3.2.3 Dondurma ve soğutucuda bekletme işlemi .....	33
3.2.4 Basınçlama .....	34
3.2.4.1 YHB öncesi et örneklerinde tahmini sıcaklık değişimi .....	35
3.2.4.2 Çalışma parametreleri .....	35
3.2.5 Mikrobiyolojik Analizler .....	36
3.2.5.1 Mikroorganizmaların sayımı .....	36
3.2.5.2 İnoküle edilmiş taze kıyma içinde <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> ve <i>L. innocua</i> hücresi olmayan kısmın hesaplanması.....	37
3.2.5.3 Mikrobiyal yaralanma.....	38
3.2.6 Kontrol ve basınçlanmış örneklerin renk analizi.....	39
3.2.7 Kontrol ve basınçlanmış örneklerin tekstür analizi .....	39
3.2.8 Raf ömrü çalışmaları .....	34
3.2.9 Pişirme Kayıpları .....	42
3.2.10 Duyusal analiz .....	42
3.2.11 Elektron mikroskobu ile görüntü alma .....	43
3.2.12 İstatiksel Analiz .....	43
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>44</b>
4.1 Taze Kıyma Örneklerinde TMAB, <i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i> ve <i>E. coli</i> Seviyesi.....	44
4.2 İnokulasyondan Önce ve Sonra Taze Kıyma Örneklerinin Mikrobiyal Yüğü .....	45
4.3 Dondurma İşleminin Kıymanın Mikrobiyal Yüğü Üzerine Etkisi .....	45
4.4 YHB'ın Kıyma Örneklerine İnoküle Edilen Test Mikroorganizmalarına Üzerine Etkisi .	46
4.4.1 YHB'ın <i>L. innocua</i> 33090 üzerine etkileri .....	46
4.4.1.1 Sabit sıcaklık (10 °C) farklı basınç düzeyi ve farklı basınçlama sürelerinde YHB'ın <i>L. innocua</i> 33090 üzerine etkisi .....	46
4.4.1.2 Sabit süre (5 dk) farklı sıcaklıkve basınç düzeylerinde YHB'ın <i>L. innocua</i> 33090 üzerine etkisi .....	50

4.4.2	YHB'nin <i>S. typhimurium</i> 14028 üzerine etkileri.....	55
4.4.2.1	Sabit sıcaklık (10°C) farklı basınç düzeyi ve farklı basınçlama sürelerinde YHB'nin <i>S. typhimurium</i> 14028 üzerine etkisi .....	55
4.4.2.2	Farklı sıcaklık, süre ve farklı basınç düzeylerinde YHB'nin <i>S. typhimurium</i> 14028 üzerine etkisi.....	57
4.4.3	YHB'nin <i>E. coli</i> 25922 üzerine etkileri.....	65
4.4.3.1	Sabit sıcaklık (10°C) farklı basınç düzeyi ve basınçlama sürelerinde YHB'nin <i>E. coli</i> 25922 üzerine etkisi .....	65
4.4.3.2	Farklı sıcaklık ve farklı basınç düzeylerinde YHB'nin <i>E. coli</i> 25922 üzerine etkisi .....	67
4.5	YHB'nin İnokule Edilmeyen Taze Kıyma Örneklerinde TMAB Sayısına Etkisi.....	78
4.6	İnokule edilmemiş örneklerde <i>Listeria</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> , inaktivasyon düzeyi .....	82
4.7	Taze Kıymada Renk Parametreleri Üzerine YHB'nin Etkisi .....	84
4.7.1	Sabit sıcaklıkta (10 °C) farklı basınç ve farklı sürelerde YHB'nin taze kıymanın renk parametrelerine etkisi .....	84
4.7.2	Sabit sürede (5 dk) farklı basınç düzeylerinde YHB'nin taze kıymanın renk parametrelerine etkisi .....	87
4.7.3	Sabit basınç ve sürede sıfırın altında ve üzerindeki sıcaklıklarda YHB'nin taze kıymanın renk parametrelerine etkisi .....	88
4.8	Taze Kıymada Tekstür Parametreleri Üzerine YHB'nin Etkisi .....	96
4.8.1	Farklı sıcaklık, basınç ve farklı sürelerde YHB'nin taze kıymanın tekstür özelliklerine etkisi .....	96
4.8.2	Farklı YHB sürelerinin kıyılmış etin tekstür parametrelerine etkisi .....	99
4.8.3	Taze kıymada YHB uygulaması sonrası yeniden şekillendirmenin tekstürel özelliklere etkisi .....	105
4.9	YHB'nin Taze Kıymanın Raf Ömrüne Etkisi .....	111
4.9.1	pH .....	111
4.9.2	Tiyobarbutirik asit .....	112
4.9.3	L*, a*, b*, ΔE .....	116
4.9.4	Tekstür parametreleri.....	122
4.9.5	Taze kıymada inokulasyon yapılmayan örneklerde YHB'nin depolama boyunca mikrobiyal yüke etkisi.....	127
4.9.5.1	Taze kıymada inokulasyon yapılmayan örneklerde YHB'nin depolama boyunca TMAB sayısına etkisi .....	127

4.9.5.2 Taze kıymada inokulasyon yapılmayan örneklerde YHB'ın depolama boyunca <i>E. coli</i> <i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria spp.</i> varlığına etkisi .....	130
4.9.5.3 Taze kıymada inokulasyon yapılan örneklerde YHB'ın depolama boyunca <i>E. coli</i> 25922/ <i>S. typhimurium</i> 14028/ <i>L. innocua</i> 33090 sayısına etkisi .....	132
4.10 Duyusal Analiz .....	141
4.11 YHB'ın Pişirilmiş Köfte Örneklerinin Renk Parametrelerine Etkisi .....	146
4.12 Pişirme Kayıpları .....	149
4.13 <i>E. coli</i> 25922' de YHB Sonucu Oluşan Yapısal Değişimlerin SEM ile İncelenmesi ....	151
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>155</b>
<b>6. KAYNAKÇA.....</b>	<b>161</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>182</b>
<b>ÖZGEMİŞ .....</b>	<b>184</b>

## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 3.1: Duyusal analiz puanlama tablosu.....	42
Çizelge 4.1: İnokulasyon yapılan ve yapılmayan taze kıyma örneklerinde dondurmanın mikrobiyal yüke etkisi.....	46
Çizelge 4.2: <i>L. innocua</i> 33090 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’deYHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları....	47
Çizelge 4.3: <i>L. innocua</i> 33090 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları.....	50
Çizelge 4.4: <i>S. typhimurium</i> 14028 inokule edilmiş taze kıymada10 °C’deYHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları .....	55
Çizelge 4.5: <i>S. typhimurium</i> 14028 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları.....	56
Çizelge 4.6: <i>S. typhimurium</i> inokule edilmiş taze kıymada 300 MPa YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları.....	58
Çizelge 4.7: <i>E. coli</i> 25922 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’deYHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları.....	65
Çizelge 4.8: <i>E. coli</i> 25922 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları.....	67
Çizelge 4.9: <i>E. coli</i> 25922 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk 300 MPa YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları .....	69
Çizelge 4.10: İnokule edilmemiş taze kıymada 300, 350, 450 MPa, 10 °C, 5 dk, 10 dk, 15 dkYHB ile Toplam Mezofilik Aerobik bakteride elde elde edilen logaritmik azalma sonuçları .....	78
Çizelge 4.11: İnokule edilmemiş taze kıymada 300, 350, 450 MPa (10, 20 °C, 5dk) YHB ile Toplam Mezofilik Aerobik bakteride elde elde edilen logaritmik azalma sonuçları.....	79
Çizelge 4.12: İnokule edilmemiş örneklerde 300 MPa (-5, 0, 10 °C, 5, 10, 15 dk) YHB ile Toplam Mezofilik Aerobik bakteride elde elde edilen logaritmik azalma sonuçları.....	80
Çizelge 4.13: İnokule edilmemiş örneklerde YHB’ın patojen bakteri üzerine etkisi.....	83
Çizelge 4.14: Taze kıymada farklı YHB parametrelerinde elde edilen L*, a*, b*, ΔE sonuçları.....	85

Çizelge 4.15:Taze kıymada farklı basınç parametrelerinde YHB ile elde edilen tekstürel özelliklere ait sonuçlar .....	98
Çizelge 4.16: Taze kıymada farklı YHB parametrelerinde elde edilen tekstürel özelliklerin yeniden işlenmesi ile elde edilen tekstürel özellikler ile karşılaştırılması .....	110
Çizelge 4.17: Basınçlanmış ve kontrol kıyma örneklerinin depolama boyunca pH sonuçları	111
Çizelge 4.18: Basınçlanmış ve kontrol kıyma örneklerinin depolama boyunca TBA sonuçları .....	112
Çizelge 4.19: Basınçlanmış ve kontrol kıyma örneklerinin depolama boyunca $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $\Delta E$ sonuçları .....	116
Çizelge 4.20: Basınçlanmış ve kontrol kıyma örneklerinin depolama boyunca tekstürel özelliklerinin sonuçları .....	122
Çizelge 4.21: İnokule edilmemiş örneklerde depolama boyunca toplam mezofilik aerobik bakteri sayım sonuçlarına YHB'ın etkisi .....	127
Çizelge 4.22: İnokule edilmemiş örneklerde depolama boyunca <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> Varlığına etkisi (var/yok) .....	131
Çizelge 4.23: İnokule edilmiş taze kıymada depolama boyunca <i>E. coli</i> 25922 sayım sonuçları .....	133
Çizelge 4.24: İnokule edilmiş taze kıymada depolama boyunca <i>S. typhimurium</i> 14028 sayım sonuçları .....	135
Çizelge 4.25: İnokule edilmiş taze kıymada depolama boyunca <i>L. innocua</i> 33090 sayım sonuçları .....	137
Çizelge 4.26: Panelist değerlendirme sonuçları .....	142
Çizelge 4.27: Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinin renk parametreleri .....	147

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1 : Su faz diyagramı ve faz geçişlerine YHB uygulamasının etkisi .....	14
Şekil 2.2 : Proteinlerin eliptik faz diyagramında kimyasal gösterimi .....	16
Şekil 2.3 : Lipid oksidasyon reaksiyonları .....	17
Şekil 3.1 : İnokule edilmiş vakum paketlemiş kıyma örneği .....	31
Şekil 3.2 : Deney tasarımı .....	31
Şekil 3.3 : Çalışma planı.....	33
Şekil 3.4 : Paketlenmiş kıyma örnekleri dondurma ve soğutma sıcaklık profili.....	34
Şekil 3.5 :Tipik bir YHB sistemi.....	35
Şekil 3.6 : YHB Çalışma ekipmanı .....	35
Şekil 4.1 : <i>L. innocua</i> inokule edilmiş taze kıyamada 10 °C’de YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları .....	53
Şekil 4.2 : <i>L. innocua</i> 33090 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları.....	54
Şekil 4.3 : <i>S. typhimurium</i> 14028 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’de YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları.....	62
Şekil 4.4 : <i>S. typhimurium</i> 14028 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları.....	63
Şekil 4.5 : <i>S. typhimurium</i> 14028 inokule edilmiş taze kıymada farklı sıcak ve sürelerde YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları .....	64
Şekil 4.6 : <i>E. coli</i> 25922 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’de YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları.....	75
Şekil 4.7 : <i>E. coli</i> 25922 inokule edilen taze kıymada 5 dk YHB ile elde edilen a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları .....	76
Şekil 4.8 : <i>E. coli</i> 25922 inokule edilen taze kıymada 300 MPa YHB ile elde edilen a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları.....	77

Şekil 4.9 : Taze kıymada 10°C'de 300, 350, 450 MPa YHB ile a) L* b) a* c) b* d) ΔE parametrelerinin sonuçları .....	93
Şekil 4.10 : Taze kıymada 300, 350, 450 MPa (10 °C, 20 °C, 5 dk) YHB ile elde edilen a) L* b) a* c) b* d) ΔE parametrelerinin sonuçları.....	94
Şekil 4.11 : Taze kıymada 300, 350, 450 MPa (20, 10, 0, -5, -10 °C, 5 dk) YHB ile elde edilen a) L* b) a* c) b* d) ΔE parametrelerinin sonuçları .....	95
Şekil 4.12 : Taze kıymada 10 °C, 10 dk 350, 450 YHB ile elde edilen a) sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık b) elastikiyet, bağlılık, esneklik sonuçları.....	100
Şekil 4.13 : Taze kıymada 10 °C 450 MPa'da farklı sürelerde YHB ile elde edilen a) sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık b) elastikiyet, bağlılık, esneklik sonuçları .....	101
Şekil 4.14: a) 300MPa (-5 °C, 5 dk) b) 350 MPa (10 °C, 10 dk) c) 450MPa (10 °C, 10 dk) YHB ile elastikiyet,bağlılık ve esneklik özelliklerinin karşılaştırılması .....	110
Şekil 4.15 : Depolamada taze kıymanın pH değerlerine YHB'nin etkisi.....	112
Şekil 4.16 : Depolamada taze kıymanın TBA değerlerine YHB'nin etkisi .....	115
Şekil 4.17 :350 Mpa YHB sonrası et rengi.....	117
Şekil 4.18 : Depolamada taze kıymanın L*,a* b*, ΔE parametrelerine YHB'nin etkisi .....	119
Şekil 4.19 : Depolamada kıymanın tekstür parametrelerine YHB'nin etkisi a) Sertlik b) Sakızimsılık c) Çiğnenebilirlik d) Yapışkanlık e) Elastikiyet f) Bağlılık (iç yapışkanlık) g) Esneklik .....	125
Şekil 4.20 : İnokule edilmemiş örneklerde depolamada TMAB sayısına YHB'nin etkisi .....	128
Şekil 4.21 : İnokule edilmiş örneklerde depolamada a) <i>E. coli</i> 25922 b) <i>S. typhimurium</i> 14028 c) <i>L. innocua</i> 33090 sayısına YHB'nin etkisi .....	139
Şekil 4.22 : İnokule edilmiş taze kıymada depolamada <i>E. coli</i> 25922/ <i>S. typhimurium</i> 14028 / <i>L. innocua</i> 33090 seviyesi .....	140
Şekil 4.23 : İnokule edilmiş basınçlı kıymada depolamada <i>E. coli</i> 25922/ <i>S. typhimurium</i> 14028 / <i>L. innocua</i> 33090 seviyesi .....	140
Şekil 4.24 : Pişmiş köfte örneklerinde duyusal skorlar a) Sertlik b) Acılık c) Koku d) Ekşilik e) Genel kanı f) Sıklık g) Aroma yoğunluğu h) Sululuk ı) Genel lezzet.....	145
Şekil 4.25: a) Çiğ köfte örneklerinde b) pişmiş köfte örneklerinde renk parametreleri c) Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinde ΔE'ye YHB'nin etkisi.....	148
Şekil 4.26 : Pişirme kayıplarına YHB'nin etkisi .....	149
Şekil 4.27 : Basınçlanmış <i>E. coli</i> 25922 hücrelerinin SEM görüntüsü .....	152



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

BD+	:Basınçlama öncesi dondurulmuş basınçlanmış örnek
BD-	:Basınçlama öncesi soğutucuda beklemiş basınçlanmış örnek
BYŞD+	:Dondurulup basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilmiş örnek
BYŞD-	:Soğutucuda bekletildikten sonra basınçlanan ve sonrasında yeniden şekillendirilmiş örnek
KD+	:-21 °C’de 24 saat bekletilmiş kontrol örneği
KD-	:+4 °C’de 24 saat bekletilmiş kontrol örneği
$\Delta E$	:Toplam renk farklılığı
L*	:Beyazlık/parlaklık
a*	:Kırmızılık
b*	:Sarılık
L <sub>0</sub>	:Etin ilk açıklığı (beyazlık)
a <sub>0</sub>	:Etin ilk kırmızılığı
b <sub>0</sub>	:Etin ilk sarılığı
N <sub>A</sub>	:Aşılanmış dana kıymasında basınç işleminden önce gram başına birim oluşturan koloni ( <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>L. innocua</i> hücrelerinin sayısı (kob/g))
N <sub>BA</sub>	:Aşılanmış dana kıymasında basınç işleminden sonra gram başına birim oluşturan koloni ( <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>L. innocua</i> hücrelerinin sayısı kob/g)
N <sub>TMAB</sub>	:Aşılanmış dana kıymasında işleminden önce gram başına birim oluşturan koloni TMAB hücrelerinin sayısı (kob/g)
N <sub>BTMAB</sub>	:Aşılanmış dana kıymasında basınç işleminden sonra gram başına birim oluşturan koloni TMAB hücrelerinin sayısı (kob/g)

## KISALTMALAR

CIE	:CIE Commission Internationale de l'Eclairage
dk	:Dakika
MDA	:Malonaldehit
PAT	:Presurre Asist
PCA	:Plate Count Agar
PSF	:Presurre Shift Freezer
rpm	:Devir/dakika
sa	:Saat
s	:Saniye
SEM	:Taramalı Elektron Mikroskobu
TMAB	:Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TBA	:Tiyobarbitürük Asit
TBX	:Tryptone Bile x- glucuronide
TSB	:Tryptic Soy Broth
YHB	:Yüksek Hidrostatik Basınç

## ÖNSÖZ

Bu araştırmada sığır kıymasının taze halde özelliklerini en iyi koruyabileceği düşünölen yüksek hidrostatik basınç (YHB) parametreleri incelenmiş ve bu amaçla, farklı basınç, sıcaklık ve sürelerde optimum işlem koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma kapsamında inokule edilmemiş örneklerde basıncın toplam mezofilik aerobik canlı (TMAB) sayısına etkisi araştırıldığı gibi YHB'ın ette bulunabilecek önemli patojenler üzerine olan etkisi de araştırılmıştır. Ayrıca kalite parametrelerinde meydana gelen değişiklikler ile mikrobiyal gelişme düzeyleri YHB işlemi sonrası ve raf ömrü süresince incelenmiştir. YHB öncesi dondurulan örnekler ile dondurulmadan basınçlanan örnekler karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Basınçlanmış etlerin pişirme sonrası renk ve duyuusal değerleri ve tüketici kabul edilebilirliği değerlendirilmiştir.

Tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında, yürütölmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. üyesi Fatma ÇOŞKUN'a ve Doç. Dr. Sami BULUT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca deneylerimde kullandığım test mikroorganizmalarının temininde yardımlarından dolayı Edirne Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne ve fiziksel analizlerin gerçekleştirilmesinde desteklerinden dolayı TÖTAGEM yetkililerine teşekkür ederim.

Eylöl 2018

Tuğba ŞAYIN SERT

Gıda Y. Müh

## 1-GİRİŞ

Tüketicilerin gıda güvenilirliği sağlanmış ve tazelik özelliklerini koruyan sağlıklı et ürünlerine talepleri gün geçtikçe artmaktadır. Taze ette bu ihtiyacı güvenlikten ödün vermeden karşılamak için yeni koruma teknolojilerinden yüksek hidrostatik basınç (YHB) prosesi son yıllarda ilgi uyandırmaktadır. YHB, özellikle işlenmiş etlerde başarı ile kullanılan bir gıda muhafaza yöntemi olarak kabul edilmektedir (Demazeau 2009). Bu prosesin ette parazitlerin inaktivasyonu ve mikrobiyoloji yükü azaltmadaki başarısı bilinmektedir. Et endüstrisi tarafından raf ömrünü uzatmak ve yemeye hazır et ürünlerinin güvenliğini artırmak için yeni bir işleme teknolojisi olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır (Marcos ve ark. 2010). Günümüzde YHB birçok ülkede [Japonya, İspanya, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Fransa, Çek Cumhuriyeti vs] yasal olarak kullanılmakta olup YHB uygulanmış gıdalar marketlerdeki yerlerini almış bulunmaktadır. Bu gıdaların yaklaşık üçte birini et ve et ürünleri oluşturmaktadır. YHB uygulanmış et ve et ürünlerini genellikle tüketime hazır etler ve kurutulmuş-tütsülenmiş et ürünleri oluşturmaktadır (Buzrul 2004). Çiğ etler için ise YHB prosesi renk (Carlez ve ark. 1995, Jung ve ark. 2003, Fernández ve ark. 2007, Campus ve ark. 2008), tekstür (Jung ve ark. 2000a,b, Ma ve Ledward 2004, Sun ve Holley 2010), yağ oksidasyonu (Cheah ve Ledward 1996, Ardle ve ark. 2010, Ma ve ark. 2007) üzerinde istenmeyen değişikliklere neden olması sebebiyle endüstriyel bir uygulama olarak uygun kabul edilmemiştir. Bunun aksine Pinggen ve ark. (2016) tarafından YHB ile yeni bir domuz etinden jambon benzeri ürün üretilebileceği ve renk değişikliği ile lipid oksidasyonu gözlenmeden 28 gün depolanabileceği belirtilmiştir. Buna paralel olarak, yazarlar, YHB ile muamele edilen bütün domuz etinin tüketici kabulüyle ilgili daha fazla araştırma yapılmasını önermektedir.

YHB uygulamaları orta ya da yüksek derecede sıcaklık uygulamaları ile kombine edildiğinde gıdaların sterilize edilebilmesi mümkün olup, raf ömrünü uzatma ve dokuyu modifiye etme potansiyeli bulunmaktadır. Ancak sıcaklığa bağlı olarak gıdaların kalite parametrelerinde ve etin tazelik nitelikleri üzerinde YHB'in olumsuz etkileri nedeniyle bu teknoloji daha ziyade, fermente et ürünleri, kurutulmuş veya kürlenmiş etler ile ısıl işlem uygulanmış etlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Oda sıcaklığında yaklaşık 200 MPa'da aktomiyosinin denatüre olması ve miyogloblin denatürasyonu ve/veya yaklaşık 400 MPa'da diğer proteinler ile birlikte çökeltilmesi nedeniyle et pişirilmiş bir görünüş alır. Buna ek olarak, 400 MPa ve üzerindeki basınçlarda et içindeki doymamış yağlar, muhtemelen ette bulunan komplekslerden ve/veya lipid membranındaki değişikliklerden kaynaklanan demirin salınmasına bağlı olarak oksidasyona karşı daha hassas hale gelir. Böylece, mevzuat

izin verse bile, birçok tüketicinin bu eti tüketmesi pek olası değildir (Ma ve Ledward 2013). Buna karşın düşük sıcaklıklarda YHB uygulaması bazı avantajlar doğurmaktadır. Örneğin, düşük sıcaklıklarda bakteriyel inaktivasyonun daha etkin olduğu, değişik çalışmalarda rapor edilmiştir (Yuste ve ark. 1999, Ritz ve ark. 2001, Shen ve ark. 2005, Moussa ve ark. 2007). YHB, tek başına veya en az işlenmiş, katkısız ve mikrobiyolojik olarak güvenli, yüksek kalitede gıdaların üretimi için termal olmayan tekniklerle birlikte kullanılabilir. Düşük ve sıfırın altında sıcaklıklarda YHB'nin taze et benzeri nitelikleri üzerindeki olumsuz etkisini en aza indirebilecek sürecin optimizasyonu için umut verici bir yaklaşımdır. Bu kombine proses ile ilgili detaylı çalışmalar yapılmıştır (Cheftel ve ark. 2002, Le Bail ve ark. 2002, Li ve Sun 2002, Urratia Benet ve ark. 2007). Ancak literatürde dondurulmuş ve dondurulmamış veya çözünmüş etlerde, düşük ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda basınçlandırılmasıyla carpaccio (çiğ sığır etinin çok ince dilimlenmesiyle yapılan, bir İtalyan yemeği) üretim olasılığını araştıran az sayıda araştırma bulunmaktadır (De Alba ve ark. 2012a,b, Realini ve ark. 2011, Szerman ve ark. 2011, Vaudagna ve ark. 2012). Düşük veya sıfırın altındaki sıcaklıklarda dondurulmuş ve dondurulmamış carpaccionun YHB ile mikrobiyal inaktivasyonda bildirilmiş değişikliklere rağmen yukarıdaki çalışmalarda YHB'den önce carpaccionun dondurulmasının renk değişimini azalttığını tespit edilmiştir. Bu araştırmalar mikroorganizmaların inaktivasyonu mekanizmasından örneklerde donmamış örneklerden farklı olduğunu belirtmişlerdir. Bu teknolojinin değişik gıdalara uygulanarak, optimizasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir (Bulut 2014a).

Isıl olmayan bir gıda muhafaza yöntemi olarak, iyonize radyasyon gibi termal olmayan diğer teknolojilere kıyasla YHB'nin yüksek bir tüketici kabulü vardır (Bajovic ve ark. 2012). Buna ek olarak, bu teknolojinin çevre dostu, atıksız olup, üründe minimum değişiklikler meydana getirdiği bildirilmektedir. Basınç, molekülleri birbirine yaklaştırmakta olup etkisi fizikseldir. Basınç, serbest bırakıldıktan sonra su ve lipitlerde tersinir olan faz geçişlerine yol açmaktadır. Kimyasal açıdan bakıldığında YHB, bir ısıl işleme göre daha az etki eder. Çünkü kovalent bağlar kırılmaz, ancak hidrojen bağları ve hidrofobik bağlar geri dönüşümsüz olarak değişebilir (Cheftel 1995). Bununla birlikte YHB, küçük moleküllere etki etmemesi nedeni ile etin lezzeti etkilenmemekte veya minimum etki oluşturmaktadır. Ayrıca et içindeki lipitlerin ve bunların oksidasyon ürünlerinin, hem pişirilmiş et aroması hem de lezzet geliştirmede büyük öneme sahip olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda Hollanda'lı bir firmanın marine ya da baharat ile çiğ etin hazırlaması suretiyle carpaccio ve biftek tartar üretmek için YHB kullanıldığı bildirilmiştir (Bulut 2014b).

YHB araştırmaları öncelikle belirli mikroorganizmaların ve gıda kökenli patojenik bakterilerin inaktivasyon mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır. YHB'a direnç, bakteriler arasında değişmekte ve basınçlandırma sırasında organizmaların fizyolojik durumuna bağlı olmaktadır. Hücre duvarı ve hücre zarı basıncın bir sonucu olarak işlevlerini kaybediyor olmasına rağmen, YHB'ın neden olduğu inaktivasyon mekanizması basınçlama şartları, mikroorganizma türü, gıdanın durumu ve çeşidine göre değişkenlik göstermekte olup, halen tam olarak anlaşılamamıştır (Kaletunç ve ark. 2004).

Düşük veya sıfırın altındaki sıcaklıklarda YHB ile işleme, çiğ kıyma ile hazırlanan çiğ köfte, carpaccio ve biftek tartar gibi ürünlerin ticarileştirilmesi için yardımcı olabilir. Bu nedenle daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca soğuk saklama koşulları altında sığır eti stabilitesi dikkate alınarak ilave çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle soğutulmuş saklama koşulları altında sığır etinin stabilitesini inceleyen, olası iyileşme ve canlı kalan mikrobiyal hücrelerin büyümesine odaklanan çalışmalar yapılmalıdır (Fernandez ve ark. 2007). Çünkü YHB ile hasar görmüş mikrobiyal hücreler, depolanma sırasında kendini onarabilmektedir (Bulut ve ark. 2014b).

Bu araştırmada sığır kıymasının taze özelliklerini en iyi koruyabileceği düşünölen YHB parametreleri incelenmiş ve bu amaçla, 300-450 MPa basınç, -10 ile 20 °C sıcaklık aralığında ve 5-15 dk süre aralığında optimum işlem koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma kapsamında inokule edilmemiş kıyma örneklerinde basıncın toplam canlı sayımına etkisi araştırıldığı gibi *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 suşları inokule edilmiş örneklerle yapılan çalışmalarla YHB'ın ette bulunabilecek önemli patojenler üzerine olan etkisi de araştırılmıştır. Kalite parametreleri olarak kıyma örneklerinin renk ve tekstüründe meydana gelen değişiklikler YHB işleminin sonrası ve raf ömrü süresince incelenmiştir. YHB öncesi dondurulan örnekler ile dondurulmadan basınçlanan örnekler karşılaştırılmalı olarak çalışılmış ve etin taze özelliklerinde en az değişikliğe neden olan basınçlama parametreleri araştırılmıştır. Ayrıca etin soğutucuda depolanması boyunca inokulasyon yapılmış ve yapılmamış kıyma örneklerinde mikrobiyal gelişme düzeyleri, renk, tekstürel değişim ile oksidasyon oluşumu değerlendirilmiştir. YHB ile mikrobiyal güvenliği sağlanmış ve renk ile tekstür yapısı korunabilmiş basınçlanmış etlerin pişirme sonrası renk ve duyuusal skorları ve tüketici kabul edilebilirliği değerlendirilmiştir.

## 2. LİTERATÜR TARAMASI

### 2.1. Geleneksel YHB ile Mikrobiyal İnaktivasyon

Et, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların ve patojenlerin gelişimi için iyi bir hammaddedir. Örneğin, *Clostridium jejuni*, çiğ ya da pişmiş ette, *Clostridium* et ve et ürünlerinde, *E. coli* O157: H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella* türleri pişmemiş sığır etinde (özellikle kıyma) bulunmaktadır. Bütün bu bulaşmalar, dünyadaki gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. A.B.D. Gıda Güvenliği ve Muayene Servisine göre, Birleşik Devletlerde her yıl sağlıksız et tüketimi yaklaşık 48 milyon gıda kaynaklı hastalık ve 3000 ölüme neden olmaktadır. 2009 yılında Avrupa Birliği'nde bildirildiğine göre gıda kaynaklı salgınlarında toplam sorumlu gıdalar arasında balık, et ve et ürünleri olup, toplam salgınlarının % 26,3'ünü oluşturmaktadır (EFSA 2013, Guyon ve ark. 2016).

Geleneksel YHB 20 ile 70 °C aralığında gerçekleştirilen basınçlama işlemi olarak tanımlanabilir. Bu parametrelerde virüsler, mayalar, farklı bakteriler ve patojenler üzerine yapılmış çok sayıda YHB çalışması bulunmaktadır. Bozulmayı ve patojen mikroorganizmaları (bakteri, mantar ve virüsleri) yok etmek için YHB işleminin olumlu etkisi bulunmaktadır (Garriga ve Aymerich 2009, Campus ve ark. 2010, Rivalain ve ark. 2010). YHB, vejetatif mikrobiyal hücreleri öncelikle hücre membranlarına zarar vererek inaktive etmektedir. Farklı mikroorganizmalara bağlı inaktivasyon çalışmaları genel olarak uygulama yoğunluğu ile inaktivasyonun derecesi arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Örneğin, domuz etinde bakteri modelleri üzerine yapılan çalışmalar, *L. monocytogenes*'te 400-600 MPa aralığındaki YHB'nin etkili olduğunu göstermiştir (Koseki ve ark. 2007). Sığır etinin 600 MPa'da işlenmesi, *L. monocytogenes*, *S. enterica* ve *E. coli* gibi patojenlerde 5-7 log kob/g azalmaya neden olmuştur (Garriga ve ark. 2004). 375 MPa'lık muamele, *L. monocytogenes* ile inoküle edilmiş kıyılmış ette 4-5 log kob/g azalmaya neden olmuştur (Simpson ve Gilmour 1997). Sığır eti kıymasının 700 MPa'da muamelesinden sonra *E. coli* O157: H7'de 5 log kob/g azalma kaydedilmiştir (Gola ve ark. 2000). YHB'nin, dilimlenmiş jambon ve şarküteri eti gibi hazır yemeklerde *L. monocytogenes*'i inaktive edebildiği bildirilmiştir (Guyon ve ark. 2016).

YHB ile mikrobiyal inaktivasyonda sıcaklık önemli bir rol almaktadır. İnaktivasyon optimum gelişme sıcaklıklarında yüksek ve düşük gelişme sıcaklıklarında daha az olmaktadır. Çünkü membran geçirgenliği optimum gelişme sıcaklığı dışındaki sıcaklıklarda kolaylıkla bozulabilmektedir (Hugas ve ark. 2002, Garriga ve ark. 2004). Cheftel ve Culioli (1997) uygulanacak basınç seviyesinin ürün tipine bağlı olarak değiştiğini ve mikrobiyolojik

inaktivasyon için etlere uygulanacak basıncın 400–600 MPa'da (1–10 dk ve 50–70 °C) etkin sonuçlar verebileceğini bildirmektedirler. Moerman ve ark. (2001), basınç uygulama sıcaklığının minimum 65 °C olması durumunda, 400 MPa basınçta büyük ölçüde sterilitenin sağlanabileceğini belirtmiştir. Ticari sterilite (12 logaritmik birim) gıdanın pH'sı yüksek olması durumunda sağlanamamaktadır. Ancak taze ette renk, doku, aroma vb. nedenlerden dolayı yüksek sıcaklıkta basınçlama işlemleri kullanılamamaktadır.

## 2.2. Düşük ve Sıfır Altındaki Sıcaklıkta YHB ile Mikrobiyal İnaktivasyon

Ortam sıcaklıklarında et ve et ürünlerine YHB'nin etkisini inceleyen çok sayıda çalışma vardır ama YHB nin düşük veya sıfır altındaki sıcaklıklarda kombinasyonu ile ilgili çalışmalara son zamanlarda rastlanmaktadır. Birleştirilmiş sıfır altında/düşük sıcaklıkta YHB uygulamasının basınçlama öncesi dondurulmamış örneklerde mikroorganizmalar üzerindeki sinerjik etkisine ilişkin bulgular literatürde bildirilmiştir (Picart ve ark. 2005, Moussa ve ark. 2007, Vaudagna ve ark. 2012, Bulut 2014a).

Son çalışmalar sıfır altında yada düşük sıcaklıklarda yapılan YHB işleminin çok ilgi çektiğini ortaya koymaktadır (Carlez ve ark. 1993, Cheftel ve ark. 2003, Picart ve ark. 2004). Gervilla ve ark. (2000), *L. innocua* inokule edilmiş sütte 100–500 MPa 15 dk YHB ile +4,0 °C'de, 25 °C işlemden daha düşük D değerleri aldığını bildirmişlerdir. Picart ve ark. (2005), *L. innocua* ile aşılınmış dondurulmuş somon ekmeğinin sıfır altı sıcaklıklarda basınçlandırma dahil olmak üzere düşük veya sıfır altı sıcaklıklarda buz kristal oluşumu, basınç değişimi ile donma ve basınç destekli çözündürme olmadan çeşitli basınçlama kombinasyonlarını araştırmıştır. Araştırmacı 207 MPa'da -22 °C'ye basınç düşüşü, ardından 0,1 MPa'da -25 °C'ye daha da dondurularak, *L. innocua*'nın 1,4 log'luk bir düşüşü sağlanmıştır. Örnek dondurma işlemi, 23 dk boyunca 10 °C'de bir basınç odası içinde 207 MPa'da basınç destekli çözme ile takip edildiğinde, 1,2 log'luk bir azalma elde edilmiştir.

Donmuş örnekler (-28 °C, 0,1 MPa, 24 saat) 207 MPa ve -29 °C'de 23 dk süreyle basınçlandırıldıktan sonra hızlı basınç tahliyesi yapıldıktan sonra *L. innocua*'da maksimum 2,5 log azalma elde edilmiştir (3 s). Bu inaktivasyon verimliliği, işlem sırasında gözlemlenen ardışık su fazı geçiş fenomeni ile açıklanmıştır. Düşük sıcaklıklarda bakteriyel inaktivasyonun daha etkin olması, mikroorganizmaların dirençlerinin optimum gelişme sıcaklığı aralığı dışındaki sıcaklıklarda daha düşük olduğu gerçeğiyle ilgilidir (Smelt 1998, Yuste ve ark. 1999, Ritz ve ark. 2000, Moussa ve ark. 2007). ter Steeg ve ark. (1999) YHB altında sıcaklık düşürüldüğünde sitoplazmik membranın sıvı kristal yapısının daha katı ve rijid bir yapıya dönerek kırılabilirliğinin arttığını ve buna bağlı olarak bakteriyel ölümlerin arttığını tespit



etmiştir. YHB işlemi 0 °C'nin altındaki sıcaklıklarda uygulandığında yüksek basınç ve sıcaklığın mikrobiyal inaktivasyon üzerine sinerjistik bir etki oluşturduğu vurgulanmıştır (Luscher ve ark. 2005).

### **2.3. Mikrobiyal Yaralanma**

Bakteriyel hücreler, farklı fiziksel ve kimyasal uygulamalara maruz kaldıklarında ölür veya yaralanır. Yaralanan mikroorganizmalar ya kalıcı olarak zarar görmekte (yani, ölümcül yaralanmış, ölüdür) ya da gıda maddelerinde ya da optimum pH ve sıcaklık koşulları altında gerekli besinleri içeren ortamda toparlanabilmektedir (diğer bir deyişle, subletal yaralanmaktadır) (Bozoğlu ve ark. 2004). Çalışmalar, yaralı ve onarılmış hücrelerin, metabolik süreçlerde stres faktörü değişimine bağlı olduğunu göstermiştir (Pagan ve Mackey 2000, Pagan ve ark. 2001). Subletal streslerden zarar gören hücre bileşenleri, hücre duvarı, sitoplazmik membran, ribozomal RNA ve DNA'nın yanı sıra bazı enzimlerdir (Kalchayanand ve ark. 2002). Yaralanmanın büyük ölçüde basıncın büyüklüğüne bağımlı olduğuna inanılmaktadır (Bozoğlu ve ark. 2004, Bull ve ark. 2005).

Mikroorganizma bir stresten kurtulduğu zaman bir mikroorganizmanın yaralanabileceği söylenebilir, fakat aynı zamanda kendine özgü niteliklerinin bir kısmını yitirir (Busta, 1976). Hartsell (1951)'e göre, basınç uygulamasından sonra yaralı hücreler, seçici olmayan ortam üzerinde büyüeyebilen, ancak seçici ortam üzerinde bulunmayan hücreler olarak tanımlanabilir.

Belli bir alt strese maruz kaldıktan sonra, yaralanmaya maruz kalan hücreler stresin neden olduğu hasarı onarabilir ve uygun koşullar altında büyüeyebilir ve bölünebilir (Hurst, 1984). YHB uygulaması ile mikroorganizmaların yaralanması ve geri kazanımı diğer araştırmacılar tarafından da incelenmiştir (Kalchayanand ve ark. 1998, Bozoğlu ve ark. 2004, Bull ve ark. 2005 Hayman ve ark. 2007). Örneğin, Kalchayanand ve ark. (1998) hidrostatik basınç pastörizasyonu altında dört besin kaynaklı patojenin ölümünü ve hasarını araştırdıkları çalışmalarında 25 °C'de mikroorganizmaların hasar ve yaşam kaybının 207 MPa'a kadar çok az olduğunu göstermiştir. Daha sonra hızlı bir oranda artmış 276 MPa ve üzerinde bir basınç seviyesinde çok sayıda yaralı hücre, işlem sıcaklığı 35 °C ve üzeri seviyelere yükseldiğinde, ölüm ve yaralanmada artma bildirmişlerdir.

Yaralı hücreler gerekli besinleri içeren bir ortamda, optimum pH ve sıcaklık koşullarında, gıda kaynaklı hastalıkların ve gıda bozulmalarının ortaya çıkmasına yol açacak şekilde kendilerini onararak çoğalabilirler. Özellikle düşük asitli veya diğer koruyucu öğelerin

bulunmadığı besinlerde yaralı mikroorganizmaların kendilerini onararak aktif hale gelmeleri ve risk yaratmaları mümkün olmaktadır. YHB sonrası hayatta kalan mikrobiyal hücrelerde fiziksel duyarlılık gelişmiş hale gelmekte ve kimyasal ortamlara karşı normal hücrelere daha dirençli olmaktadır. Bu tür yaralanmalar mikrobiyal yapıda yapısal ve metabolik yaralanmalar olarak ortaya çıkmakta ve değişik mekanizmalarla tamir edilebilmektedir. YHB ile işlemde geçirilmiş hücre membranları değiştirilmiş geçirgenlik göstermesine rağmen, birincil basınç hasarının 400 MPa veya daha yüksek basınçlarda olduğu, ancak 400 MPa'dan daha düşük basınçlarda ribozomal birimlerin hasar görüldüğü bilinmektedir (Bozoğlu ve ark. 2004).

#### **2.4. Etin Rengine YHB'nin Etkisi**

Renk kalitesini etkileyen, basınçtan kaynaklanan değişiklikler taze kırmızı et için önemlidir ve yeni ürünler için pazarlanabilirlik ve tüketici tercihlerini değerlendirirken göz önüne alınması gerekir. Birçok çalışmada YHB ile farklı etlerde renk değişimleri tanımlanmıştır. Genellikle geri dönüşümsüz bir renk değişikliği 200 MPa'da gözlenir ve basıncın artırılması rengin daha fazla değişmesine neden olur (Beltran ve ark. 2004).

Etin rengindeki değişim, globin denatürasyonuna, heme grubunun yer değiştirmesine (Carlez ve ark. 1995), miyofibril ve sarkoplazmik proteinlerin toplanmasına bağlı olduğu için protein denatürasyonu ile bağlantılıdır (Goutefongea ve ark. 1995). Ancak YHB ile işlenmiş et pişirildiğinde, renk değişikliği saptanamamaktadır (Jung ve ark. 2003). Etin rengi iki proteine bağlı olarak değişmektedir. Bunlardan ilki et rengini veren myoglobin diğeri ise kana rengini veren hemoglobin pigmentleridir. Ancak hemoglobinin et rengine etkisi yok denecek kadar azdır. Et rengi, bileşimindeki myoglobin (Mb), oksimiyoglobin (MbO<sub>2</sub>) ve metmyoglobin (MMb) miktarına bağlıdır. Myoglobin ve oksijenle birleşmiş formu oksimiyoglobin, oksidasyon ile ferro (+2) formdan, ferri (+3) forma dönüşerek metmyoglobin halini almaktadır. Böylece et rengi parlak kırmızı renkten kahve kırmızı rengine dönüşmektedir. Bu değişimin; etin kırmızılığı, metmyoglobin içeriği ve uygulanan basıncın büyüklüğünden ziyade, basınç uygulama süresinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Jung ve ark. 2003). Deuchi ve Hayashi (1992) -20 °C'de depolanan donmuş sığır etinde, 50-200 MPa(20 °C, 30 dk) aralığında yaptığı çalışmada 50 MPa'lık basınç uygulamasında renk değişiminin görülmediğini, ancak daha yüksek basınçlarda ette protein denatürasyonundan kaynaklanan renk açılmalarının olduğunu bildirmişlerdir. YHB'den kaynaklanan bu olumsuz değişimler etin çeşidi, uygulanan basıncın düzeyi, YHB'nin hangi sıcaklıkta uygulandığı ve basıncın süresine bağlı olarak değişik düzeylerde ortaya çıkabilmektedir.

Çeşitli çalışmalarda soğuk veya orta sıcaklıklarda et ve et ürünlerinde YHB uygulamaları yapılmıştır. Ancak, çiğ kırmızı etin kalitesine sıfırın altındaki sıcaklıklarda YHB etkisine literatürde az rastlanmaktadır.

Dondurulmuş ete düşük sıcaklıkta YHB uygulamasının renk bozulmasını engelleyebileceği ileri sürülmüştür. Bu proses bir süre önce patentli bir sürecin konusu olmuştur (Arnau ve ark. 2006). Ancak bu uygulamanın henüz ticari taze kırmızı et üzerinde uygulaması olmamıştır. Fernandez ve ark. (2007)'na göre bu koruyucu etki mekanizmasını belirleyen konulara daha fazla odaklanılması gerekir. YHB sırasında düşük sıcaklığın muhafaza edilmesi renk değişikliği miktarını azaltma eğilimindedir (Marcos ve ark. 2010). Lowder ve ark. (2014)'ları-35 °C'de dondurulmuş ve 550 MPa ile işlenmiş çiğ sığır etinde renk değişikliği gözlenmediğini bildirmişlerdir. Kırmızı ette renk bozulması azaltmak için, bazı araştırmacılar sıfırın altındaki sıcaklıkta ve önceden dondurulmuş ette basınçlama çalışmaları yapmışlardır. Sığır etinde, Fernandez ve ark. (2007)'ları ve domuz carpacciada, Realini ve ark.(2011)'ları kırmızı etin renginin açılmasında azalma bildirmişlerdir. Fernandez ve ark. (2007)'ları YHB öncesi dondurma işleminin sıfırın altındaki YHB'ın zararlı etkisinden sığır rengini korumak için mümkün olduğu sonucuna varmıştır. Bu koruyucu etkiden sorumlu mekanizma, yüksek basınca bağlı miyogloblin denatürasyonu açısından açıklanmış ve taze sığır eti YHB ile miyogloblin denatürasyonu yoğun ve sonuç olarak geri dönüşümsüz olmuştur. Sıfırın altında sıcaklıkta dondurulmuş örneklerde etki muhtemelen daha hafif ve geri dönüşümlü olmaktadır. Böylece, çözülme ile miyogloblin doğal yapısı iyileşebilir ve sonuç olarak taze et rengi normal olarak geri kazanılabilir.

## **2.5. Etin Tekstürüne YHB'ın Etkisi**

Geleneksel YHB uygulamalarında etlerin tekstüründe değişiklikler tespit edilmiştir. Etin gevrekliğinin orta derecede yüksek basınç (200 MPa) etkisiyle arttığı (Souza ve ark. 2011) ve tüketicilerin 200 MPa'a kadar YHB uygulamasına tabi tutulmuş sığır etlerini tercih ettiği literatürde bildirilmiştir (Sorenson ve ark. 2011). Ancak genel olarak 300 MPa üzerindeki YHB uygulamalarında mikrobiyal kalitede artış elde edilmiş iken, bu basınçlarda etin renginin, tekstürünün ve tadının olumsuz etkilendiği bildirilmiştir. YHB'ı ete uygulamanın tekstür üzerine etkisi basınç, sıcaklık, süre, kas ve post-mortem zamanına bağlı olup ette sertleşme gözlemlenebileceği gibi tenderizasyon da sağlanabileceği bildirilmiştir (Warner ve ark. 2017). Et hassaslığı (tenderizasyon) miyofibriller proteinlerin dayanıklılığı ile bağ dokusu ve diğer stromal proteinlerin varlığına bağlıdır (Sun ve Holley 2010). Bu

nedenle başarılı bir ticari uygulamanın gerçekleşebilmesi için bu teknolojinin amaca uygun olarak optimize edilmesi gerekmektedir.

Proteinlerin ikincil, üçüncül ve kuaterner yapılarını stabilize eden zayıf bağlar ısı ve basınç uygulamalarına farklı tepki verdiklerinden, farklı sıcaklıktaki yüksek basınç işlemi et dokusu üzerinde farklı etkiler yaratmaktadır (Galazka ve Ledward 1998). Proteinlerin denatürasyonu, üçüncül yapıdaki kovalent olmayan etkileşimlerin istikrarsızlaşması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. YHB ile, işlenmiş proteinin hidrofobik bölgelerini açığa çıkaran az miktarda açılma gerçekleşmektedir. Bu, proteinlerin toplanma (kümeleşme) nedeni olarak kabul edilmektedir (Sun ve Holley 2010). YHB tarafından indüklenen denatürasyon süreci boyunca, kas proteinleri, kullanılan basınca bağlı olarak çözünebilir veya çökebilir. 100-300 MPa aralığında değişimler normal olarak geri çevrilebilir ancak uygulama basıncı 300 MPa'dan yüksek olduğunda, meydana gelen değişiklikler genellikle geri döndürülemez (Rastogi ve ark. 2007). Kuaterner yapıyı stabilize eden başlıca kuvvetler olan hidrofobik etkileşimler basınca karşı çok hassastır. 200 MPa altında YHB kullanıldığında üçüncül yapıda önemli bir değişiklik gözlenmemektedir (Rastogi ve ark.2007). Ancak basınç 700 MPa'dan yüksek olduğunda, ikincil yapı değişiklikleri meydana gelmekte ve geri döndürülemez denatürasyona neden olmaktadır (Sun ve Holley 2010). Okamoto ve ark. (1990)'na göre ise YHB ile doku değişiminin temel mekanizmasında, basınç altında, farklı tür etler, protein hacminde bir düşüşe bağlı olarak doku değişimine maruz kalırlar. YHB sonrası, iç boşlukların sıkışması nedeniyle proteinin hacmi azalır. Et proteinlerinin basınca bağlı jelasyonu, protein sistemine ve YHB işleme koşullarına (örneğin, basınç seviyesi, zaman ve basınçlandırma sıcaklığı) bağlıdır (Colmenero 2002).

YHB'ın düşük veya ortam sıcaklığında post-rigor ete uygulanması, kullanılan zaman, sıcaklık ve basınca bağlı olarak doku ve hassasiyet üzerinde oldukça değişken etkiler göstermiştir. Ortam sıcaklığında veya düşük sıcaklıkta (0-25 °C) YHB sığır, domuz, kuzu, timsah ve kanatlı etinde sertlik artışına neden olmaktadır (Macfarlane ve ark. 1981, Ma ve Ledward 2004, Hong ve ark. 2005, Zamri ve ark. 2006, Kruk ve ark. 2011, Grossi ve ark. 2014, Giménez ve ark. 2015). Sikes ve Warner (2016)'ın yapılan 17 çalışmayı incelediği yazısında, çalışmaların sadece beşinde oda veya düşük sıcaklıklarda YHB ile, etin yumuşadığı yönünde çalışmalar olduğu bildirilmiştir. Bu beş çalışmada gevreklik, uygulanan kas, basınç, sıcaklık ve süreye bağlı olarak bildirilmiştir. Sığır etinde kesme kuvvetinde değişim, 100 MPa (10 dk) YHB uygulandığında yaklaşık olarak 58 ile 38 N arasında olup, 200-300 MPa'da hiç bir yumuşama gözlemlenmemiştir (Schenkova ve ark. 2007). Ichinoseki ve ark. (2006), 100-500 MPa (8 °C, 10 dk) YHB uygulandığında 58 N'den 45 N'ye, kesme kuvveti değerlerinde

azalma olduğunu belirtmişlerdir. Fernandez ve ark. (2000), sığır ve domuz etinde -20 °C'de 200 MPa'da donma gerçekleşmeden ve basınç yardımıyla donma gerçekleşerek iki uygulamanın karşılaştırılması yapılmış basınç değişimi ile donmuş örneklerde basınç sonrası protein denaturasyonu daha fazla olup, sarkomer seviyesindeki kaslarda yapısal değişiklikler daha fazla oluşmuştur.

Geleneksel donma ve yüksek basınç düşük sıcaklık kombine çalışması ile ilgili olarak çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar Fernandez ve ark. (2007) (650 MPa, -35 °C, 10 dk) YHB'nin sığır etinde ve Realini ve ark. (2011)'nin 400 ve 600 MPa (6 dk, -15 ve -35 °C) YHB ile kurutulmuş domuz filetosunda ve Vaudagna ve ark. (2012)'nin 400 ve 650 Mpa'da (-30 °C, 1 ve 5 dk) kurutulmuş sığır carpacciada yaptıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda dondurma ve düşük sıcaklık kombine uygulamalarının tekstürü daha iyi koruduğu belirtilmiştir. Bu bulgular basıncın neden olduğu kas lifi uzamasını azaltması ile ilişkilendirilmiştir.

## **2.6. Dondurulmuş Suspansiyonlarda/Gıdalarda YHB Etkisi**

Kıyılmış ette hücre yapısı bozulacağından, hücrelerden sızan su mikroorganizmalarla temas halinde olacaktır. Shirsat ve ark. (2004) domuz etinin artan elektrik iletkenliğini suyun salınmasıyla ve miyofibriler dokudaki inorganik bileşenlerle açıklamıştır. Sığır kıymasının dondurulması üzerine, dondurulmuş et suyundaki mikroorganizmaların buz kristalleri ile çevreleneceği ve bununla temas halinde olabileceği düşünülebilir. Diğer taraftan, basınç altında buzun eritilmesi, basınç, sıcaklık ve ısı transfer oranının bir fonksiyonudur. Zhu ve ark. (2004), daha önce diferansiyel taramalı kalorimetre ile bir HPDSC hücresinde -10 °C'de dondurulmuş suyun, basınç taraması (0,3 MPa/dk) boyunca 111 MPa'lık bir basınca kadar donmuş olarak kaldığını göstermiştir. Erime, 111 MPa'da erime başlangıcından 50 dakika sonra 126 MPa'da tamamlanmıştır. Örneklerin -10 °C ve -5 °C'de donmuş numunelerin basınçlandırılması sırasında sırasıyla, su yaklaşık 111'lik ve 60 MPa basınçlara kadar donmuş olarak kaldığı bildirilmiştir. Aynı zamanda, 0 °C'de ve üstünde dondurulmuş numunelerin basınçlandırılması sırasında bazı buz kısımlar basınçlandırmanın ilk aşamalarında mevcut olabilir (Bulut 2014b). Sonuç olarak, buz basıncında başlangıç aşamasında kristaller henüz eritilmemiştir, mikroorganizmalar katı buz parçacıklarına karşı sıkıştırma yaşayabilir. Bunun sonucunda mikroorganizmalar, katı buz parçacıklarının varlığına bağlı olarak, üniform olmayan bir şekilde hareket eden basınç kuvvetleri, mikroorganizma, mekanik (makaslama) kuvvetlerle karşı karşıya gelebilir. Dondurulmuş gıda örneklerinin (kıyma) YHB işlemine tabi

tutulması ile *E. coli* 25922 inaktivasyonunda önemli bir artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar donmuş ve dondurulmamış örneklerde mikroorganizmaların inaktivasyon mekanizmalarının farklı olduğunu ve donmuş örneklerdeki mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde temel faktörlerin mekanik olduğu belirtilmiştir (Bulut 2014a). Buna karşın, mikroorganizmalar kıyma gibi viskoelastik bir ortamda hidrostatik basınca her yönden eşit olarak maruz kaldığından hacimce küçülmekle birlikte (Perrier-Cornet ve ark.1995) önemli ölçüde bir deformasyon oluşmamaktadır. Bu nedenle, mikroorganizma üzerinde bir deformasyon yaratmak için gerekli olan basınç önemli ölçüde yüksektir(Bulut 2014b).

Dondurulmuş kıymada mikroorganizmaların buz kristalleri ile çevrili olduğu düşünülebilir. Basınçlama ile birlikte örneğin sıkıştırılması sonucu mikroorganizmaların henüz erimemiş olan buz kristalleri arasında kalarak hasar gördüğü düşünülmektedir. Buz kristallerinden dolayı mikroorganizmalar sıvı ortamlarda bulunan mikroorganizmalardan farklı olarak, her taraftan eşit olmayan kuvvetlere maruz kalarak deforme olabilmektedir. Bu nedenle, daha düşük basınç uygulaması ile mikroorganizmaların hücre zarının parçalandığı ve hücre bütünlüğünü kaybeden mikroorganizmaların inaktive olduğu düşünülmektedir (Bulut 2014b). Diğer taraftan Luscher ve ark. (2004)'nin çalışmalarında dondurulmuş sulu sistemlerde 200 MPa'ın üzerinde YHB ile *L. innocua*'da buz I ve buz III arasındaki faz geçişlerinde anında 3 log kob/g azalma sağlandığı bildirilmiştir. Bunun aksine, sıvı halde aynı bakteri dekontaminasyon derecesini elde etmek için 15 dakikalık bir tutma süresi gerekli olmuştur. Araştırmacılar, hücresel hasarın muhtemelen faz geçişi sırasında (mekanik) stres ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Dondurulmuş örneklerde gözlemlenen yüksek mikrobiyal inaktivasyona etki eden bir başka faktör düşük sıcaklıklarda çift katlı fosfolipid yapısındaki hücre duvarında meydana gelen faz değişimi olarak açıklanabilir. Biyolojik membranlar basınç kaynaklı faz dönüşümlerinde termotropik olaylara maruz kalabilmektedir. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactobacillus bulgaricus* CFL1'un lipid membran davranışının incelendiği çalışmada dondurma-çözme işlemi sırasında hücrelerde jel-sıvı-kristal geçişlerinin meydana geldiği bildirilmiştir Rigid kristal yapıdan, jel-kristal yapıya geçiş sıcaklıklarının hücre duvarında bulunan lipit bileşimine bağlı olarak, -8 ve 22 °C sıcaklıklar arasında değiştiği bildirilmiştir (Winter ve Jeworrek 2009). Büyük olasılıkla çift katlı lipid yapısının dondurulmuş et örneklerinde bulunan mikroorganizmalarda rijid (solidlike) olduğu ve bunun sonucu olarak basınca duyarlı hale geldiği sonucuna varılabilir.

Ayrıca etler sıfırın altında sıcaklıklarda YHB uygulamasına tabi tutulduklarında kalite değişimlerinin minimum olduğu gözlemlenmiştir (Realini ve ark. 2011). Araştırmacılar -15

ile -35 °C arasında dondurulmuş etlerin 400-600 MPa basınç ve 6 dk YHB uygulamasına tabi tutulduğunda kalite parametrelerindeki değişikliklerin minimum olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanında basınç değişimi ile dondurulan etlerin tekstürünün en iyi şekilde korunduğu bildirilmiştir (Urratia ve ark. 2007). Ayrıca, gıda güvenliği sağlanmış, soğuk saklama koşulları altında depolanan basınçlanmış sığır etlerinde renk stabilitesi de dikkate alınarak ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **2.7. Gıda Bileşenleri Üzerine YHB'ın Etkileri**

Ete uygulanan YHB'ın esas etkisi etin yapısında bulunan su, proteinler, lipitler ve polisakkaritler üzerine olmaktadır. YHB uygulanması gıda üzerinde fiziksel bir etki sonucunda hacimsel değişime neden olmakta ve hacimdeki bu değişimler; moleküler konfirmasyon modifikasyonlarına, molekül içi etkileşimlere, çözelti çeşitlerine ve kimyasal reaksiyonlara göre değişim göstermektedir (De Lamballerie-Antonveark.2002).

### **2.7.1. YHB'ın su üzerine etkisi**

Su gıdaların ana bileşenidir ve güvenli, ekonomik olmasından dolayı bir basınç iletim sıvısı olarak kullanılır. Su hacminde azalma 22 °C'de 100 MPa'da % 4, 200 MPa'da % 7, 400 MPa'da, % 11,5, 600 MPa'da % 15'tir (Buzrul 2008).

YHB uygulamalarında basınç iletim sıvısı olarak kullanılan su, gıda ve basınç kabini arasında termal değişimleri minimize edilebilmektedir. Ayrıca suya uygulanan 1000 MPa'lık basıncın oluşturduğu sıcaklık değişiminin, suyun [H<sup>+</sup>] x [OH<sup>-</sup>] iyonlarını 10 ile 100 kat artırdığı belirlenmiştir (Cheftel ve Culioli 1997). Basıncın etkisiyle iyonizasyondaki bu artış, suyun çözünme noktasında ve pH'da azalışa neden olurken, düşük basınçlarda ise bu değişikliklerin tersinir olduğu bildirilmiştir (Hugas ve ark. 2002).

Birçok maddenin katı formu sıvı formundan daha büyük yoğunluğa sahiptir. Bu yüzden basınçta olası bir artış, çözünme noktasında da artışa neden olmaktadır. Bununla beraber basıncın etkisiyle suyun hal değişimi birçok bileşikten farklı olup, suyun donması hacimde bir artışa neden olmaktadır. Su değişik basınç ve sıcaklıklarda, birkaç farklı buz kristal yapısı şeklinde katılaşmaktadır. Böylece, basıncın birincil etkisi olarak bağlanmamış su molekülleri arasındaki mesafenin azalmasıyla kristal kafes yapısı bozulabilmektedir (Fikiin 2003, Molina-Garcia ve ark.2004).

### 2.7.1.1 Adyabatik ısıtma (Sıkıştırma ısısı)

YHB'ın gıda maddelerine uygulanmasında gıdanın hacmindeki değişimle birlikte sıcaklığında da bir artış meydana gelmektedir. Bu olay moleküller arası kuvvetlere karşı sıkıştırma ile oluşmakta, sıkıştırmaya bağlı olarak sıcaklık artışı teorik olarak denklem kullanılarak hesaplanabilmektedir (Denys ve ark. 2000, Buzrul 2008)

$$dT/dP=Ta/\rho.Cp \quad (2.1)$$

T sıcaklık (K) , P yoğunluk  $\rho$  , (kg.m<sup>-3</sup>) basınç (Pa), A termal genleşme (K-1) katsayısı Cp, sabit bir basınç altında (J.kg<sup>-1</sup>.K-1) gıda maddesinin ısı kapasitesi

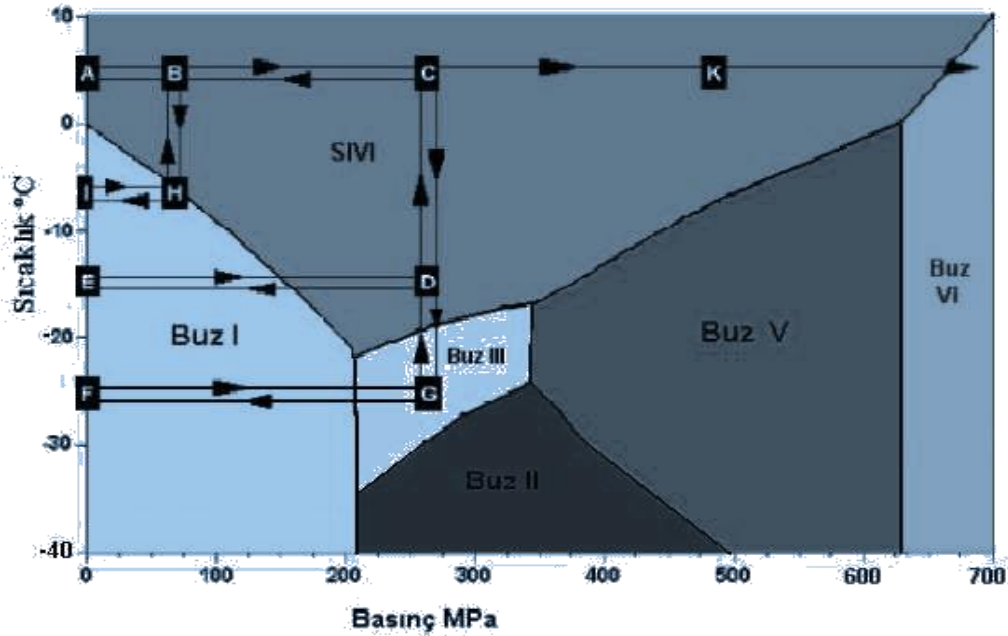
Bu denklem sadece küçük basınç değişikliklerinde ve yalnızca bir izotermal sıkıştırma için kesinlikle uygulanabilir. Adyabatik basınç 100 MPa başına suyun sıcaklığında 2-3 °C'lik bir artışa neden olurken, yağlarda bu artış her 100 MPa için 6-8,7 °C'dir. (De Lamballerie-Antonveark. 2002). (Bu başlangıç sıcaklığı ve sıkıştırma oranına bağlıdır). Adyabatik ısıtma sırasındaki sıcaklık artışı, işlem basıncı, başlangıç sıcaklığı, gıda maddesi bileşimi ve basınç aktarma sıvısı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Rasanayagam ve ark. 2003). Basınç düşürme de aynı şekilde soğutmaya neden olmaktadır (Buzrul 2008).

### 2.7.1.2 YHB'ın faz değişimi üzerine etkileri

Et ve et ürünlerinin dondurulmasında donma hızı oldukça önem taşımaktadır. Çünkü donma hızı kalite üzerinde etkili olan faktörlerin başında gelmektedir. Dondurma işlemi -20 °C'de gerçekleştiğinde % 13'lük bir hacim artışına yol açmaktadır (Li ve Sun 2002). Özellikle yavaş dondurma sırasında oluşan buz kristallerinin hacmi, dondurma sırasında dokuya zarar vermektedir (Gökalp ve ark. 2000). Oysa donma sırasında, YHB kullanımı, daha küçük buz kristalleri oluşmasına neden olarak gıda maddelerine verilen hücresel zararı önlemektedir. Su, 210 MPa'a kadar olan basınçta -22 °C'ye kadar sıvı halde kalabilir. Bu özellik, basınç uygulamalarıyla gıdaların hızlı dondurulmasını (PSF) ve çözülmesini (PAT) sağlamaktadır. Yüksek basınç destekli donma işleminde, örnekler buz oluşumu olmadan 200 MPa'dan -20 °C'ye soğutulur, daha sonra basınç serbest bırakılır ve yüksek süper soğutma gerçekleşmektedir. Bu sayede uniform ve hızlı buz çekirdeklenmesi sağlanmaktadır. Bu nokta kritik olup -20°C'nin altında buz kristalleri oluşmakta ve bu noktada faz geçişi görülmektedir. 200 MPa'dan daha düşük seviyedeki veya daha yüksek seviyedeki YHB uygulamalarında ise, daha yüksek sıcaklıklarda buz kristalleri oluşabilmektedir. Örneğin, 600 MPa'da yaklaşık 0 °C'de buz kristalleri oluşabilmektedir (Li ve Sun 2002). Suyun donma noktası basınç 210



MPa'a kadar artırıldığında azalmaktadır, bu noktada buz faz değiştirmekte ve donma noktası yükselmektedir. Bu yüzden, YHB altında suyun donmamış kısmı çözünme için önemli olup suyun faz diyagramı üzerindeki basıncın etkisi büyük ilgi uyandırmaktadır (Kalichevsky ve ark. 1995). YHB altında suyun faz diyagramı Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Basınç, suyun donma ve erime noktasını azaltmakta böylece 200, 250, 300, 350 ve 400 Mpa basınç altında  $-10$  °C'de, sıvı kalmaktadır (Buzrul 2008). Martino ve ark. (1998), yüksek basınç destekli dondurmanın (PSF), düzgün buz kristalleri gerektiğinde büyük gıda parçalarını dondurmak için özellikle yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Basınç destekli dondurma ile dokuya verilen zarar önemli ölçüde sınırlandırılabilir (Zhao ve ark. 1998, Li ve Sun 2002). Cheftel ve ark. (2000), Le Bail ve ark. (2002). Yüksek basınçla dondurma ve yüksek basınç destekli dondurma ile ilgili çalışmalarda bulunmuşlardır.



A-B-C-D-C-B-A, donma olmaksızın  $0$  °C'de soğutma (DOS); A-B-H-I, sabit basınçta donma (SBD); I-H-B-A, sabit basınçta çözünme (SBÇ); A-B-C-D-E, basıncın değişimiyle donma (BDD); E-D-C-B-A, basıncın değişimiyle çözünme (BDÇ); A-B-C-D-E, basıncın değişimiyle başlayan sabit basınçta donma (BDBSBD); E-D-C-B-A, basıncın değişimiyle başlayan sabit basınçta çözünme (BDBSBC); A-B-C-D-G-F, buz III'de donma; F-G-D-C-B-A, buz III'ün çözünmesi; A-B-C-K- Buz VI,  $0$  °C'nin üzerindedonma

**Şekil 2.1.** Su faz diyagramı ve faz geçişlerine YHB uygulamasının etkisi (Luscher ve ark. 2004, Molina-García ve ark.2004)

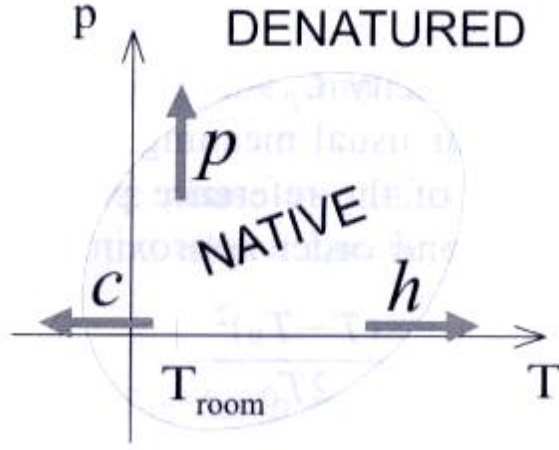
Et ve et ürünlerinin dondurulması kadar çözündürülmesi işlemi de etin kalitesi üzerine önemli derecede etkili olmaktadır. Basınç destekli çözünmede ise dondurulmuş gıdalarda basınç uygulamasıyla buzun bir kısmının hızlı bir şekilde çözülmesi sağlanmaktadır. Bu hızlı çözülme, damlama kaybindan sorumlu olan hücrelerden kütle transferlerini

sınırlayabilmektedir. YHB donmuş sığır etinin çözündürme süresini kısaltmakta ve büyük parça etlerin çözündürülmesinde çok önemli avantajlar oluşturmaktadır (Öz ve Kaya 2006).

### 2.7.2. YHB'ın proteinler üzerine etkileri

Etin kalitesi üzerinde oldukça önemli bir yere sahip olan proteinlerin yapısında meydana gelebilecek değişimler et ve et ürünlerinin renk ve tekstür kalitesini de etkileyebilmektedir. Proteinler üzerine YHB'nın etkisi; uygulanan basınç miktarına, proteinin yapısına ve proteinin bulunduğu ortama (sıcaklık, pH, iyonik kuvvet) bağlıdır (Hendrickx ve ark. 1998, Zorba ve Kurt 2005). Proteinler üzerindeki YHB etkileri öncelikle protein molekülleri içindeki potansiyel olmayan etkileşimlerin (elektrostatik ve hidrofobik) kopuşu ve bunun ardından protein molekülleri arasında ya da bu moleküller arasında bağların yeniden oluşturulmasıyla ilgilidir (Sun ve Holley 2010). Basınç uygulanması sonucu proteine bağlı su içeren zayıf hücre içi ve moleküller arası etkileşimler içinde, kovalent bağlar ve proteinlerin birincil yapısı çok etkilenmemektedir (Hugas ve ark. 2002, Ross ve ark. 2003). Patterson (2005), ikincil proteinlerin  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -kıvrım formunda olan polipeptit zincirindeki moleküller hidrojen bağlarına basıncın önemli bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Genellikle, basınç altında hidrofobik ve iyonik bağlar kırılmaktadır. Bunun aksine, Hugas ve ark. (2002) hidrojen bağlarının hacminde bir azalma nedeniyle basınç altında kuvvetlendiğini bildirmişlerdir.

Proteinin yapısındaki değişiklikler düşük basınçlarda geri dönüşümlü olarak meydana gelirken genellikle oda sıcaklığında 300 MPa üzerindeki basınçlarda heliks yapının açılarak düz protein zinciri oluşmasıyla proteinlerin geri dönüşümsüz olarak denaturasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir (Hendrickx ve ark. 1998). Şekil 2.2'de basınç ve ısı ile proteinlerin denatürasyon yolları görülmektedir. Bu duruma ikincil ve tersiyer yapıdaki değişiklikler sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar, 100-400 MPa basınç altında moleküllerin polimer yapılarının ayrışarak parçalara ayrıldığını (hidrofobik etkileşimlerin zayıflaması nedeni ile) veya denatüre olduğunu göstermektedir. Bu basınç aralığında yapıdaki değişim dönüşümlü olabilmektedir (Hayakawa ve ark. 1996). Bununla birlikte proteinlerin tersinir açılımları 400-800 MPa'da da gözlenebilmektedir. Hidrofobik ve iyonik interaksiyonlarla bağlanmış olan proteinlerin tersiyer yapılarındaki önemli değişikliklerin genellikle 200 MPa'nın üzerindeki basınçlarda meydana geldiğinin bildirilmesine rağmen Hendrickx ve ark. (1998), Galazka ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada 100 MPa'nın üzerindeki basınç uygulamalarında tersiyer ve kuaterner yapılarda değişimler olduğunu bildirmişlerdir.



**Şekil 2.2.** Proteinlerin eliptik faz diyagramında kimyasal gösterimi. P, h, c harfleri ile işaretlenmiş oklar bilinen denatürasyon yollarını göstermektedir. Basınç, ısı ve soğuk denatürasyon (Smeller 2002)

Genel olarak, kuaterner yapının daha çok hidrofobik interaksiyonlara sahip olması nedeniyle YHB uygulamasına karşı daha hassas olduğu, bununla birlikte hem tersiyer hem de kuaterner yapılarıdaki değişimlerin geri dönüşümlü olduğu bildirilmektedir (De Lamballerie-Anton ve ark. 2002). Kovalent ve kovalent olmayan bağları etkileyen termal uygulamaların aksine, oda sıcaklığında YHB sadece nispeten zayıf kimyasal bağları (hidrojen bağları, hidrofobik bağlar ve iyonik bağlar) kırmaktadır (Colmenero 2002).

Ayrıca 300-400 MPa üzerindeki basınç uygulamaları birçok proteinin kümeleşmesine yol açmaktadır. Söz konusu kümeleşme basınç ortadan kalktıktan sonra kısmen açılan proteinin, sulu ortama çıkan hidrofobik gruplar başta olmak suretiyle moleküllerarası bağ oluşturmasından kaynaklanmaktadır (İbanoğlu 2002). Bu süreçte basınç sıcaklık ilişkileri ve (basınç serbest bırakıldıktan sonra süresi dahil) zaman faktörleri de önemli rol almaktadır (Cheftel ve Culioli 1997).

### 2.7.3. YHB'ın lipidler üzerine etkileri (Oksidasyon)

Oksidasyon, etin mikrobiyal olmayan bozunmasının arkasındaki en önemli mekanizmalardan biridir. Bu reaksiyon renk, aroma ve lezzette duyuusal bozulmalara ve besin değeri kaybına neden olabilmektedir. Ette, oksidasyon, metalik iyonlar, özellikle hemirik demir vasıtasıyla ve dışa dönük reaktif oksijen türleri yoluyla endojen olarak başlatılabilmektedir (Descalzo ve ark. 2005). Hayvan türleri, ırk, kas tipi, diyet ve kesim sonrası süreçler gibi birçok faktör bu reaksiyonu etkileyebilmektedir. İkincil oksidasyon ürünleri, malonaldehit (MDA) ve uçucu bileşikler de dahil olmak üzere tiyobarbitürik asit (TBA) reaktif maddeler gibi bileşiklerin oluşumu incelenerek değerlendirilebilmektedir.

Tiyobarbitürük asit reaktif madde içeriğinin belirlenmesi, özellikle et ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Galvin ve ark. 1998).

Genel eğilimler basınç uygulamasının ette oksidasyon reaksiyonlarını teşvik edebildiğini göstermektedir. Bu nedenle, birçok yazar, basınç altındaki ette oksidasyonun kapsamını değerlendirerek, altta yatan mekanizmaları veya yolları anlamaya çalışmıştır. Özellikle, basınç altındaki miyogloblin ve hemogloblin gibi proteinler araştırılmıştır, çünkü bu proteinlerin çiğ ette prooksidanlar gibi davrandıkları bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalar, 350 MPa'nın üzerindeki basınçlarda yapılan işlemlerin her tür et için prooksidan etkiye sahip olduğu sonucuna varmıştır (Andrés ve ark. 2006, Munoz ve ark. 2006, Ma ve ark. 2007, Campus ve ark. 2008, Mariutti ve ark. 2008, Ardle ve ark. 2010, He ve ark. 2012, Guyon ve ark. 2016). Bunun aksine Ardle ve ark. (2011)'nin çalışmasında pişirilmiş örneklerin TBA değerleri basınçlanmış örneklerle kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, oksitlenme YHB işleminden hemen sonra artmamıştır (Orlien ve Hansen 2000, Beltran ve ark. 2003; 2004, Cava ve ark. 2009).

Başlangıç :  $RH\bullet \rightarrow R\bullet + H\bullet$

$RH + O_2 \rightarrow ROO\bullet + H$  Serbest radikal oluşumu

Gelişme :  $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$

$ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R$  Serbest radikal zincir reaksiyonu

Sonuç :  $ROO\bullet + R\bullet \rightarrow ROOR$

$R\bullet + R\bullet \rightarrow R-R$

$ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$  Radikal olmayan ürünlerin oluşumu

**Şekil 2.3.** Lipid oksidasyon reaksiyonları (Khayat ve Schwall 1983, Morrisey ve ark. 1998)

Galvin ve ark. (1998) artmış tiyobarbitürük asit reaktif maddelerin içeriği ile heme içermeyen demir içeriği arasında güçlü bir korelasyon bulunduğunu, tavuk göğsünde ve sığır filetosunda lipid oksidasyonda serbest iyonik demirin ana katalizör olduğunu ileri sürmüşlerdir. Lipidler üzerine diğer etkileri arasında, YHB'nin triasilgliserollerin erime sıcaklığının değiştirilmesine neden olması da bildirilmiştir. Basınçlama sırasında her 100 MPa artış, sıcaklıkta ortalama 3 °C'ye kadar artışa neden olabilmekte ve bu, oda sıcaklığında sıvı halde olan lipidlerin basınç altında kristalleşebileceğini göstermektedir (Medina-Meza ve ark. 2014). Buna ek olarak, lipid oksidasyonunun derecesi YHB süresine, sıcaklığına ve başta et

ürünün türüne bağlıdır (Bolumar ve ark. 2012). Böylelikle, sığır eti, diğer et türlerinden daha az okside olmuş görünmekte, örneğin tavuk etinden beş kat daha az uçucu bileşik içermektedir (Schindler ve ark. 2010). Ayrıca, muamele edilmiş numunenin ilk ambalajlaması, YHB uygulaması sırasında etin oksidasyonu üzerinde etkili olup, YHB muamelesi için en sık kullanılan vakum ambalajlama, basıncın oksidasyon sürecine olan etkisini azaltmaktadır (Mariutti ve ark. 2008). Şekil 2.3'te oksijen varlığında oksidasyon ürünlerinin oluşum reaksiyonları görülmektedir.

Yukarıda da belirtildiği gibi etin depolanması ve işlenmesi sırasında lipitlerde ve proteinlerde önemli değişiklikler söz konusu olabilir. Et ürünlerinin muhafazasında kullanılan dondurma işlemi oksidasyonu etkileyen faktörlerden biri sayılmaktadır. Dondurma sırasında oluşan buz kristalleri hücrelerin parçalanmasına neden olmakta ve bünyede var olan suyun bir kısmının donması ile donmamış kısımdaki prooksidan madde konsantrasyonunun artmasıyla birlikte oksidasyon ürünlerinde artışlar oluşabilmektedir (Utrera ve ark. 2014). Bu nedenle basınç değişimiyle donma (PSF) ile 2.7.1.2 bölümünde tarif edildiği gibi buz oluşumu olmadan eti dondurmak mümkün olmaktadır. Bu yönüyle olası oksidasyon reaksiyonlarının da azaltılabilmesi mümkün olabilir. Et gibi kaslı gıdalarda kalite kaybına neden olan oksidatif zararın daha çok lipit kaynaklı olduğu bildirildiğinden yapılan bu çalışmada lipit oksidasyonu da araştırılmıştır.

#### **2.7.4. YHB'nin karbonhidrat üzerine etkileri**

YHB uygulaması et ve et ürünlerinde bulunan polisakkarit yapısındaki karbonhidratlar üzerine de etkili olmaktadır (Hugas ve ark. 2002). Kas dokusunun tek polisakkariti olan glikojen post-mortem süreçte glikojenoliz ile parçalanmaktadır. Bu nedenle et karbonhidratlarının basınçtan etkilenmediği ileri sürülmüştür (De Lamballerie-Anton ve ark.2002). Ancak pre-rigor ette glikoliz henüz tamamlanmadığından dolayı bu dönemde YHB uygulamasının glikolizi hızlandırdığı belirlenmiştir (Cheftel ve Culioli 1997).

### **2.8. YHB Uygulamalarında Kritik İşlem Faktörleri**

#### **2.8.1. Basınç**

Yüksek hidrostatik basınç, katı ve sıvı gıdaların ambalajlı veya ambalajsız olarak, 100 ve 1000 MPa arasında basınca maruz bırakılmasını içine alan bir işlemdir. Ticari olarak basınç uygulama süresi milisaniyeden başlayıp 1200 saniyenin üzerindeki sürelerle kadar

değişir. YHB'nın gıdaları nasıl etkilediğini açıklayan iki genel ilke vardır. Birincisi, denge sistemindeki bir bozukluğun rahatsızlık vermesi durumunda, sistemin en aza indirgemeye yol açacak şekilde tepki vermeye çalıştığını belirten Le Chatelier İlkesidir (Pauling, 1964). İkincisi, basıncın, basınç altındaki bir sıvı boyunca, yani boyutundan ve geometrisinden bağımsız olarak, anında ve homojen olarak iletildiğini belirten İzostatik Prensiptir (Smelt, 1998). Gıda maddesi, bir basınç iletici sıvı içine daldırılır, burada istenen basıncı tutabilen bir basınçlı kap içine yerleştirilir. Basınç verici ortam su, silikon benzoat, etanol veya glikol olabilir. Basınç ileten sıvının, içten koruyabilme kabiliyeti gibi basınç iletici ortamın seçilmesinde, korozyon kabı yüzeyi, kullanılan özel basınç sistemi, işlem sıcaklık aralığı ve gıda maddesinin basınç altında viskozitesi gibi farklı faktörler bulunmaktadır (Hogan ve ark 2005). Genel olarak, gıdaların yüksek basınçla işlenmesi dört aşamadan oluşur. Bu aşamalar 1-gıda maddesini sterilize bir kapta ambalajlama 2-yüksek basınç haznesine yerleştirme, 3-gıda örneğine basınç verme ve 4- basıncı serbest bırakma şeklindedir.

Gıda endüstrisinde, işlenecek gıda maddesinin türüne bağlı olarak kesikli veya yarı sürekli YHB sistemi kullanılmaktadır. Katı gıda ürünleri veya büyük katı parçacıkları olan ürünler sadece kesikli sistem ile işlenir; sıvılar ve diğer pompalanabilir ürünler, yarı sürekli yöntemler ile işlenir (Ting ve Marshall, 2002). Basınçlı kabın içeriği, sıkıştırılabilir nitelikleri nedeniyle adyabatik ısıtma ile sıcaklığı arttırmaktadır. Sonuç olarak, basınçlı kap duvarının yakınındaki ürün, basınç kabının ortasındaki üründen daha düşük bir sıcaklıkta olacaktır (De Heij ve ark. 2002, Ting ve Marshall, 2002). Bu nedenle, YHB sırasında, basınç kabındaki farklı yerlerde farklı basınç-sıcaklık-zaman profilleri elde edilebilmekte ve bu durum, gıda içinde mikrobiyal/enzim inaktivasyonunun, veya duysal olarak kalite bozulmasının eşit olmayan bir şekilde dağılmasına neden olmaktadır (Denys ve ark. 2000).

YHB ile mikroorganizmaların inaktivasyonu değişik faktörlerin bir araya gelmesi ile oluşmaktadır. Bu faktörlerin hücre içindeki farklı etkilerinden dolayı basınç hücre ölümlerini arttırmaktadır (Garriga ve ark. 2004). Mikroorganizma yükünün logaritmasıyla zamana karşı çizilen grafik her zaman lineer olmamaktadır. Genellikle başlangıçta mikroorganizmaların sayılarında lineer bir azalış vardır. Ancak mikroorganizmanın basınca direnç gösterdiği pik noktadan itibaren ölüm oranlarında bir azalış görülmektedir (Kalchayanand ve ark. 1998, Yuste ve ark. 2001). Basınç şiddeti, zamanı ve basınç işleminin uygulandığı sıcaklığın yükseltilmesi, bakteriyel endosporlar istisna olarak, inaktif olan mikroorganizmaların sayısını arttırmaktadır. Basınç uygulama süresi ne kadar olursa olsun, altındaki her hangi bir derecede basınçla mikrobiyal inaktivasyonun gerçekleşmeyeceği “minimum kritik basınç” vardır. YHB’da göz ardı edilmemesi gereken önemli bilgi, uygulama basıncına ulaşmak için gerekli

süre, basıncın kesilme zamanları ve kompresyona bağılı olarak sıcaklıktaki değişimlerdir (Zook ve ark.1999). Mikroorganizmalar üzerine YHB'ın etkisinin asıl olarak; hücre membran geçirgenliği, iyon değişim modifikasyonları, yağ asidi kompozisyonları, ribozom morfolojisi, protein denatürasyonu, enzim aktivitesinin inhibisyonu ve vakuol oluşumu ile ilgili olduğu belirtilmektedir. YHB ile birlikte, hücre zarı geçirgenliği artmakta, hücre içi bileşenleri parçalanmakta, hücrede enerji üreten reaksiyonlar inhibisyona uğramakta, hücre gelişmesi için gerekli enzimler inaktive olmakta ve gelişme için gerekli olan pH aralığı daralmaktadır (Hugas ve ark. 2002). Hajós ve ark. (2004), 20 dk 600 MPa basınç uyguladıkları sosis için doğal mikroflorada toplam canlı hücre sayısında 3 log kob/g'dan fazla ayrıca *L. monocytogenes* ile inoküle ettikleri ette ise 5 log kob/g azalma sağladıklarını bildirmişlerdir. Bazı durumlarda mikrobiyal inaktivasyon için basınç uygulama süresinin basınç seviyesinden daha önemli bir değişken olduğu belirtilmiştir. Yuste ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada 350 MPa'da 30 dk uygulamanın, 400 MPa'da 5 ile 10 dk uygulamadan daha fazla bir mikrobiyal redüksiyon sağladığını belirtmişlerdir.

### **2.8.2. Sıcaklık**

Gıdada YHB uygulamalarının sadece basınca değil, aynı zamanda sıcaklığa da bağılı olduğu, oda sıcaklığının üzerinde ve altında YHB uygulaması sırasında mikroorganizmaların inaktivasyon hızının arttığı bildirilmektedir. 45-50 °C arasındaki sıcaklıkların gıda patojenlerinin ve gıdaları bozan mikroorganizmaların inaktivasyon hızlarını artırdığı belirlenmiştir. Ortam sıcaklığında mikrobiyal inaktivasyon için vejetatif hücreler ve sporları için sırasıyla 400 MPa ya da 800 MPa yakın basınç seviyelerinin gıda üzerinde yapılan çalışmalarda gerekli olduğu bildirilmiştir (Farkas ve Hoover 2000, Krebbers ve ark. 2003).

Düşük sıcaklıklarda mikrobiyal hücrelerin basınca karşı dirençlerinin azalması, membran yapısının akışkanlık değişikliklerine, hidrofobik etkileşimlerin zayıflaması ile fosfolipidlerin kristalizasyonuna bağılı olabilmektedir (Cheftel 1995). Ürün ve basınç sıvısının sıcaklığının, ortam sıcaklığının üzerinde veya altında iken elde edilen daha büyük inaktivasyon oranları, mikrobiyal direnç etkilemesinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, işlem etkinliği işlem sıcaklığından etkilenmektedir (Alpas ve ark. 2000, Bayındırlı ve ark. 2006).

### 2.8.3. İkincil Faktörler

Mikroorganizma tipi: Bazı önemli istisnalara rağmen genellikle Gram(+) bakteriler, Gram(-) bakterilerden basınca daha dayanıklıdır(Hoover 1993, Knorr 1993, Alpas ve ark. 1999, Alpas ve Bozoğlu 2000, Hugas ve ark. 2002, Buzrul 2008). Ancak bununla birlikte, Ramaswamy ve ark. (2008), *E. coli*'nin, *L. monocytogenes*'e göre daha büyük direnç gösterdiğini bildirmişlerdir.

Zarın işlevini ve özelliklerini koruması için sıvı-kristal (esnek) niteliklere sahip olması gerekmektedir. Hücre zarının farklı kimyasal bileşimi ve farklı yapısal özellikleri nedeniyle Gram(+) ve Gram(-) mikroorganizmalar YHB'ye farklı direnç göstermektedirler(Russell 2002). Bu durumun Gram(+) bakterilerin hücre duvarının sertliğinden sorumlu olan teikoik asit eksikliğinden, kaynaklandığı bildirilmektedir (Hoover 1993, Alpas ve ark. 2000). Mikrobiyal inaktivasyonun sağlanabilmesi için Gram(+) bakterilerde 25 °C'de 10 dk, 500-600 MPa'lık basınç uygulaması gerekirken, Gram(-) bakteriler 25 °C'de 10 dk, 300-400 MPa basınçlama ile inaktive edilebilirler (Trujillo ve ark. 2002).

Hücre yapıları incelendiğinde basınca dirençli membran içindeki doymamış yağ asidi seviyesinin, daha büyük oranda olduğu (Smelt 1998, Yano ve ark. 1998) ayrıca doymamış yağ asidince zengin sıvı membranların, genellikle basınca daha fazla dayanıklı olduğu belirtilmiştir (Smelt 1998, Casadei ve ark. 2002). Bu tür doymamış yağ asitlerinin basınç arttıkça, tepki olarak adaptasyon geliştirdiği bildirilmiştir (Yano ve ark. 1998). Bununla birlikte basiller, basınca koklardan daha duyarlı olup ökaryotik mikroorganizmalar basınca prokaryotiklerden daha duyarlıdır (Hugas ve ark. 2002, Park ve ark. 2003).

*Kültür hazırlama, mikroorganizmanın yaşı, çoğalma şartları:* Model sistemlerde deneyler, mikrobiyal popülasyonların fizyolojik durumlarının basınç direncini etkilediğini ortaya koymaktadır (Hayman ve ark. 2007). Mikroorganizmaların inkübasyon sıcaklığı önemli olup (Bull ve ark. 2005), genel olarak, eksponansiyel çoğalma fazında olan hücreler durgunluk fazında olan hücrelere kıyasla basınca daha duyarlıdır (Alpas ve Bozoğlu 2000, Hugas ve ark. 2002).

*Gıdanın bileşimi:* Çoğunlukla YHB uygulamalarında gıdanın kompozisyonunun basınca karşı koruyucu etki taşıdığı, et gibi doğal olarak zengin bileşime sahip besinlere YHB uygulandığında bakterilerin yaşama kabiliyetinin arttığı bildirilmiştir (Hugas ve ark. 2002, Garriga ve ark. 2004). Glikoz, fruktoz, sukroz, gliserol, ksilitol, serbest aminoasitler ve vitaminler gibi farklı gıda bileşenlerinin basınca karşı koruyucu bir rol oynamak suretiyle mikroorganizmaların hayatta kalma oranını artırdığı da ifade edilmiştir (Yuste ve ark. 2001). Yağlar, proteinler, mineraller, vitaminler bir koruyucu olarak hizmet etmekte, mikrobiyal



direnci arttırmakta ve işlendikten sonra hasarlı hücrelerin iyileşmesini sağlamaktadır (Tassou ve ark. 2007). Bu nedenle, yapay maddeler kullanılan model sistemlerde elde edilen sonuçlar doğrudan "gerçek" gıdalar ile mukayese edilmemeli ve doğrulanmalıdır (Rendueles ve ark. 2011). Gıdalar mikroorganizmalar için, mikrobiyolojik besin ortamı ve tamponlara kıyasla basınca karşı daha iyi koruyucu ortamlardır (Arıcı 2006).

*pH ve Su aktivitesi  $a_w$* : Gıdaların kompresyonu, uygulanan basıncın bir fonksiyonu olarak gıdanın pH'sını değiştirebilir. Pek çok araştırmacı YHB'tan hemen sonra ette pH değerlerinin arttığını belirtmişlerdir. YHB sırasında kas proteinine bağlı su hacminin azalması nedeniyle etin pH'sında 0,2-0,5 birim azalma bildirmişlerdir (Cheftel ve Culioli 1997). (Saf suyun pH'sı 25 °C ve 0,1 MPa'da 7 iken, 100 MPa'da 6,25'dir) (Arıcı 2006).

De Lamballerie-Anton ve ark.(2002)tarafından basınç 0,1 MPa'dan 100 MPa'a yükseltildiğinde pH'nın 0,73 birim azaldığı belirtilmiştir. Proteinler üzerine YHB'ın yaptığı potansiyel etkiden dolayı pH'daki azalışın oldukça önemli olduğu ifade edilmiştir. pH'nın düşürülmesiyle birlikte çoğu mikroorganizma basınçla inaktivasyona daha dirençsiz hale gelmekte ve subletal strese giren hücrelerin kendilerini onarması güçleşmektedir (Arıcı 2006). pH'sı 4,0-4,5 arasında olan asitli gıdalar 15 dk, 580 MPa'lık bir basınç ile steril yapılabilmektedir (FDA 2001).

Öteyandan bazı araştırmacılar YHB uygulaması ile pH'nın artabileceğini belirtmişlerdir. Ma ve Ledward (2004) tarafından yapılan bir araştırmada 5,34-5,53 arasında farklı pH değerlerine sahip sığır etlerine farklı sıcaklıklarda uygulanan basıncın etlerin pH'sında 600 Mpa işleme 0,19 bir artış belirtmişlerdir.

Düşük  $a_w$  değerleri, mikrobiyal direnci artırmaktadır (Black ve ark. 2007, Hayman ve ark. 2008). YHB işleminin etkinliğinin azalması 0,9 $a_w$  altındaki değerlere sahip gıdalarda görülmektedir. Su aktivitesi düşük gıdalardaki mikroorganizmaların basınca karşı direncinin tampon çözümlü gıdalardan genellikle daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Cheftel ve Culioli 1997). Fakat basınçla zarar gören mikroorganizmalar genellikle düşüğü aktivitesine karşı daha duyarlı olmaktadır (Garriga ve ark. 2004). Öte yandan, mikrobiyal hücrelerin basınçla subletal hasar görebileceği ve düşük  $a_w$ 'nin bu hücrelerin onarımını inhibe edeceği beklenebilmektedir. Sonuçta,  $a_w$ 'nin net etkisi hakkında bir tespit bulunmak zor olabilmektedir (Arıcı 2006).

*Diğer faktörler*: Diğer faktörler YHB'nın etkinliğinde önemli rol oynamaktadır. Genel olarak, (yüksek konsantrasyonlarda tuz, asitlik, yüksek ve düşük sıcaklıklar, oksidatif stres) olumsuz şartlara karşı koruma proteinlerinin sentezi YHB direncini arttırmaktadır (Wemekamp-Kamphuis ve ark. 2004). Membran bileşiminin, sabit faz proteinlerinin ve stres

proteinlerinin basınç direncini etkilediği bildirilmiştir (Hayman ve ark. 2007). YHB ile inaktivasyonda mikrobiyal duyarlılık mikroorganizmaların mevcut çevre koşulları tarafından etkilenmektedir (Rendueles ve ark. 2011).

## 2.9. YHB’ın Mikroorganizmalar Üzerinde İnaktivasyon Mekanizması

Mikroorganizmalar ısınmaya maruz kaldıklarında, ölüm oranı oldukça doğrusal bir eğim vermekte, ancak yüksek basınçlı inaktivasyon her zaman birinci dereceden kinetik takip etmemektedir (Klotz ve ark. 2007). Farkas ve Hoover, (2000), Smelt ve ark. (2002) basınca dayanıklı hücrelerde, doğrusal olmayan bir ilişki bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar ise, ölüm oranlarında birinci derece kinetiği yakından takip eden sonuçlar bulmuşlardır (Mussa ve ark. 1999, Ponce ve ark. 1998a).

Gram(+) bakteriler muhtemelen hücre zarındaki farklılıkların bir sonucu olarak Gram (-) bakterilerden daha barotolerantlardır. Gram(+) bakteriler, Gram(-) bakterilere kıyasla hücre yapılarında peptidoglikan ve teikoik asiti daha yüksek oranda bulundurmaktadırlar (Russell ve ark. 1995, Smelt 1998, Patterson 2005). Araştırmacılar bu durumun yüksekbasınç işleminden kaynaklanan membran hasarını tamir etme yeteneği ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, sabit büyüme fazındaki hücreler, üstel büyüme fazındaki hücrelerden daha kolay membran hasarını onarabilmektedir. Metrick ve ark. (1989), YHB uygulamasına tabi tutulmuş farklı *Salmonella* suşlarında canlı kalan suşların yeniden ürüne dahil edildiğinde, barotoleransta orijinal suştan önemli ölçüde farklı olmadığını bildirmişlerdir.

### 2.9.1. Hücre morfolojisinde oluşan değişimler

Hücre morfolojisi basınç uygulamasıyla değişmekte ve hücre bölünmesi yavaşlamaktadır. Hücreler uzamakta ve protoplazma viskozitesi değişmektedir (Arıcı 2006). Basınç altında gaz kofullarının sıkışması, hücre duvarının hücre zarından ayrılması, hücre zarının çekmesi, çekirdek veya hücre içi organellerin değişimi, hücre içi maddelerin hücre dışına sızması gibi morfolojik değişimler olmaktadır (İbanoğlu 2002). Bu değişimlerin devamında hücre duvarının kalınlaşması ve kıvrılması gerçekleşebilmektedir (Arıcı 2006). 0,6 MPa YHB ile hücre içi gaz vakuollerinin içe çöktüğü, Hoover ve ark. (1989) tarafından *E. coli*’de, 40 MPa basınç altında normalde 1-2  $\mu$  olan hücre uzunluğunun 10-100  $\mu$ ’a çıktığı ifade edilmiştir. Hareketli mikroorganizmaların hareket yeteneklerini kaybetmesinin basınç etkisi ile ortaya çıkan yapısal değişimlerden kaynaklandığı ayrıca YHB’ın etkilerinin mikroorganizmanın türüne, basınçlama parametrelerine bağlı olarak tersinir olabilmekte ve

basınçkaldırıldıktan sonra mikroorganizmaların eski biçim ve canlılıklarına dönebildiği bildirilmiştir.

### 2.9.2. Hücre duvarında meydana gelen değişiklikler

Hücre duvarı mikrobiyal hücrelerin şeklini ve sağlamlığını vermektedir. YHB'nin hücre duvarına verdiği zarar nedeniyle, hücreler daha geçirgen olmaktadır (Rastogi ve ark. 2000). Genel olarak, basıncın mikroorganizmalarda zarar verdiği ilk bölgenin hücre zarı olduğu anlaşılmıştır (Hugas ve ark. 2002, Ross ve ark. 2003). Hücre zarı yapısı, fosfolipit ve proteinlerden oluşmaktadır. Basıncı uygulanmış hücre zarları, genellikle değişen geçirgenlikler göstermektedir. Hücre membranına zarar Gram(-) ve çubuk şekilli hücrelerde, Gram(+) ve kok şekilli olanlardan daha ciddi olmaktadır (Spilimbergo ve ark. 2002). Hücre duvarı bozulması 400-500 MPa arasındaki uygulamalarda olmakta, çekirdek zarı 100 MPa basıncı uygulamaları altında etkilenmeye başlamaktadır. Hücre zarı geçirgenliğinde meydana gelebilecek değişimler hücrenin ölümüne yol açabilmektedir (He ve ark. 2002). Hücrenin içyapısı, organellerin morfolojisi basınca daha duyarlıdır (Hartmann ve Delgado 2003). 500 MPa üzeri basınçlarda hiçbir organel tanınmamaktadır (Brul ve ark. 2000). Perrier- Cornet ve ark. (1995), maya hücresi üzerine 250 MPa YHB sonucu % 15 hacimazalması gözlemlemişlerdir. Bu etki, hücre içinden hücre dış ortamına kütle transferi ile açıklanmaktadır.

Park ve ark. (2001), *Lactobacillus viridescens*'a 400 MPa (5 dk) YHB sonucunda, SEM (tarama elektron mikroskop) ile yaptıkları incelemede hücre duvarında nodüllerin oluştuğunu, TEM (transmisyon elektron mikroskop) kullanılarak yaptıkları incelemede stoplazmik membran ile hücre duvarı arasında boşlukların oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

Ritz ve ark. (2001) tarafından yapılan bir araştırmada sitrat tamponundaki *L. monocytogenes*'e 10 dk 400 MPa YHB'nin hücre membranına yaptığı başlıca etkilerden birinin, hücre membranındaki fosfolipitlerin düzeninin bozulması olduğu görülmüştür. 400 MPa YHB, hücrenin hacminde önemli bir değişiklik yapmazken, membran bütünlüğünün bozulmasına ve hücre yüzeyinde tomurcukların oluşmasıyla bazı fiziksel zararlar meydana gelmesine neden olduğu bildirilmiştir. Membran potansiyeli ve metabolik aktivitedeki düşüşün hücrelerin büyük bir bölümünde zarar oluşturmadığı görülmüştür. Basıncın sebep olduğu hücre zarındaki görev bozuklukları muhtemelen membran proteinlerinin denatürasyonuna bağlı olarak, aminoasit alımının inhibisyonuna neden olmaktadır. Pek çok çalışma, YHB uygulamasından sonra mikroorganizmaların hücre içi elemanlarının kaybını göstermiştir. Hücrelerden bu bileşenlerin sızmaları, hücre zarındaki hasara işaret eder ve

hücrelerden artan kayıp oranı yükseldikçe ölümün ve hasarın derecesi de o nispette artmaktadır (Arıcı 2006). Zarar görmemiş hücre membranı normalde geçirgen değildir (Patterson 2005). Ancak YHB ile birlikte, hücre zarı geçirgenliği artmaktadır (Yuste ve ark. 2002). Basıncın, membranda geri dönüşümsüz zararlarından dolayı logaritmik çoğalma fazında hücreler inaktive olurken sabit fazda membran bütünlüğü korunmaktadır. YHB ile sıcaklık membran akışkanlığında zıt etki göstermektedirler. Tekli ve çoklu doymuş yağ asitleri oranının artması ve membran akışkanlığının düzenlenmesi ile psikrofilik bakterilerin fizyolojik adaptasyona neden olduğu bildirilmektedir (Molina-Hoppner ve ark.2003).

### 2.9.3. Biyokimyasal reaksiyonlarda meydana gelen değişimler

YHB, hacim arttıran reaksiyonları yavaşlatırken, hacim azaltan reaksiyonları ise hızlandırmaktadır. Biyokimyasal reaksiyonların çoğu hacim değişimine neden olduğu için basınç uygulamasından etkilenmektedir (Patterson 2005). Mikrobiyal hücrelerin basınçla inaktivasyonunda önemli protein bölgeleri içeren enzimler ve özellikle hücre zarına bağlı enzimlerdir (Mackey ve ark. 1995). Enzim inaktivasyonunu teşvik eden faktörler molekül içi yapıların değişimi ve enzimin aktif bölgelerindeki değişimlerdir (Arıcı 2006). YHB ile birlikte, hücre içi bileşenler parçalanmakta, hücrede enerji üreten reaksiyonlar yavaşlamakta, hücre büyümesi için gerekli enzimler fonksiyonlarını kaybetmekte ve büyüme için gerekli olan pH aralığı azalmaktadır (Hugas ve ark. 2002). YHB uygulamasıyla laktik asit bakterilerinin bazı proteinlerinin fonksiyonlarını ve morfolojisini değiştirdiği (Molina-Hoppner ve ark. 2003) bildirilmiştir. Bununla birlikte *L. monocytogenes*'e basınç uygulanmasından sonra hücre aktivitesiyle ortaya çıkan esteraz'ın özelliklerini değiştirdiği görülmüştür (Ritz ve ark. 2001). YHB'a enzimlerin direnci değişkenlik göstermektedir. Mikrobiyal enzimlerden *B. subtilis*  $\alpha$ -amilaz 500 MPa basınca direnç gösterirken, *L. Monocytogenes* fosfoglukomutaz ve akonitaz'ın 200 MPa ile inaktive olduğu, ancak enzimlerin yüksek basınçla inaktive olması ile *L. monocytogenes*'in basıncadirenci arasında bir ilişki tespit edilemediği bildirilmiştir (Patterson 2005). Mikroorganizmalar üzerine YHB'ın öldürücü etkisinin, denatürasyon sonrası bazı önemli enzimlerin inaktivasyonu sonucu gerçekleştiği, 100-300 MPa basınçlar arasında tersinir olan denatürasyonun, 300 MPa üzeri basınçlarda geri dönüşümsüz hale geçtiği ifade edilmiştir (Hoover ve ark. 1989).

#### 2.9.4. Genetik mekanizmada meydana gelen değişimler

Nükleik asitler yüksek basınca proteinlerden daha dayanıklı olup, basınçtan daha az etkilenmektedirler. DNA ve proteinlerin basınca karşı farklı toleransta olmasının nedeni olarak moleküller arası hidrojen bağlarının DNA'da proteinlere kıyasla daha yüksek oranda olması gösterilmektedir (Hoover ve ark. 1989). Yapılan araştırmalarda 100 MPa'da uzun süreli uygulamalarda bile bazı hücrelerin DNA yapısının korunduğu bildirilmiştir (Gökmen ve Acar 1995). DNA'nın tabii yapısında stabilizasyon ortaya çıkmaktadır. Buna karşın *E. coli*'de çekirdek materyallerinde sıkışma olduğu (Mañas ve Mackey 2004) ve *L. viridescens*'a (5 dk) 600 MPa YHB uygulandığında DNA'nın bozulduğu bildirilmiştir (Park ve ark. 2001).

#### 2.10. YHB'ın Depolama Sürecinde Mikrobiyal, Fiziksel ve Kalite Özelliklerine Etkisi

Kalite ve raf ömrünün uzatılması ve YHB'ı gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek için kullanmanın önemli bir ekonomik yararı, bozucu mikroorganizmaların eş zamanlı imhasıdır. Bu, raf ömrünün uzatılmasına ve basınçlanmış ürünlerin kalitesinin korunmasına neden olmaktadır. Bu önemli etki, büyük bir yatırım getirisi yüzünden YHB'ın uygulanmasında büyük bir itici güç olmuştur. YHB ile yalnızca daha uzun mikrobiyolojik raf ömrü değil, aynı zamanda kimyasal koruyucu kullanmadan ve tüketicilere raf ömrü boyunca organoleptik özelliklerini koruyan yüksek kaliteli ürünleri sunulabilmektedir. Oysa YHB dışı ürünler, raf ömrü bittiğinde tat, renk, doku gibi duyuşal özelliklerini kaybetme eğilimindedir (Raghubeer 2007). Yüksek su aktivitesine sahip bir çiğ et ürünü olan marine edilmiş dana fileto, 600 MPa (31 °C, 6 dk) YHB ile aerobik, psikrofilik ve laktik asit bakteri sayısı en az 4 log kob/g azalmış ve saptama sınırının altında kalmıştır (<10<sup>2</sup> kob/g). Kontrol örnekleri ise aynı koşullarda 30 gün sonra 10<sup>8</sup> kob/g'a ulaşmış ve basınçlı örneklerde *Enterobacteriaceae*, depolama süresince 10 kob/g altında tutulmuştur. Kontrol örnekleri 30 gün sonra 10<sup>5</sup> kob/g'a ulaşmıştır. Kontrol örneklerin çoğunda patojenler 25 g'da varlığını göstermiştir. Tüm basınçlı örneklerde ise 25 g'da tespit edilememiştir. Ayrıca 120 gün soğuk depolamada ekşi tat ve kötü lezzetleri önlemeye yardımcı olmuştur. YHB çiğ ve marine etlere *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* spp ile ilişkili riskleri kontrol etmek için güçlü bir araç olduğu bildirilmiştir (Garriga ve ark. 2004). Ancak göz ardı edilmemesi ve üzerinde önemle çalışılması gereken bir diğer konu yaralanmış hücre popülasyonudur. Yapılan çalışmalar bakterilerin yüksek basınçla inaktivasyonunun birinci derece kinetik izlemediğini göstermektedir. Bu, aynı zamanda, yüksek basınca maruz kalan bazı hücrelerin ölümcül yaralanmalara maruz kalabileceği ve bu

organizmaların yeterli süre verildiğinde büyüme için yeterli bir sıcaklıkta iyileşip büyüyebileceği anlamına gelmektedir (Bozoğlu ve ark. 2004).

Taze etin oksidatif kararlılığı tüketicilerin yüksek duyu kalitede bir ürün almasını sağlamak için önemlidir. Et ve ürünlerinde oksidatif reaksiyonlar, lipid ve proteinlerin substrat olarak katılımıyla, ortamda bulunan oksidasyonu teşvik eden etkenlerin etkisiyle parçalanarak oksidatif ürünler oluşmakta, aromada, renkte, tekstürde ve besin kompozisyonunda değişmelere yol açmaktadır. Bu ise kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir (Kanner 1994). YHB sonrası lipid oksidasyonunun artması hemoproteinlerin konformasyonel değişikliklerinden kaynaklanmakta ve bu da katalitik heme grubunun doymamış yağ asitlerine daha fazla maruz kalmasına neden olmaktadır (Bou ve ark. 2008).

Ancak Ardle (2011), çalışmasında pişirilmiş örneklerin TBA değerlerini basınçlanmış örneklerle kıyasla daha yüksek tespit etmiştir. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, oksitlenme YHB işleminden hemen sonra artmamış, ancak basınçlanmış ette daha sonra depolama sırasında yağ oksidasyonuna neden olmuştur (Orlien ve Hansen 2000, Beltran ve ark. 2003,2004, Cava ve ark. 2009). Bu yazarlar basınç şiddeti ve süresinden daha çok depolama süresinin etken olduğunu ileri sürmüşlerdir. YHB uygulaması sonrası depolanma sırasında lipid oksidasyon seviyelerinin değerlendirildiği çalışmada 300 ile 800 MPa aralığında YHB işleminden sonra TBARS içeriği, özellikle 400 MPa'dan fazla olduğunda 14 gün boyunca 5 °C'de tutulan tavuklarda artış göstermiştir (Orlien ve Hansen 2000). Bununla birlikte, basınç altındaki etlerde düşük uçucu bileşikler bulunmuştur. Basınçlı etlerdeki aldehytlerin daha düşük düzeylerinin, YHB'a duyarlı bakterilerin lipolitik aktivitesindeki azalmalardan kaynaklandığı bildirmiştir (Guyon ve ark. 2016). Dissing ve ark. (1997), YHB uygulamasının parametrelerine dayanarak ve 1 ila 6 gün boyunca 4 °C'de depolandıktan sonra oksidasyonu tahmin etmek için kullanılabilen basınç ve TBARS içeriği arasında doğrusal bir bağımlılık belirtmişlerdir.

Taze sığır etinde 650 MPa (20 °C ve -35 °C, 10 dk), YHB ile basınçlama öncesi dondurulmuş etlerin kesme kuvveti değişmemiştir. Düşük sıcaklıkta basınçlı donmuş sığır eti, çözündürmeden sonra taze örneklerle yakın L\*, a\* ve b\* değerlerini almıştır. Donma, eti basınçlarenin bozulmasına karşı korumuş, çözülmeden sonra taze renk geri kazanılmıştır. 45 gün boyunca -18 °C'de saklanan dondurulmuş ve basınçlanmış sığır eti, çözülükten sonra orijinal rengini geri kazanmış, sadece işlenmiş numunelere benzer şekilde, depolama sırasında algılama limitlerinin altında kalmıştır (Fernandez ve ark. 2007). Soğutucuda depolama sırasında raf ömrü uzatılmış et için renk stabilitesinin olması önem taşımaktadır. Taze ve basınçlanmış ette depolama sırasında ambalaj materyaline de bağlı olarak renk değişikliği

olabilmektedir. Ardle ve ark. (2011), sığır etinde farklı sıcaklıklarda ve 400-600 MPa aralığında yaptıkları çalışmada, fırında pişirilmiş örneklerin tümü için dondurulmuş depolamada 30 gün boyunca L\* değerlerinin istikrarlı kaldığını göstermiştir. Basınçlanmış örneklerin L\* değerleri depolama boyunca diğer tüm işlenmiş örneklerle karşılaştırıldığında daha düşük bulmuşlardır. Sığır etinde kırmızılık, kontrol örnekler ile karşılaştırıldığında tüm işlenmiş numunelerde daha düşük olmasına rağmen, basınç artışı kaynaklı a\* değerlerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. İşlenmiş ve işlenmemiş sığır örneklerinin b\* değerlerinde önemli bir farklılık bildirilmemiştir. Bununla birlikte, işlenmemiş örneklerde 30 günlük depolamada a\* değerlerinde bir azalma gözlenmişken diğer yazarlar, pişmemiş ette a\* değerlerinde minimal değişiklikler olduğunu bildirmiş ve bunu oksijenin giderilmesine atfetmişlerdir (Berruga ve ark. 2005). Carlez ve ark. (1995)'na göre ise YHB'a bağlı olarak a\* değerlerinde gözlenen azalma, azaltılmış miyogloblin içeriğine ve metmyogloblin oluşumuna bağlı olmaktadır.

## **2.11. YHB'ın Etin Duyusal Bileşenlerine Etkisi**

Termal pastörizasyon gibi geleneksel yöntemler, olumsuz organoleptik etkiler ve ısıyla hassas bileşenlerin zarar görmesi nedeni ile bazı ürünlerde tercih edilmemektedir. Buna karşın YHB'ın, ısıya hassas gıdaların kalitesini olumsuz etkilemeksizin gıda güvenliğini sağlayacağı bildirilmektedir (Morales ve ark. 2006). YHB'ın etin tattan sorumlu bileşenleri üzerinde yaptığı değişikliklerin, normal şartlarda ette oluşan değişikliklere benzer olduğu için, etin tadı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Suzuki ve ark. 1994). Macfarlane (1973), yüksek basınca maruz kalmış sığır ve koyun eti örnekleri üzerinde düzenledikleri tat panelinde, YHB'ın sertliği artırdığı ve daha az sulu olmasına rağmen basınçlı örnekleri daha kabul edilebilir bulmuşlardır. İşlenmiş etlerin duyusal değerlendirme çalışmaları azdır. Basınçlanmış ve pişirilmiş sosisleri kullanarak yapılan duyusal araştırmalarda, panelistlerin, basınçlanmış örneklerin daha iyi gördükleri, daha sulu ve daha iyi tatta oldukları için basınç uygulanmış sosisleri tercih ettikleri tespit edilmiştir (Mor-Mur ve Yuste, 2003). Benzer şekilde Rubio ve ark. (2007), İspanyol tarzı kurutulmuş sığırların duyusal özelliklerinin YHB'tan olumsuz olarak etkilenmediği sonucuna varmışlardır.

YHB sırasında çiğ proteinde, protein hidrasyonunu kolaylaştıran kovalent olmayan etkileşimler ortaya çıkarmaktadır. Çiğ proteinin hidrasyonu, et ürünlerinin verimini ve nemliliğini artırdığı için, işlemcilerle fayda sağlamaktadır. Et sosisleri, sosisli sandviçler ve

şarküteri etleri gibi formüle edilmiş ürünler için artan su bağlama kapasitesi ve geliştirilmiş emülsiyon ham proteinlerin ve hidrokolloidlerin özellikleri raf ömrü boyunca sıvı atılmasını azaltmakta ve bitmiş ürünlerin ağız hissi ve kalitesini artırmaktadır (Raghubeer 2007). Japon araştırmacılar, YHB'nin serum ve umami üzerindeki etkisini araştırmışlar, serum tadını indirgenmiş şekerler, aminoasitler ve peptitlere atfetmişlerdir. YHB ile şeker, aminoasit ve peptidlerin parçalanması nedeniyle, serum aromasının arttığını bildirmişlerdir. Dana kaslarının 100-400 MPa YHB ile, fenol reaktif pozitif maddenin düzeylerinin her bir uygulama seviyesinde sadece sayısal olarak daha yüksek olduğu ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, yazarlar fenol reaktif pozitif maddenin basınca maruz bırakılmasıyla kas proteininin parçalanmasının hızlandırıldığı sonucuna varmışlardır (Suzuki ve ark. 1994). Suzuki ve ark. (1993), 200 MPa YHB sonrası, etin olgunlaşması sırasında serin, glutamik asit, glutamin, glisin ve alanin aminoasidi miktarlarındaki artışın kontrol örnekleri ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca basınç etkisiyle lizozomlardan salınan proteolitik enzimlerin, olgunlaşma sırasında ette tat ve aroma gelişimini hızlandırdığı ileri sürülmektedir (Karakaya ve ark. 2004). Benzer şekilde Suzuki ve ark. (1992), YHB uygulamasının etin tat bileşenlerinin (aminoasit ve peptitler) miktarını arttırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca serin, glutamikasit, glutamin, glisin ve alanin içeriği 200 MPa basınca kadar artarken 300 MPa'da glutamin ve alaninin azalma eğiliminde olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte 7 günlük depolama sonunda basınçlanmış ve kontrol örneklerinde aspartik asit serin, prolin, alanin ve lizin içeriğinde artışın olduğu saptanmıştır. Serrave ark. (2007) tarafından yapılan araştırmada, kuru kür edilerek işlenmiş ve dondurulmuş jambonlara, YHB uygulamasının (400-600 MPa) son ürünün aromasına önemli bir etkisinin olmadığı ifade edilmiştir.



### 3. MATERYAL METOT

#### 3.1. Materyal

Deneysel çalışma sürecinde maksimum homojenliğin sağlanabilmesi için en az kolajen miktarına ve homojen dağılmış bir yağ dokuya sahip, su oranı tekdüze dağılmış olan sığır bonfile tercih edilmiştir. Araştırmada kullanılan sığır eti Edirne Belediyesi Mezbahanesinden elde edilmiştir. 2 yaş civarındaki holstein ırkı sığır karkaslarının sırt bölgesinden elde edilen longissimus costarum kası kullanılmıştır. Karkasların, kesim sonrası (+1,0-+4,0) °C aralığında soğuk depolarda 48 saat dinlendirildikten sonra 1-2 kg'lık kütleler halinde polietilen torbalar içerisinde soğuk şartlarda laboratuvara getirilmesi sağlanmıştır. Taze yağsız ve kemiksiz et örnekleri 3 mm'lik delikli ayna kullanılarak soğutuculu kıyma makinasından iki kez geçirilerek kıyma haline getirildikten sonra +4,0±2 °C'de deney anına kadar tutulmuştur.

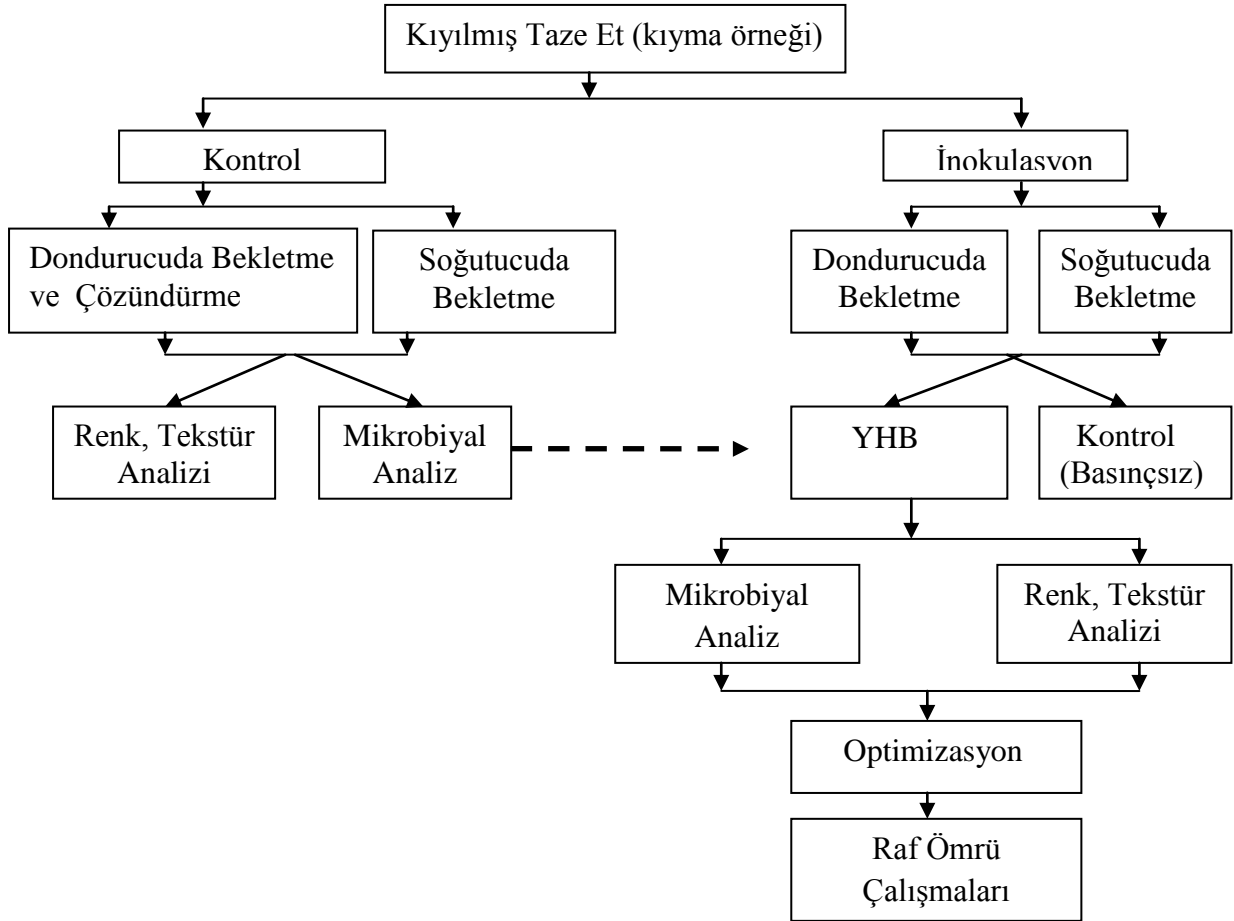
#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Kıyma örneklerinin basınçlama işlemine hazırlanması

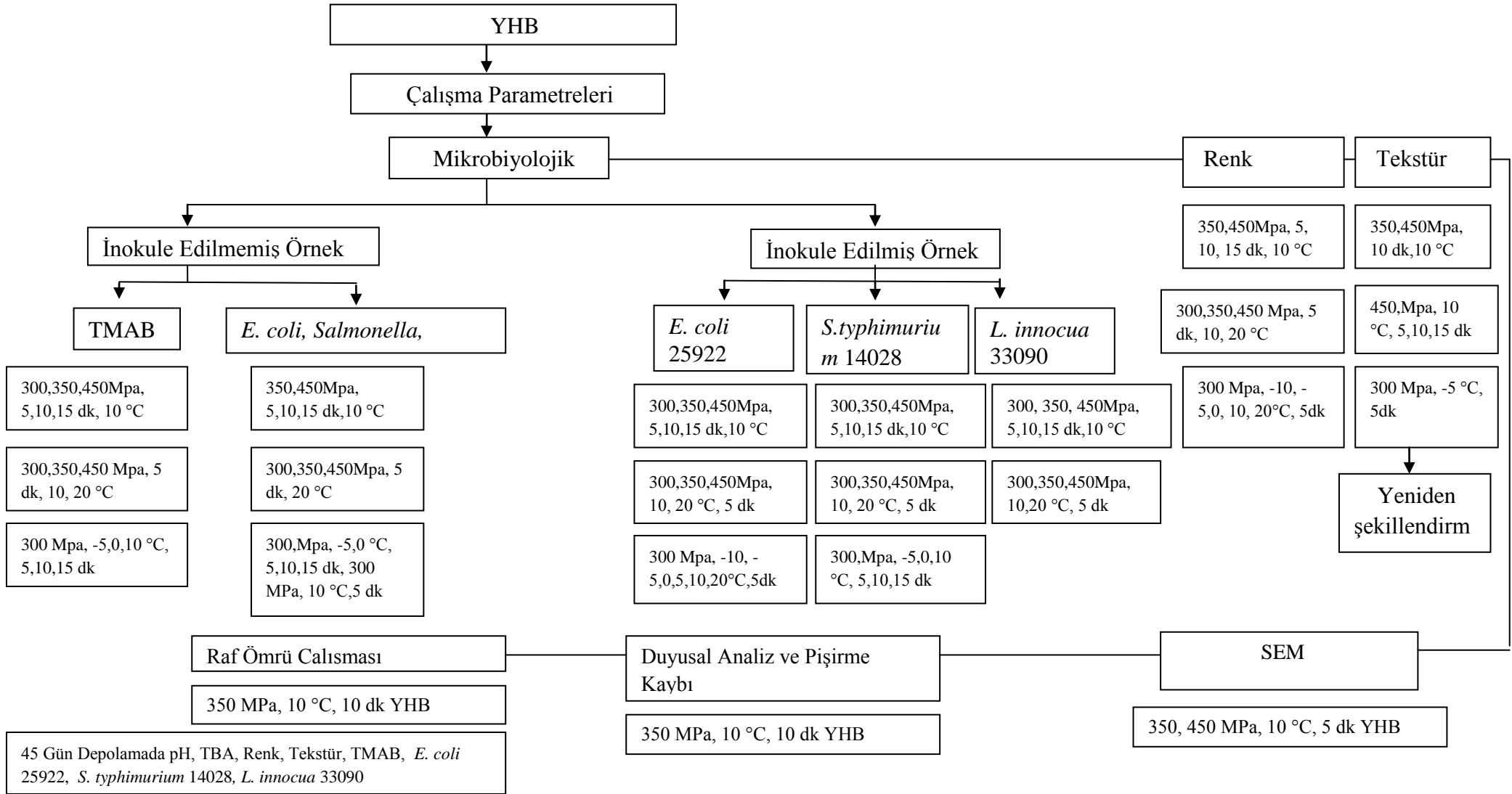
Kıyma örnekleri ilk olarak bir mutfak robotu (Bosch, Almanya) kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Etlerin yarısı (aşılama yapılmayan grup), vakum paketlenme makinesi (MV-20, Lipovak, Gebze, Türkiye) ile, hava ve su geçirmeyen Polyamid/Polietilen (Ege Plastik, İzmir), (90 µ kalınlıkta, 83,7 g/m<sup>2</sup> ağırlığında, 10,4 cc/100 in<sup>2</sup>/gün oksijen geçirgenliği ve 0,55 gr/100 in<sup>2</sup>/gün nem geçirgenliğinde) vakum poşetlerde paketlenerek vakum uygulanmıştır. Etlerin diğer yarısı bakteri ile inokule edilmiş ve 10 dk süre ile homojen hale getirildikten sonra örnekler (10 g) hava ve su geçirmeyen (Polyamid/Polietilen Ege Plastik, İzmir), plastik torbalarda vakum uygulanarak paketlenmiştir. Paketler yaklaşık 10\*2,5 cm ebatlar halinde hazırlanıp çift paketlenmiştir. Paketlemeler sırasında örnekler 4 saat kadar oda sıcaklığında kalmıştır. Örnekler her bir deney için üç paralel halinde hazırlanıp etiketlenmiştir. YHB öncesi örneklerin yarısı bir gece boyunca (yaklaşık 12-18 saat) süper donma modunda -21,0±5 °C'de derin dondurucuda (model: RT54QMSW, Samsung, Kore) dondurulmuştur. Örneklerin diğer yarısı +4,0±2 °C'de cihazın soğutucu bölümü içinde bir gece boyunca (yaklaşık 12-18 saat) bırakılmış olup daha sonra YHB işlemi uygulanmıştır. Araştırmalar işlem görmemiş kontrol örnekleriyle karşılaştırmalı olarak yürütülmüştür. Tüm örnekler her deney için üç paralel halinde hazırlanmıştır.



Şekil 3.1. İnoküle edilmiş vakum paketlenmiş kıyma örneği



Şekil 3.2. Deney tasarımı



**Şekil 3.3.** Çalışma planı

### 3.2.2. İnokulasyon yöntemi

#### 3.2.2.1. Deney test mikroorganizmalarının çoğaltılması

Çalışmada test mikroorganizması olarak *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. innocua* ATCC 33090 suşları kullanılmıştır. Bakteri suşları Edirne İl Kontrol Müdürlüğü Laboratuvarından dondurulmuş stok kültür olarak elde edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. innocua* ATCC 33090 kültürleri TSB (Tryptic Soy Broth)'ta 37 °C'de 18-20 saat 150 rpm'de çalkalamalı inkibatörde (Shin Saeng Korea) çoğaltılmıştır. 20 ml'lik santrifüj tüplere alınan kültürler ve 10 °C, 10 dk süre ile (7000×g) santrifüjlenmiştir (Sigma 3-30K, Almanya). Santrifüj sonrası süpernetant ayrıldıktan sonra yaklaşık 8-10 ml fosfat tamponu (pH 7,1) eklenerek stok kültür elde edilmiştir. Spesifik agar besiyerine sürme ekim yapılarak pasajlanmıştır. Her deney hazırlığında pasajlanan ekimden TSB içinde 37 °C'de 18-20 saat 200 rpm çalkalamalı inkübatöredetaze kültür çoğaltılmıştır. Çoğaltılan kültür 20 ml'lik santrifüj tüpleri içersinde (10 dk) 10 °C'de çalıştırılarak (7000×g) konsantre edilmiştir. Her tüp 2 ml fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile yıkanmıştır. Elde edilen kültür ile kıyma örneklerine inokulasyon gerçekleştirilmiştir.

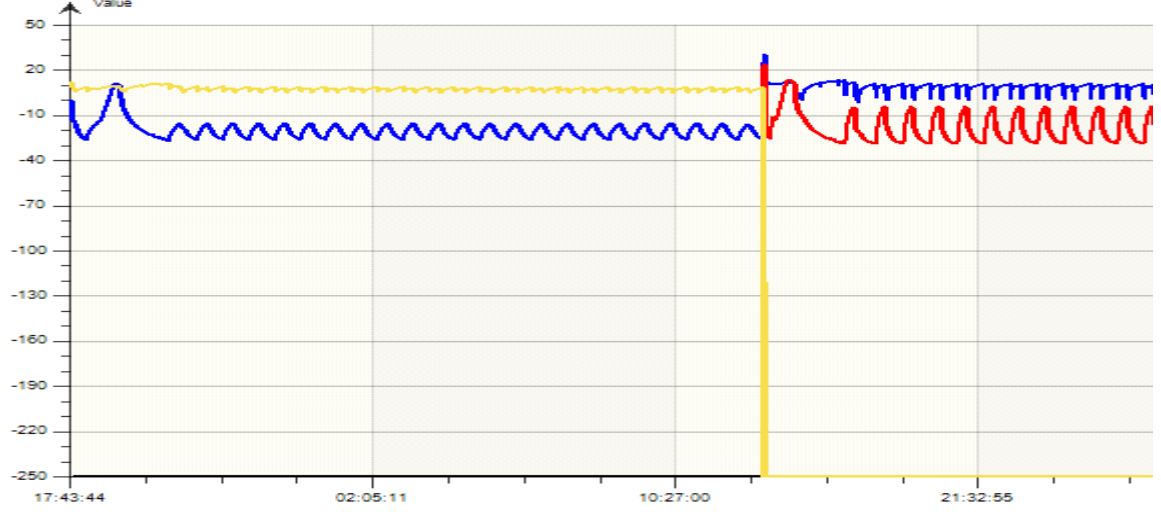
#### 3.2.2.2. İnokulasyon

Kültürden her 100 g kıyma örneğine 3 ml olacak şekilde inokulasyon yapıldıktan sonra bir elmikseri ile 10 dk süre ile karıştırılarak inokule edilen mikroorganizmaların homojen dağılımı sağlanmıştır. Bu şekilde kıyma örnekleri yaklaşık olarak  $1 \times 10^8$  kob/ml hücre konsantrasyonunda *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. innocua* ATCC 33090 ile aşılanmıştır. İnokulasyondan sonra örnekler yaklaşık 10 g ağırlığında poliamid/polietilen poşete yerleştirilerek bir vakumlu paketleme makinası (Liovak Türkiye) kullanılarak paketlenmiştir. Basınçlama sırasında paketlerin patlaması ihtimaline karşı örnekler ikinci kez vakum altında paketlenmiştir.

#### 3.2.3. Dondurma ve soğutucuda bekletme işlemi

Örnekler yaklaşık 2,5 cm kalınlığında ve 10 cm uzunluğundaki ebatlarda vakum poşet içersinde ağzı mühürlenmiş olarak, dondurulacak/soğutulacak örnekler sırasıyla  $-21,0 \pm 2$  °C ve  $+4,0 \pm 2$  °C'de yaklaşık 16-18 saat bekletildikten sonra YHB işlemi yapılmıştır. Kontrol örneklerinde ise dondurulan grup  $-21,0 \pm 5$  °C'de, dondurulmayan grup  $+4,0 \pm 2$  °C'de soğutucuda 45 gün boyunca depolanmıştır. Aynı şekilde basınçlama öncesinde dondurulan ve dondurulmayan basınçlanmış kıyma örnekleri de 45 gün boyunca  $+4,0 \pm 2$

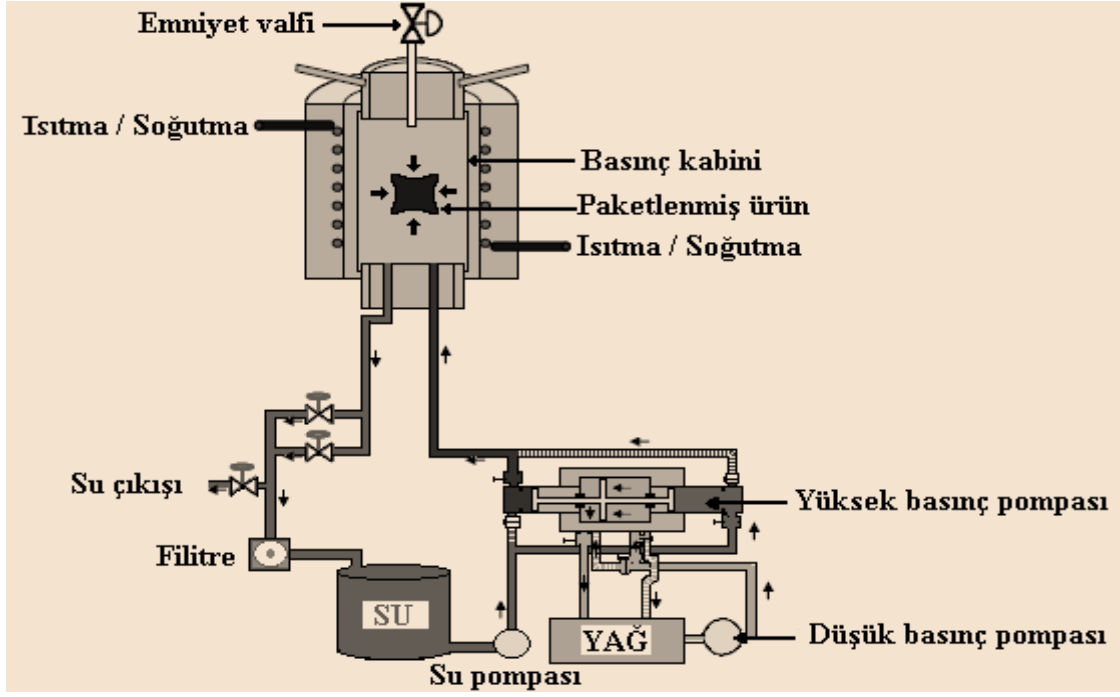
°C'de depolanmıştır. Depolama sıcaklıkları (Huato HE800, Çin) termometre ile her üç saniyede kayıt alınarak izlenmiştir. Dondurucu ve soğutucu iç bölmeleri sıcaklıklar verileri kayıt edilmiş ve sonuçlar Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Paketlenmiş kıyma örnekleri dondurma ve soğutma sıcaklık profili

### 3.2.4. Basınçlama

Basınçlandırmadan önce, örnekler doğrudan yüksek basınçlı kaba koyulmuş ve bir soğutucu kullanılarak başlangıç sıcaklığı ayarlanmıştır. Tüm başlangıç koşulları elde edildiğinde, kabın içindeki hava çıkarılmış, yüksek basınç sistemi başlatılmış ve ayarlanan basınca ulaşılmıştır. İşlem süreleri başlangıç veya basınç düşürme süresini içermeyecek şekilde ayarlanmıştır. 0,7 L basınç hazneli (MSE-CIP-WB-5500, MSE Teknoloji Ltd. Gebze, Türkiye), 50 mm çapında ve 380 mm uzunluğunda yüksek basınç kabı kullanılarak basınç uygulanmıştır. Basınç iletici ortamı olarak propylenglicol (1,2-propanediol/su karışımı, 55/45, v/v) (Kimetsan Co, Ltd. Türkiye) kullanılmıştır. Basınç çemberi içindeki ortamın sıcaklığı basınç tankının çevresine sarılı bakır borulardan oluşan bir sirkülatörlü soğutucu (model RE1050S, Lauda Dr. R. Wobser GmbH&Co. Almanya) yardımıyla, soğutulmuş sıvının dolaştırılması ile kontrol edilmiştir. Basınç yaklaşık 8-10 MPa/s'lik bir oranda test basıncına yükseltilmiştir. Basınç bir hidropnömatik pompa ile elde edilmiş ve basınç manuel olarak yavaş yavaş basınç tahliye valfi açılarak kontrollü şekilde yaklaşık olarak 20-40s'de serbest bırakılmıştır. Sıcaklıkları izlemek için, basınç odasının üst kapağının ortasından 1 K-tipi termometre probu örneğe yakın alana yerleştirilmiştir. Bu şekilde basınç sıvısından ölçülen sıcaklık bir veri saklama aygıtı ile kayıt altına alınmıştır. Analizler basınçlama işlemi ile aynı gün içerisinde yapılmıştır. Her deney için üç paralel örnek ile çalışmalar yürütülmüştür.



Şekil 3.5. Tipik bir YHB sistemi (Yusteve ark. 2001)



a)

b)

c)

Şekil 3.6. a) Yüksek basınç ekipmanı b) Basınç, sıcaklık, süre görüntüleme ve fonksiyon ünitesi c) Ekipmana bağlı soğutucu cihaz

### 3.2.4.1. YHB öncesi et örneklerinde tahmini sıcaklık değişimi

Basınç uygulamadan önce örneklerin sıcaklıklarının bilinmesi gerektiğinden örnekler Bölüm 3.2.2'de tarif edildiği gibi hazırlanarak termometrenin (Huato HE800, Çin) bir termokuplu poşetin üst ucundan bir örneğin merkezine yerleştirilmiş ve daha sonra dondurucuda termokupl örnek ile bağlı olarak dondurulmuştur. Yaklaşık 12-18 saat dondurulduktan sonra, örnek dondurucudan çıkarılmış ve basınç odasına yerleştirilmiştir.

Dondurulmayan grup ise yaklaşık 12-18 saat soğutucuda bekletilmiş ve soğutucudan çıkarılarak direk basınç odasına yerleştirilmiştir. Ardından basınçlama işlemine geçilmiştir. Basınç işlemi sıcaklığı basınçlama öncesinde sisteme entegre bir soğutucu kullanılarak (model RE1050S, Lauda Dr R. Wobser GmbH & Co. KG. Almanya) test sıcaklığına göre ayarlanmıştır (-10 –5, -1, 0, 5 veya 10, 20 °C). Sıcaklık değişimi her 30 saniyede 3 dakikaya kadar kaydedilmiştir.

### **3.2.4.2. Çalışma Parametreleri**

Çalışmalardan elde edilen verilerle optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon çalışmaları, -10 ile 20 °C sıcaklık, 200-450 MPa basınç, 1–20 dk süre aralığında yürütülmüştür. Bu çalışmaların istatistiksel analizleri (ANOVA) basınç ( $P<0,001$ ) ve basınçlama süresinin ( $P<0,0001$ ) mikrobiyal azalma üzerine etkili olduğunu göstermiştir.

Elde edilen optimum parametre kombinasyonlarda ise doğrulama deneyleri yapılmıştır. En yüksek logaritmik azalma tespit edilen optimum basınçlama parametreleri belirlenerek doğrulama deneyleri aşağıda verilen parametre aralıklarında yapılmıştır. Basınç uygulamaları 300, 350 ve 450 MPa'da -10 °C ve 20 °C sıcaklık aralığında, 5, 10, 15 dk süre ile gerçekleştirilmiştir. İdeal olarak, yatırım maliyetlerini azaltmak ve etin renk ve tekstürel özelliklerinin minimum değişimi amaçlandığından maksimum çalışma basıncı bu çalışmada 450 MPa olarak seçilmiştir. Tüm basınçlama deneyleri her parametrede üç kez tekrarlanmıştır. Her mikroorganizma için ön denemelerde elde edilen maksimum inaktivasyon sağlanan parametreler farklı olmuş bu nedenle doğrulama deneylerinde bazı çalışmalar farklı çalışma parametrelerinde yapılmış olup, Şekil 3.3'te çalışma planında gösterilmiştir.

### **3.2.5. Mikrobiyolojik analizler**

#### **3.2.5.1. Mikroorganizmaların sayısı**

Kontrol ve basınç uygulanmış numuneler (10 g), 90 ml PBS pH 7,1 ile karıştırılmış ve 1 dk boyunca 200 rpm'de stomacher (model Seward 400, İngiltere) içinde homojenize edilmiştir. Seri dilüsyonlar PBS pH 7,1 kullanılarak hazırlanmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı: TMAB sayımı için ekimler Plate Count Agar'a (PCA) (Merck, Almanya) yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 24-48 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. *E. coli* 25922 sayımı için ekimler Plate Count Agar'a (PCA) (Merck Almanya) ve TBX (Merck, Almanya) Agar'a yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 4 saat boyunca 30 °C ve arkasından 20 saat boyunca 44 °C'de inkübe edilmiştir. *S. typhimurium*14028 sayımı için ekimler Plate Count Agar'a (PCA) (Merck Almanya) ve XLD

(Scharlav Spain) Agar'a yapılmıştır. Ekim yapılan petriyer 48 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. *L. innocua* 33090 sayımı için ekimler Plate Count Agar'a (PCA) (Merk Almanya) ve PALCAM (Merck, Almanya) Agara'a yapılmıştır. Ekim yapılan petriyer 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir (Bulut 2014a)

Patojen mikroorganizmaların sayımı: Hesaplamalar için üç sayımın ortalama değerleri kullanılmıştır. *E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. innocua* sayımı, herhangi bir zenginleştirme adımı olmaksızın gerçekleştirilmiştir. Çünkü YHB işleminden önce, kıyılmış sığır etinde hasarlı *E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. innocua* hücrelerinin olmadığı varsayılmıştır. Bu nedenle bu çalışmada sığır kıymasındaki basınçlanmayan örneklerdeki patojen sayısı göz önünde bulundurulmalıdır. Mikrobiyal azalma, basınç işleminden önce başlangıçtaki mikroorganizma sayısı ile basınç işleminden sonra hayatta kalan mikroorganizma sayısı arasındaki logaritmik farka karşılık gelen logaritmik azalma olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.5.2. İnoküle edilmiş taze kıyma içinde *E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. innocua* hücresi olmayan kısmın hesaplanması:

Bulut (2014b) tarafından tanımlanan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Sığır kıyması *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 aşılmasından önce steril olmadığından, sonuçların daha doğru yorumlanabilmesi için *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* hücreleri göz önünde bulundurulduğunda (Ette *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* hücrelerinin bulunduğu dikkat edilmelidir) aşılama öncesi kıyma ( $N_{0E. coli, Salmonella, Listeria}$ ), seçici agarda gelişebilen *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* suşlarına ait olabilir. Başlangıçta *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 ile inoküle edilmeden önceki steril olmayan sığır etinde küçük bir fraksiyondan oluşan (< % 0,1'lük bir kesit), *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* olmayan hücrelerinin mikrobiyal hasarına dikkat edilmelidir. Bu amaçla, *E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. innocua* hücresi olmayanların yüzdesini hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$X_{Non-E. coli/Salmonella/Listeria} = \frac{N_{0TMAB} - N_{0patojen}}{N_{TMAB}} \times 100 \quad (3.1)$$

Değerler formülde yerine koyulduğunda kıyılmış ette (kıymada) küçük bir oranda (<% 0,1) *E. coli/Salmonella/Listeria* olmayan hücrelerinin olduğu ve bu *E. coli/Salmonella/Listeria* olmayan hücrelerin yaralanmasının değerlendirilmediğine dikkat edilmelidir.



X: İnoküle edilmiş sığır kıymalarındaki *E. coli/S. typhimurium/L. innocua* hücreleri olmayanların yüzdesidir.

$N_{OTMAB}$ : Sığır kıymasının *E. coli 25922/S. typhimurium/L. innocua* suşu ile inokülasyonundan önceki TMAB'dır,

$N_{Opatojen}$ : Sığır etinin inokülasyonundan önce *E. coli/S. typhimurium/L. Innocua* hücrelerinin sayısı

$N_{TMAB}$ : *E. coli 25922/S. typhimurium 14028/L. innocua 33090* ile sığır kıyma inokülasyonundan sonra TMAB'dır.

### 3.2.5.3. Mikrobiyal yaralanma

*E. coli*, *S. typhimurium* ve *L. innocua* inoküle edilmiş örneklerde basınç işlemi sonucu mikrobiyal yaralanma derecesini belirlemek için, mikrobiyal sayımlar seçici olmayan (PCA) ve seçici (TBX/XLD/PALCAM) besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Seçici besiyerleri yüksek basınç sonucunda hasar görmüş hücrelerin büyümesini bastırdıklarından seçici besiyerleri kullanılarak elde edilen sayımlar her zaman daha düşüktür. Bu nedenle, seçici besiyeri ile seçici olmayan besiyeri kullanılarak elde edilen mikrobiyal sayımlar arasındaki fark, mikrobiyal hasarın derecesinin bir göstergesi olarak alınmıştır. Mikrobiyal hasar Bulut (2014b) tarafından tanımlandığı şekilde aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$Yaralanma(\log kob/g) = (\log_{NA} - \log_{NBA}) - (\log_{NTMAB} - \log_{NBTMAB}) \quad (3.2)$$

$N_A$ : Aşılınmış sığır kıymasında basınç muamelesinden önce *E. coli/S. typhimurium/L. inocua* hücrelerinin sayısı (kob/g) (gram başına koloni oluşturanbirim).

$N_{BA}$ : Aşılınmış sığır kıymasında basınç muamelesinden sonra *E. coli/S. typhimurium/L. innocua* hücrelerinin sayısı (kob/g) (gram başına koloni oluşturan birim).

$N_{TMAB}$ : Aşılınmış sığır kıymasında basınç muamelesinden önce TMAB hücrelerinin sayısı gram başına koloni oluşturan birim (kob/g).

$N_{BTMAB}$ : Aşılınmış sığır kıymasında basınç muamelesinden sonra TMAB hücrelerinin sayısı gram başına koloni oluşturan birim (kob/g).

### 3.2.6. Kontrol ve basınçlanmış örneklerin renk analizi

Kıymada renk ölçümleri Konica Minolta modeli CM-5 kolorimetre (MinoltaMABo, Ltd, Osaka, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler, 0,3 cm çapındaki bağlantı noktası, D65 aydınlatma kaynağı altında ve 10° Standart gözlemci açısı kullanılarak yapılmıştır. CR-A44 kullanılarak kalibre edilmiştir. Her deney için üç paralel örnek hazırlanmıştır. Tüm örnekler yaklaşık 25 °C sıcaklıkta 20 dk bekletildikten sonra petri kabına koyulup homojen bir karışım elde edilinceye kadar yaklaşık 1 dk bir spatula ile karıştırılarak oksijenle teması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler oda sıcaklığında (25 °C) renk ölçümleri için cihazın petri kabının içine yerleştirilerek ölçümleri yapılmıştır. CIE L\* (parlaklık), a\* (kırmızılık) ve b\* (sarılık) kıyılmış sığır eti değerleri her örnek üzerinde üç kez ölçülmüş ve üç okumanın ortalaması kaydedilmiştir. Renk koordinatları CIE-LAB sistemine göre gösterilmiştir. Açıklık (L\*), kırmızılık (a\*) ve sarılık (b\*). Toplam renk farklılığı ( $\Delta E$ ) aşağıdaki bağıntı kullanılarak hesaplanmıştır (Jung ve ark. 2003). Araştırmalar işlem görmemiş kontrol örnekleriyle karşılaştırmalı olarak yürütülmüş ve  $\Delta E$  hesaplanması için, basınçlanmamış örneklerin renk değerleri kullanılmıştır (Bulut 2014b)

$$\Delta E = [(L^*-L_0)^2 + (a^*-a_0)^2 + (b^*-b_0)^2]^{1/2} \quad (3.3)$$

### 3.2.7. Kontrol ve basınçlanmış örneklerin tekstür analizi

Kıyma haline getirilen etler aynı gün içerisinde petri plakalarına (4 cm çap, 1 cm yükseklik) hava kalmayacak şekilde yerleştirilmiş ve vakum paketlenme yapılmıştır. Et örneklerinin yarısı - 21,0 ±5 °C'de 24 saat dondurucu modda diğer yarısı +4,0 ±2 °C'de 24 saat bekletilerek dondurulmuş (D+) ve dondurulmamış (D-) örnekler hazırlanmıştır. Ayrıca basınç sonrası örnekleri ile kontrol örnekleri 1 dk süre ile spatula ile şekli değiştirilmek suretiyle yeniden şekillendirilerek tekrar tekstür analizleri yapılmış ve bu örneklerin sonuçları kontrol ve sadece basınçlı örneklerin sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Doku profil analizi için TA. HD. PLUS TekstürAnalyser (Stable Microsystems, UK) cihazı kullanılarak Bourne (1978) tarafından önerilen ölçme yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla seçilen test hızı 1,2 mm/s seçilmiş ve 100 mm çapında silindirik prob kullanılarak orijinal yüksekliğinin % 50'si kadar sıkıştırılmıştır. Trigger force 5 g ve iki sıkıştırma arasındaki bekleme süresi 5 s olacak şekilde ölçümler yapılmıştır. Her parametre için 3 ölçüm yapılarak ortalama değerler hesaplanmıştır. Sertlik, sakızimsılık, yapışkanlık, çiğnenebilirlik, bağlılık, elastikiyet, esneklik parametreleri değerlendirilmiştir.

### 3.2.8. Raf ömrü çalışmaları

#### a) Örneklerin hazırlanması:

Raf ömrü deneylerinin örneklerinin hazırlanması, paketlenmesi 3.2.1 bölümünde belirtildiği şekilde yapılmıştır. İnoküle edilecek olan örnekler *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 kültürleri ile 3.2.2'de belirtildiği şekilde inoküle edilmiştir. İnokulasyon yapılan ve yapılmayan tüm örnekler paketleme sırasında yaklaşık 4 saat oda sıcaklığında kalmıştır. Paketleme işlemlerinin tamamı yaklaşık 8 saatte tamamlanmış ve basınçlama yapılacak olan tüm örnekler aynı gün içersinde basınca tabi tutulmuştur.

#### b) Raf ömrü boyunca dondurucu ve soğutucuda bekletme

Basınç uygulanan örneklerin tamamı (BD-, BD+) ve kontrol (KD-) grubu  $+4,0\pm 2$  °C'de soğutucuda 1-45 gün boyunca depolanmıştır. Dondurulmuş kontrol (KD+) grubu örnekleri ise  $-21,0\pm 5$  °C'de depolanmıştır. Depolama sıcaklıkları (Huato HE800, Çin) termometre ile her üç saniyede kayıt alınarak izlenmiştir.

#### c) İnokulasyon yapılan kıyma örneklerinde mikrobiyal sayımlar

İnokulasyon yapılan kıyma örneklerinde TMAB, *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 sayımları yapılmıştır. 1., 3., 7., 15., 30. ve 45. günlerde aynı gün içerisinde TMAB, *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 sayımları sırasıyla PCA, TBX, XLD, PALGAM besiyerinde gerçekleştirilmiştir. İnokulasyon yapılmayan örneklerde ise *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* var/yok analizleri gerçekleştirilmiştir. Raf ömrü boyunca ayrıca renk, tekstür, tiyobarbutirik asit ve pH analizleri yapılmıştır. Araştırmalar işlem görmemiş kontrol örnekleriyle karşılaştırmalı olarak yürütülmüştür. Her analiz üç paralel örnek ile çalışılmıştır.

#### d) İnokulasyon yapılmamış kıyma örneklerinde Var/Yok analizi:

*Salmonella*: ISO 6579 metoduna göre yapılmıştır. *Salmonella* spp. varlığının tespiti için 25 g kıyma örneği 225 ml tamponlanmış peptonlu su (buffered ISO 6579 Merck) ile 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Ön zenginleştirme yapılan örneklerden 0,1 ml alınarak 10 ml'lik Rappaport-Vassiliadis besiyerine (Merck) ve 1 ml alınarak 10 ml'lik Mülle Kauffmann tetrathionate/novobiocin sıvı (MKTTnbroth) besiyerine aktarılmış ve sırasıyla 41,5 °C'de 24 saat ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Zenginleştirme işleminden sonra seçici ayırt edici Xylose Lysine Deoxycholate Agar (ScharlavSain) ve Brilliant Green Agar (Merck) besiyerlerine çizim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra şüpheli kolonilere doğrulama testleri uygulanmıştır. Biyokimyasal testlerden TSI'da glukoz, gaz, hidrojen sülfür, lizin dekarboksilasyon pozitif sonuç verenler ile serolojik o-Vi-H antijeni testlerinde pozitif sonuç gösteren örnekler *Salmonella* olarak yorumlanmıştır.

*E. coli*: ISO16654:2001 metoduna göre yapılmıştır. *E. coli* varlığının tespiti için 25 g kıyma örneği 225 ml tamponlanmış peptonlu su ile homojenize edilmiştir. Dilüsyon hazırlanarak kromojenik cromocult TBX (Merck) Agar'a inokule edilmiştir. Yüzeğe yayma yöntemi ile ekim yapılan petriler 30 °C'de 4 saat canlandırma işleminden sonra 20 saat 44 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Mavi koloniler *E. coli* olarak tanımlanmıştır.

*Listeria*: ISO 11290 metoduna göre yapılmıştır. *Listeria* spp. varlığını tespit etmek için 25 g kıyma örneği 225 ml (1/2) kuvvette ön zenginleştirme (fraser broth) besiyerine eklenmiş ve 30 °C'de 24 saat inkübasyon yapıldıktan sonra Oxford ve PALGAM Agar'a sürme ekim yapılmıştır. Aynı zamanda 10 ml (1/1) kuvvette fraser broth'a 0,1 ml ilave edilmiş ve 37°C 48 saat inkübe edilmiştir. PALGAM Agar'da 37 °C'de 48 saat inkübasyondan sonragörülen tipik koloniler TSA-YE Besiyeri'ne ekilmiş ve kolonilere biyokimyasal testler uygulanmıştır. Gram pozitif, katalaz pozitif ve oksidaz negatif olanlar *Listeria* spp. olarak yorumlanmıştır.

e) Raf ömrü örneklerinin renk ve tekstür analizleri: Analizler bölüm 3.3 ve 3.4'te, renk ve tekstür analizimetodu kısmında anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

f) Yağ, pH, TBA analizleri:

*pH analizi*: Örnek ağırlığı 10 g olarak tartılmış kıyma örnekleri 100 ml saf su ilave edilerek, 1 dk 200 rpm'de Stomacher'da (400 sirkilatör SEWARD) homojen hale getirilmiştir. Tampon çözelti ile ayarlanmış pH metre (S220Metter-Toledo 8603 Switzerland) ile pH değeri Gökalp ve ark. (2000)' nın belirttiği yöntemle ölçülmüştür.

*Yağ analizi*: Soxhlet Metoduna göre yapılmıştır. Örnekler etüvde (MEMMERT IN 110) 105 °C'de 1,5 saat tutularak kurutulduktan sonra tartımlar yapılmış, havanda öğütülerek hassas terazide tartılarak kartuş içerisine alınmıştır. Soxhlet cihazı 5-6 saat çalıştırılmıştır. Süre sonunda balon etüvde bekletilmiş ve ardından desikatörde soğutulmuştur. Balonun son ağırlığı tartılarak yağ miktarı % yağ olarak hesaplanmıştır (Gökalp ve ark. 2000).

*TBA analizi*: Örneklerdeki yağın oksidasyon düzeyi 2- tiobarbiturk asit yöntemi ile belirlenmiştir. Ölçüm Tarladgis ve ark. (1960) tarafından tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Homojenize edilen örnekten 10 g tartılarak 1000 ml'lik balona aktarılmıştır. Örneğin üzerine 97,5 ml saf su, 2,5 ml 4N HCl çözeltisi, kaynama taşı ve gliserol ilave edilerek balon geri soğutucuya bağlanmıştır. Destilasyon işlemi gömlekli ısıtıcıda gerçekleştirilmiştir. Destilasyona 50 ml destilat toplanana kadar devam edilmiştir. Cam tüplere 5 ml destilat ve üzerine 5 ml TBA ayırıcı (0,2883 g TBA, 100 ml % 90'lık glasiyel asetik asit) eklenerek kapakları kapatılmıştır. 5ml saf su üzerine 5 ml TBA ayırıcı eklenerek kör hazırlanmıştır. Hazırlanan tüpler kaynayan su banyosunda 35 dk tutulup, soğutulduktan sonra spektrofotometrede 538 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Elde edilen absorbans

değeri 7,8 faktörü ile çarpılarak 1000g örnekteki mevcut malonaldehit miktarı mg olarak saptanmıştır. Örneklerin TBA değerleri Varlık ve ark. (1993)'nda bildirilen kriterlere göre değerlendirilmiştir.

$$\text{TBA değeri ( mg malonaldehit/kg örnek )} = 7,8 \times A$$

$$A = 538 \text{ nm'de absorbens değeri}$$

### 3.2.9. Pişirme yöntemi ve pişirme kayıpları analizi

Analizden önce kıyma örnekleri dondurucudan çıkarılarak  $4,0 \pm 2$  °C'de çözünmeye bırakılmıştır. Kontrol ve basınçlanmış (350 MPa, 10 dk, 10 °C) örnekler vakum poşetli olarak soğutucuda bekletilmiştir. Tüm örnekler laboratuvar ortamında aynı anda açılarak % 2 civarında tuz ve % 0,1 karabiber eklenerek 20 g ağırlığında köfte haline getirilmiştir. Izgarada 160 °C sıcaklıkta pişirilmiştir. Her iki yüzde 3 dk olmak üzere pişirme gerçekleştirilmiştir. Pişirmeden önce ve sonra köfte örneklerinin ağırlıkları tartılmıştır. İç sıcaklık, bir dijital tarama termometre (Testo 205) kullanılarak izlenmiştir. Örnekler 25 °C'de soğumaya bırakılmış ve daha sonra pişirme kaybının yüzdesini belirlemek için yeniden tartılmıştır (Yılmaz 2005).

### 3.2.10. Duyusal analiz

10 panelist Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden seçilmiştir. Panalistlerin sunulan örneği beğeni dereceleri ölçüt olarak alınmış, sonuçlar dokuz beğeni derecesi üzerinden hazırlanan iki skala ile değerlendirilmiştir. 1. Skala: Puanlama 0 ve 9 arasında yapılmıştır. 2. Skala: Puanlama 1 ve 9 arasında yapılmıştır (Amsa,1978;IFT 1985).

**Çizelge 3.1.** Duyusal analiz puanlama tablosu

Sertlik	Elastik Değil (0)		Elastik (9)
Acılık	Hissedilmez (0)	Hissedilir (1-5)	Fazla Hissedilir (5-9)
Koku	Hissedilmez (0)	Hissedilir (1-5)	Fazla Hissedilir (5-9)
Ekşilik	Hissedilmez (0)	Hissedilir (1-5)	Fazla Hissedilir (5-9)
Genel Kanı	Beğenmedim (0)		Beğendim (9)
Sıklık	Sıkı Değil (1)		Oldukça Sıkı (9)
Aroma	Zayıf (Hoş Değil) (1)		Oldukça Güçlü (9)
Yoğunluğu			
Sululuk	Oldukça Kuru (1)		Oldukça Sulu (9)
Genel lezzet	Oldukça Lezzetsiz (1)		Oldukça lezzetli (9)

### 3.2.11. Elektron mikroskobu ile görüntü alma

*E. coli* 25922 kültürü Edirne Tarım İl Müdürlüğü Mikrobiyoloji biriminden temin edilmiştir. Kültür dondurucuda (-80 °C) % 30 (v/v) steril gliseroliçinde muhafaza edilmiştir. Örneklere 350 Mpa ve 450 Mpa basınç uygulanarak hücre membran yapılarındaki hasar ve değişim tespit edilmeye çalışılmıştır. TSB (Tryptic Soy Broth)'ta, 37 °C 18-20 saat inkubasyon yapılmıştır. Süspansiyon steril flakonlara aktarıldıktan sonra *E. coli* 25922 kontrol örnekleri ve basınçlanmış örnekler 10,000 x g'da 10 dk 4 °C'de santrifüjlenerek hazırlanmış ve bir kez 150 ml steril tamponlanmış damıtılmış su ile yıkanmıştır. pH 7,4'de 1 ml 0,1 M fosfat tampon çözeltisi içinde yeniden süspansiyon edilmiş ve iki defa daha yıkanmıştır. Hücreler taramalı elektron mikroskobunda 10 kV'da (FEI, QUANTA FEG 250) incelenmiştir (Kaletunç ve ark. 2004)

### 3.2.12. İstatiksel analiz

Bu çalışmada durum, basınç, sıcaklık ve süre bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Değişken parametrelerin [durum (D-/D+), basınç, süre, sıcaklık] sonuçlar (log azalma, yarananma, renk, tekstür vb) üzerine etkisi ve parametreler arasındaki interaksiyonların anlaşılması için SPSS16 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçları karşılaştırılan bağımlı değişkenlerin sayısına göre tek yönlü (tek yönlü ANOVA), çift yönlü varyans analizi (iki yönlü ANOVA) ve çok değişkenli varyans analizi (MANOVA) ile değerlendirilmiştir. Elde edilen WiksLamda tablosuna göre istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) etkiye sahip bulunan faktörlerin büyüklüğü  $\eta^2$  değerine göre yorumlanmıştır. Farklılıkların belirlenmesi varyansların eşit olup olmama durumuna göre Tukey HSD/ Tamhane T2 çoklu karşılaştırma testleri yapılmıştır. Değişkenlerin anlamlılığı  $P<0,05$  ten küçük olma durumunda bağımlı değişkenler üzerinde anlamlı bir değişiklik olarak yorumlanmıştır. Raf ömrü çalışmalarının sonuçları dondurulmuş/dondurulmamış taze ve basınçlanmış kıymadan yapılmış pişirilmiş köfte örneklerinde duyusal puanlama sonuçları tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiş olup Tukey Testi uygulanmıştır. Tablo verileri için standart sapmaların hesaplanmasında Microsoft® Excel® 2013 (Microsoft Corporation, ABD) kullanılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Taze Kıyma Örneklerinde TMAB, *Listeria*, *Salmonella* ve *E. coli* Seviyesi

Hijyenik koşullarda elde edilen kıymalarda, toplam floranın  $<10^6$  kob/g olması gerekmektedir (Zorba 2010). Bu çalışmada örneklerde TMAB seviyesi yaklaşık  $10^5 \pm 1,08$  kob/g tespit edilmiş olup, bu değerler yasal gereklilik sınırlarının altındadır.

Et ve et ürünlerinin tüketimi sonucu halk sağlığı açısından risk oluşturabilen önemli patojen mikroorganizmalar arasında *E. coli*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli O157: H7* sayılabilmektedir. *Listeria* spp. soğukta üreyebilme yeteneğine sahip bir mikroorganizma olup, kıymalarda *Listeria* kontaminasyonu karkas ya da parça etten daha fazladır (Zorba 2010). Ayrıca Fantelli ve Stephan (2001) İsviçre’de 400 et örneğinin % 10,8 düzeyinde ve Garrido ve ark. (2009) İspanya’da 783 hazır et ürününün, % 8,5 düzeyinde *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmektedir.

Bu çalışmada basınçlamadan önce yapılan mikrobiyolojik analizler sonucu elde edilen sayımlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. İnokule edilmiş örneklerde *Listeria* spp.  $1,89 \pm 0,81$  log kob/g tespit edilmiş olup örneklerin % 11’inde *Listeria* varlığına rastlanılmıştır. Bu sonuçlar zenginleştirme olmadan spesifik besiyerinde sayım yapılarak belirlenmiştir. Bu nedenle diğer araştırmacıların elde ettiği düzeyden düşük tespit edilmiş olabilir veya çalışmalarda kullanılan et, hayvanın daha izole bölgesi olan bonfile kası olması ve etin mezbahadan kontrollü şartlar altında alınmasından kaynaklanmış olabilir.

Günümüzde *Salmonella* spp.’dan kaynaklanan gıda infeksiyonları A.B.D ve birçok Avrupa ülkesinde tüm gıda infeksiyon ve intoksikasyonları içerisinde genellikle ilk sıralarda yer almaktadır. Bu çalışmada inokulasyon yapılmayan örneklerde *Salmonella* spp. izole edilmemiştir (Bu sonuçlar zenginleştirme olmadan spesifik besiyerinde sayım yapılarak belirlenmiştir). Yıldız (2007), kıyma örneklerinin % 25 düzeyinde *Salmonella* ile kontamine olduğunu vurgulamıştır. Li ve ark. (2004) bizon karkaslarından alınan 355 örnekte % 3,94, benzer şekilde, Little ve ark. (2008), İngiltere’de çiğ et örneğinde % 2,4 düzeyinde *Salmonella* spp. kontaminasyonu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra Abbassi ve ark. (2011), örneklerin % 10,7’sinde, Mrema ve ark. (2006) ise % 20’sinde *Salmonella* spp. izole ettiklerini, Atasever ve Atasever (2014) ise araştırmalarında *Salmonella* spp. izole etmediklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, kontrol örneklerinin % 32,5’inde *E. coli* varlığı tespit edilmiş olup, düzeyi ortalama  $4,18 \pm 1,07$  log kob/g tespit edilmiştir.

Çeşitli çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar; işletmenin fiziksel yapısı, üretim politikası, işletmede kullanılan alet ekipmanın özellikleri, çalışanların hijyen bilgisi, ürünün ambalaj özelliği gibi pek çok faktörden kaynaklanmış olabilir.

#### 4.2. İnokülasyondan Önce ve Sonra Taze Kıyma Örneklerinin Mikrobiyal Yükü

Sığır kıymasının işlem öncesi mikroorganizma seviyesi inoküle edilen ve edilmeyen her örnek için belirlenmiştir. *E. coli* 25922/*S. typhimurium* 14028/*L. innocua* 33090 ile inokulasyon öncesi sığır eti kıymasının mikrobiyal yükü;  $N_{0TMAB}$  (genel besiyerinde) ve *E. coli*, *L. innocua* (seçici besiyerinde), sırasıyla ortalama  $5,32 \pm 1,08$  kob/g,  $4,18 \pm 1,07$  kob/g,  $1,89 \pm 0,81$  log kob/g olarak saptanmış olup, *S. typhimurium* 14028 (seçici besiyerinde) tespit edilememiştir (Çizelge 4.1).

Bu çalışmada *E. coli*, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090'nın sayımı seçici agarda ve herhangi bir zenginleştirme adımı olmadan yapıldığı için, inokulasyon yapılmamış sığır kıymasındaki *E. coli*, *Salmonella* ve *Listeria*'nin sayısı, subletal yaralanmış *E. coli*, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 hücrelerinden dolayı kısmen tahmin edilebilir. İnoküle edilen örneklerde TMAB sayımlarının yaklaşık  $1 \times 10^8$  kob/g ( $N_{TMAB}$ ) olduğu (Çizelge 4.1) vedeğerlerin denkleme(3.1), yerleştirilmesi ile popülasyonun çok küçük bir kısmının (% 0,1'den küçük) *E. coli*/*Salmonella*/*Listeria* hücresi olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, seçici olmayan PCA agar üzerinde belirlenen TMAB'ın *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 hücrelerinin sayısını büyük ölçüde temsil ettiği söylenebilir. Bu çalışmada başlangıçta *E. coli* 25922/*S. typhimurium* 14028/*L. innocua* 33090 ile inoküle edildikten sonra mikrobiyal popülasyonun küçük bir fraksiyonundan oluşan steril olmayan sığır eti kıymasında bulunabilecek *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* hücreleri dikkate alınmamıştır.

#### 4.3. Dondurma İşleminin Kıymanın Mikrobiyal Yükü Üzerine Etkisi

Deneysel çalışma, inokulasyon yapılmamış ve farklı bakteriler ile inokulasyon yapılmış kıyma örneklerinde mevcut mikrobiyal yüke atmosferik basınçta dondurma işleminin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Kıyma örneklerinin yaklaşık 18 saat boyunca  $-21,0 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de ve  $+4,0 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de depolanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. İnoküle edilmiş ve edilmemiş kontrol örneklerinde TMAB, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* düzeylerinin  $-21,0 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de yaklaşık 18 saat depolanan örneklerde değişmediği sadece seçici



besiyerinde *S. typhimurium* 14028 ve genel besiyerinde *L. innocua* 33090 sayıları arasında sırasıyla azalma ve artış tespit edilmiştir (P<0,05). Literatürde geleneksel dondurmasında farklı dondurma sıcaklıklarında mikroorganizma inaktivasyonu oluşmadığı çeşitli mikroorganizmalar için bildirilmiştir (Bolton ve ark. 2002, Picart ve ark. 2004, Bulut 2014b).Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular mevcut literatürde yer alan bulguları desteklemektedir.

**Çizelge 4.1.**İnokulasyon yapılan ve yapılmayan taze kıyma örneklerinde dondurmanın mikrobiyal yüke etkisi

	TMAB	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria</i>	(log kob/g)	
İ-D-	5,32±1,08a	4,18±1,07a	0,00±0,00	1,89±0,81a		
İ-D+	5,27±1,04a	4,26±1,03a	0,00±0,00	1,85±1,06a		
	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028		<i>L. innocua</i> ATCC 33090(log kob/g)	
	G.	S.	G.	S.	G.	S.
İ+D-	8,72±0,58a	8,51±0,45a	8,85±0,55a	8,54±0,23a	8,03±0,69b	8,03±0,25a
İ+D+	8,67±0,52a	8,69±0,42a	8,74±0,59a	8,30±0,32b	8,21±0,43a	7,99±0,36a

N=36 Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

İ-D-: inokulasyon yapılmamış +4 °C’de 24 saat depolanmış örnekler

İ-D+:inokulasyon yapılmamış -21 °C’de 24 saat depolanmış örnekler

İ+D-:inokulasyon yapılmış +4 °C’de 24 saat depolanmış örnekler

İ-D+:inokulasyon yapılmış -21 °C’de 24 saat depolanmış örnekler G: Genel BesiyeriS: Seçici Besiyeri

#### 4.4. YHB’ın Kıyma Örneklerine İnokule Edilen Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi

##### 4.4.1. YHB’ın *L. innocua* 33090 üzerine etkileri

##### 4.4.1.1. Sabit sıcaklık, farklı basınç düzeyi ve farklı basınçlama sürelerinde YHB’ın *L. innocua* 33090 üzerine etkileri

Farklı basınç ve farklı sürelerde 10 °C’de, YHB işleminin *L. innocua* 33090 üzerindeki etkilerine ait çalışma bulguları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** *L. innocua* 33090 inokule edilmiş taze kıymanın 10 °C’de YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Süre	Basınç (MPa)	Genel Besiyeri		Seçici Besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
5 dk	300	3,47±0,50	3,03±0,11	3,67±0,36	3,14±0,08	0,19±0,14	0,11±0,09
	350	3,60±0,38	3,30±0,20	3,77±0,05	3,42±0,20	0,14±0,43	0,12±0,26
	450	3,87±0,18	4,19±0,01	4,71±0,15	4,34±0,08	0,84±0,05	0,15±0,09
10 dk	300	3,69±0,17	3,70±0,12	3,84±0,09	3,75±0,08	0,15±0,08	0,05±0,04
	350	4,14±0,19	3,90±0,20	4,30±0,13	4,00±0,19	0,16±0,05	0,10±0,10
	450	5,21±0,08	4,14±0,03	5,89±0,21	4,24±0,05	0,67±0,17	0,10±0,02
15 dk	300	3,62±0,02	4,05±0,04	4,01±0,08	4,23±0,03	0,39±0,08	0,18±0,06
	350	4,01±0,42	4,18±0,04	4,67±0,06	4,44±0,03	0,66±0,39	0,26±0,01
	450	4,63±0,56	4,67±0,28	5,11±1,37	4,83±0,06	0,48±0,81	0,16±0,24

N=3 İ-KD-:5×10<sup>8</sup>İ+KD- :1×10<sup>7</sup>İ+KD+:9×10<sup>6</sup> kob/g(İ- veİ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:dondurulmamış, D+:Dondurulmuş.

Bu çalışmada *L. innocua* 33090 üzerine farklı basınç değerlerinde basınç süresinin etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. İstatiksel analiz sonuçlarına göre genel besiyeri, seçici besiyeri ve yaralanma için P<0,05 ve R<sup>2</sup> değerlerisırasıyla 0,868, 0,817, 0,597 elde edilmiştir.

Genel besiyerinde *L. innocua* inaktivasyonu için durum ( $\eta^2$  0,230), süre ( $\eta^2$  0,629), basınç ( $\eta^2$  0,681), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,324) ve basınç\*süre ( $\eta^2$  0,337) faktörleri önemli bulunmuştur (P<0,05). Basınç ve süre en önemli faktörler olarak saptanmıştır. Tüm basınç değerleri ortalamalarına göre 10 dk ve 15 dk YHB ile elde edilen mikrobiyal azalma ortalamaları birbirine daha yakınken, en düşük inaktivasyon (3,03 log kob/g) 5 dk basınçlama süresinde gerçekleşmiştir (P<0,05). Çizelge 4.2’de belirtildiği gibi genel besiyerinde en yüksek inaktivasyon (5,21 log kob/g) 450 MPa (10 dk) YHB ile elde edilmiştir. Durum faktörünün *L. innocua* inaktivasyonunda önemli (P<0,05) olduğu fakat etki değerinin düşük olduğu gözlenmiştir. tam olarak (Şekil 4.1).

Seçici besiyerinde inaktivasyon sonuçlarına bakıldığında durum ( $\eta^2$  0,400), süre ( $\eta^2$  0,629), basınç ( $\eta^2$  0,631), basınç\*durum ( $\eta^2$  0,365), basınç\*süre ( $\eta^2$  0,306) ve durum\*basınç\*süre ( $\eta^2$  0,261) faktörleri önemli bulunmuştur (P<0,05). *L. innocua* 33090 300-350 MPa’da azalma ortalamaları benzer (P>0,05), 350-450 MPaortalamaları arasında farklılık görülmüştür (P>0,05). Çizelge 4.2’de belirtildiği gibi 450 MPa, 10 dk YHB, D- örneklerinde *L. innocua* 33090’da en yüksek inaktivasyon (5,89 log kob/g) sağlanan parametre olmuştur. Basınç değerlerinde elde edilen 10 dk ve 15 dk sonuçları ortalamaları benzer bulunmuşken en

düşük inaktivasyon (3,14 log kob/g) 5 dk, 300 MPa YHB ile D+ örneklerde gerçekleşmiştir (P<0,05). Bu deneysel çalışmada D- örneklerde daha yüksek mikrobiyal azalma elde edildiği görülmekte olup basınçlama işlemi öncesinde dondurulan örneklerde 0,3-1,5 log kob/g (seçici besiyerinde) daha az mikrobiyal azalma elde edilmiştir (Şekil 4.1).

En yüksek yaralanma derecesi Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi 450 MPa'da tespit edilmişken (P<0,05), 300 ve 350 MPa'da yaralanma ortalamalarına göre benzer bulunmuştur (P>0,05). Durum ve basınç faktörü ile durum\*basınç etkileşimi bu çalışma parametrelerinde mikrobiyal yaralanmada önemli iken (P<0,05), süre faktörünün önemsiz olduğu görülmektedir (P>0,05). Seçici besiyerinde D- örneklerde D+ örneklere kıyasla daha yüksek mikrobiyal azalma elde edilmiş olmasına rağmen Şekil 4.1'deki yaralanma grafiğinde görüldüğü gibi D+ örneklerdeki yaralanma derecesi D- örneklere göre çok düşük bulunmuştur. Bu durum dikkat çekicidir. Yaralanma düzeylerinin basınç ve süre ile değişimi düzensiz olup sonuçlar bu çalışmada net olarak değerlendirilememiştir.

Ette *L. monocytogenes* inaktivasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda 400 MPa YHB ile farklı sürelerde birbirini desteklemeyen D değerleri elde edilmiştir (Mussa 1999, Tay ve ark. 2003, Ramaswamy ve ark. 2008). Bu araştırmacılar mikroorganizmaların basınçla inaktivasyon kinetiğinin sadece basınç değerlerine değil, aynı zamanda gıdanın çeşidi ve bileşimine bağlı olduğu konusunda görüş birliğine varmışlardır (Hugas ve ark. 2002). Yuste ve ark. (1999) yaklaşık 8 log kob/g *L. innocua* aşılınmış kanatlı etinde yaptıkları çalışmada, 350 MPa'da, 2 °C'de, 30 dk uygulamanın, 400 MPa'da (5 ile 10 dk) uygulamadan daha fazla mikrobiyal azalma sağladığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Simpson ve Gilmour (1997) 375 MPa'lık YHB'in, *L. monocytogenes* ile inoküle edilmiş kıyılmış ette 4-5 log kob/g azalmaya neden olduğunu, ancak sürenin 30 dk'ya kadar uzatılmasının, *L. monocytogenes*'te ek inaktivasyon sağlamadığını bildirmişlerdir. Bunun aksine Chen (2007), basınçlama süresi arttıkça, *L. monocytogenes*'in ölüm oranının arttığını bildirmiştir. Bununla birlikte Cuevas ve ark. (2013). *L. monocytogenes* CECT 5672 suşu üzerinde yapılan çalışmada, 25 °C' de 350 MPa basınçta 3 dk'da 2 log kob/ml, 16 dk süre ile YHB ile 7 log kob/ml azalmabildirmişlerdir.

Koseki ve ark.(2007), 10<sup>4</sup> kob/g *L. monocytogenes* aşılınmış pişmiş jambonda 400 - 600 MPa aralığındaki YHB ile inaktivasyon sonrası sadece 10 kob/g sonuçla etkili olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Myers ve ark. (2013), hindi göğüs etinde ise YHB (600 MPa, 3 dk) ile *L. monocytogenes*'te 3,85-4,35 log kob/g azalma bildirmişlerken Patterson ve ark. (1995), dilimlenmiş jambonda YHB (375 MPa, 20 °C, 15 dk) ile 5 log kob/g azalma bildirmişlerdir.

Bu çalışmada yaklaşık 5,8 log kob/g azalma 450 MPa, 10 dk, 10°C YHB (Çizelge 4.2) ile elde edilmiş olup, sonuçlar Yuste ve ark (1999)'nın sonuçlarından düşük tespit edilmiştir. *L. innocua*'da elde edilen sonuçlar Myers ve ark. (2013)'tarafından bildirilenden daha yüksek iken Patterson ve ark. (1995)'nin sonuçlarından nispeten düşük tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2 sonuçlarına göre *L. innocua* 33090'da YHB öncesi dondurma inaktivasyonu artırmamıştır. Halbuki Gram(-) bakteri olan *S.typhimurium* 14028 ve *E. coli* 25922'de yapılan denemelerde D+ örneklerde D- örneklere kıyasla yüksek inaktivasyon elde edilmiştir. *L. innocua*'da elde edilen bu farklılık Gram(+) hücre duvar yapısına sahip olan *Listeria* spp.'nın kalın peptidoglikan tabakasının dondurulmuş örneklerde daha stabil hale gelerek dış etkenlere direnç göstermesi ve bunun aksine Gram(-) bakterilerde hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerin dondurma ile birlikte faz değişimine uğrayarak stabilitesini kaybedebileceği ve bunun sonucunda daha rijit hale gererek daha duyarlı olabileceği şeklinde açıklanabilir. Bu çalışmada sıfırın üzerindeki sıcaklıklardaki uygulamalarda D+ örneklerdeki mikrobiyal hücreler sadece gece boyunca dondurma ve basınçlama streslerine maruz bırakılmıştır. Dondurulmuş örneklerde belirgin inaktivasyon farkı sıfırın altındaki sıcaklıklarda, fazgeçiş olayları ile ilgili olabilir.

Birçok araştırmacı tarafından seçici ve genel besiyerlerinde elde edilen inaktivasyon farklılığı çeşitli mikroorganizmalar için mikrobiyal hasarın derecesinin bir göstergesi olarak alınmaktadır (Alpas ve ark. 2000, Picart ve ark. 2005, Cuevas ve ark. 2013).

Bu çalışmasonuçlarında *L. innocua*'da D- örneklerde 450 MPa işlem ile en fazla yaralanma düzeyleri gerçekleşmiş oluptüm basınç değerlerinde ve tüm sürelerde mikrobiyal yaralanma seviyesi D+ örneklerde D- örneklere kıyasladaha düşük bulunmuştur. Fakat bu çalışmanın genelinde *L. innocua*'nıyaralanma düzeylerinin düşük olması nedeni ile, çalışılan basınç, sıcaklık ve sürelerde ölümcül derecede hasarın gerçekleştiği söylenilebilir. Sonuç olarak D- örneklerde nispeten daha yüksek ölüm oranı (dondurmadan kaynaklı inaktivasyon durumu deney sonuçlarına göre düzensizdir) tespit edilen basınçlama işlemlerinde yaralanma derecesinin D+ örneklere kıyasla yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar bazı parametrelerde D- örneklerde D+ örneklere kıyasla gözlenen nispeten yüksek ölüm düzeyinin hasarlı hücrelerden kaynaklandığını, D+ örneklerde elde edilen ölüm oranının ise (yaralanma düzeyi çok düşüktü) ölümcül hasar seviyesinde ve daha etkili olduğunu düşündürmüştür.

#### 4.4.1.2. Sabit sürede farklı sıcaklık ve basınç değerlerinde YHB'nin *L. innocua* 33090 üzerine etkisi

Farklı basınç ve sıcaklıklarda sabit sürede (5 dk) YHB işleminin *L. innocua* 33090 üzerindeki etkileri ile ilgili çalışma bulguları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** *L. innocua* 33090 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Sıcaklık	Basınç (MPa)	Genel besiyeri		Seçici besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
10 °C	300	3,47±0,50	3,03±0,11	3,67±0,36	3,14±0,08	0,19±0,14	0,11±0,09
	350	3,60±0,38	3,30±0,20	3,77±0,05	3,42±0,20	0,17±0,43	0,10±0,02
	450	3,87±0,18	4,19±0,11	4,71±0,15	4,34±0,08	0,84±0,05	0,15±0,09
20 °C	300	3,04±0,23	2,89±0,18	3,21±0,15	2,98±0,17	0,17±0,09	0,09±0,03
	350	2,67±1,07	3,45±0,17	2,90±1,28	3,83±0,22	0,23±0,20	0,37±0,04
	450	3,98±0,99	4,45±0,39	4,46±1,19	4,53±0,43	0,48±0,34	0,08±0,11

N=3 İ- KD- : $1 \times 10^5$  İ+KD- : $7 \times 10^8$  İ+KD+ : $7 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Yukarıdaki çalışma *L. innocua* 33090 üzerine farklı basınç düzeylerinde sıcaklığın etkisini araştırmak için yapılmıştır. *L. innocua* 33090 ile yapılan ön deneme sonuçlarında sıfırın altındaki sıcaklıklarda elde edilen sonuçlar, sıfıra yakın (10 °C) sıcaklıklarda elde edilen sonuçlardan önemli ölçüde farklı olmadığından ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda çalışmanın teknik zorluklarından dolayı bu deneylerde sıfırın altındaki sıcaklıklarda çalışılmamıştır. Yukarıdaki verilerin istatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre genel besiyeri seçici besiyeri ve mikrobiyal yaralanma için  $P < 0,05$  ve  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,640, 0,654, 0,766 elde edilmiştir. Genel besiyerinde basınç ( $\eta^2$  0,564) ve durum\*basınç ( $\eta^2$  0,228) etkileşimi önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). *L. innocua* inaktivasyonunda 300 MPa ve 350 MPa inaktivasyon ortalamaları benzer ( $P > 0,05$ ) olup, 450 MPa YHB ile 4,12 log kob/g ortalama inaktivasyon seviyesi ile farklılık elde edilmiştir ( $P > 0,05$ ). 10°C YHB ile elde edilen azalma 20 °C'ye göre genel olarak yüksek tespit edilmişse de aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlenmiştir ( $P > 0,05$ ).

Seçici besiyerinde işlem faktörlerinden sadece basınç faktörünün ( $\eta^2$  0,604) etkili olduğu ( $P > 0,05$ ) görülmüştür. 300 MPa ve 350 MPa inaktivasyon sonuçları benzer bulunmuşken ( $P > 0,05$ ), 450 MPa'da tüm sıcaklık ortalamalarına göre 350 ve 300 MPa basınç sonuçlarından daha yüksek (4,7 log kob/g) azalma elde edilmiştir ( $P < 0,05$ ) (Çizelge 4.3). 10

°C’de 20 °C’ye göre nispeten daha yüksek ölüm düzeyi elde edilmiş olsa da bu farklılık önemli bulunmamıştır (P>0,05).

Mikrobiyal yaralanmada 300-450 MPa aralığında 10-20 °C’de YHB ile *L. innocua* 33090’ın yaralanma derecesi üzerine durum ( $\eta^2$  0,402), basınç ( $\eta^2$  0,431), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,530) ve basınç\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,298) faktörleri önemlibulunmuştur (P<0,05). D+ örneklerde daha düşük yaralanma düzeyi tespit edilmiştir (P<0,05). Sıcaklık faktörü *L. innocua* 33090 yaralanma derecesinde önemsiz (P>0,05) olsada 20°C’de yaralanma düzeyi 10 °C’ye oranla daha düşük gözlenmiş olup, sonuçlar düzensiz olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak 300-450 MPa basınç ve 10-20 °C sıcaklık aralığında YHB ile *L. innocua*’da çok düşük yaralanma düzeyi görülmektedir. Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi D- örneklerde D+ örneklere kıyasla elde edilen yüksek ölüm seviyeleri yaralanma düzeyinin daha yüksek olduğu parametreler olmuştur. Çizelge 4.2’de gösterilmiş olan *L. innocua* sonuçlarında da elde edilmiş olan benzeri durum, bu YHB çalışmasında da elde edilmiştir.

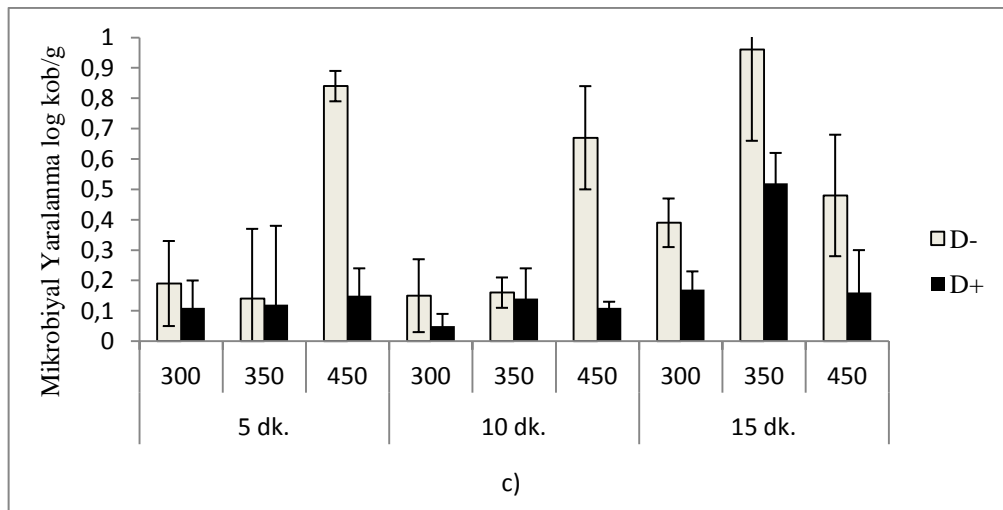
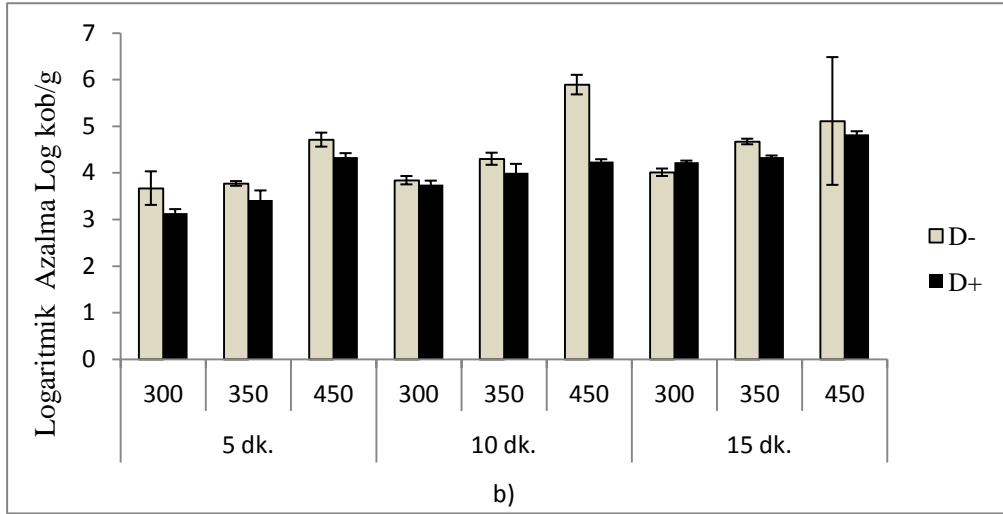
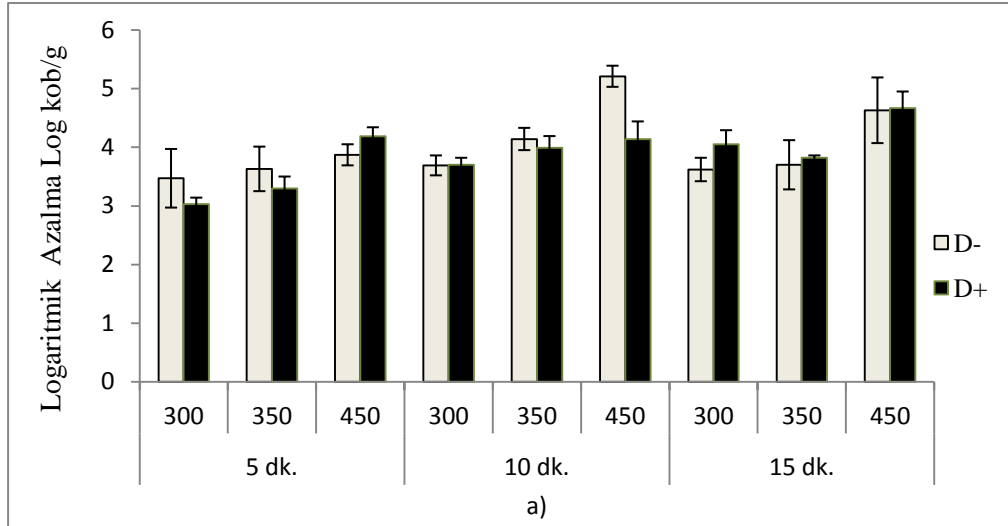
Düşük sıcaklıkta *Listeria* inaktivasyonunda meydana gelen artış ile ilgili olarak çalışmalar mevcuttur (Yuste ve ark 1999, Picart ve ark 2004). Sığır etinde Carlez ve ark. (1993) ve sütte Gervilla ve ark. (1997a) ile Ritz ve ark. (2000)’ nın çalışmalarında oda sıcaklıklarıyla karşılaştırıldıklarında, 2-10 °C arasında yapılan YHB uygulamalarının değişik mikroorganizmaların sayısında daha etkin bir azalma bildirilmişlerdir. Gervilla ve ark. (1997a), *L. innocua* inokule edilmiş sütte 100–500 MPa 15 dk YHB ile +4 °C’de, 25 °C işlemden daha düşük D değerleri aldığını bildirmişlerdir. Bunun aksine Bulut ve ark. (2014c) *L. innocua* aşılınmış tavuk etinde 0 °C’ye kıyasla 20 °C’de genel besiyerinde daha düşük inaktivasyon elde etmişlerdir. *L. innocua* aşılınmış tavuk etinde 200-400 MPa aralığında ve farklı sıcaklıklarda (0 °C, 20 °C, 40 °C) ve farklı sürede yaptıkları çalışmada basınç ve basınç süresinin etkisini önemli bulmuşlardır. Yazarların 400 MPa YHB ile elde ettiği sonuçlar bu çalışma sonuçları ile uyum içinde olup 300 MPa 20 °C sonuçlar bu çalışma sonuçlarından düşüktür.

Yuste ve ark. (1999) 8 log kob/g *L. innocua* aşılınmış kanatlı etinde YHB’in önemli bakterisidal etkiye sahip olduğunu ve 400 (2 °C, 30 dk) ve 450 (10 °C, 10 dk) MPa basınç sonrası gelişme tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Chen (2007), çeşitli sıcaklıklarda YHB ile *L. monocytogenes*’in basınç direncinin, sıcaklık 10-30 °C aralığının dışındaysa işlem sıcaklığına daha fazla bağımlı olduğunu bildirmiştir. *L. monocytogenes*’in 10 °C’de 30 °C’ye kıyasla basınca karşı biraz daha duyarlı olduğu, 10- 30 °C aralığında en çok basınca dirençli olduğu yönünde görüş bildirmişlerdir. 30 °C’nin üstünde *L. monocytogenes*’inin aktivasyonunu arttıran faktörün basınç ve sıcaklık etkileşimleri olduğunu, (0-30 °C’de 500

MPa (1 dk) ~ 1,0-1,6 log kob/g, 40 °C'de 4 log kob/g azalma, 50 °C'de 6 log kob/g azalma) bildirmişlerdir. Benzer şekilde Simpson ve Gilmour (1997), ortam sıcaklığında aynı basınç seviyesinde işlem gören ürünlere kıyasla, 45 °C'de YHB ile *L. monocytogenes* ölüm oranında bir artış tespit etmişlerdir. Sıfırın altındaki sıcaklıklar ile kombine edilmiş YHB teknolojisi önemli bir araştırma alanı olarak görünse de, mikrobiyal inaktivasyonun, buz kristali oluşumu, protein denatürasyonunun ve/veya bakteri membranlarındaki fosfolipidleri etkileyen basınca bağlı faz geçiş olaylarının etkisiyle artmış olup olmadığı açık değildir.

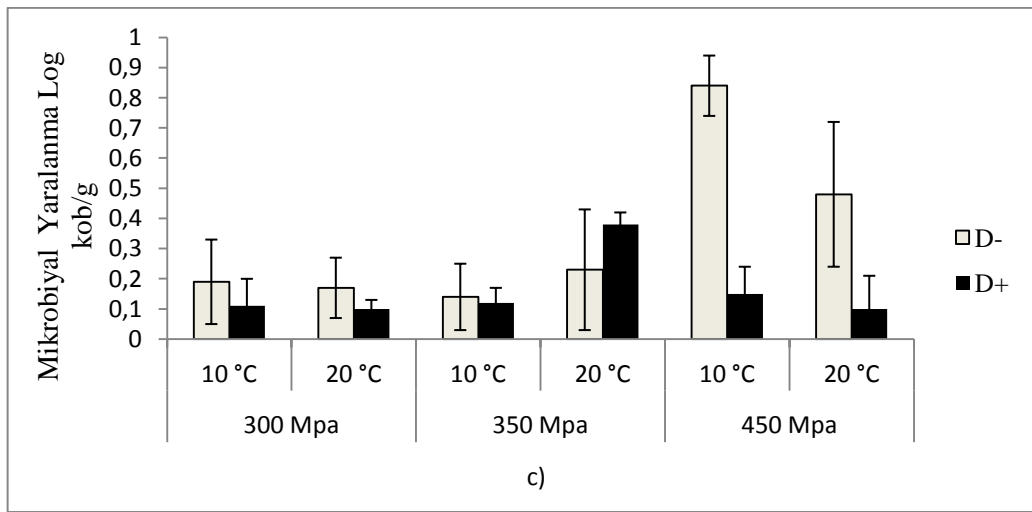
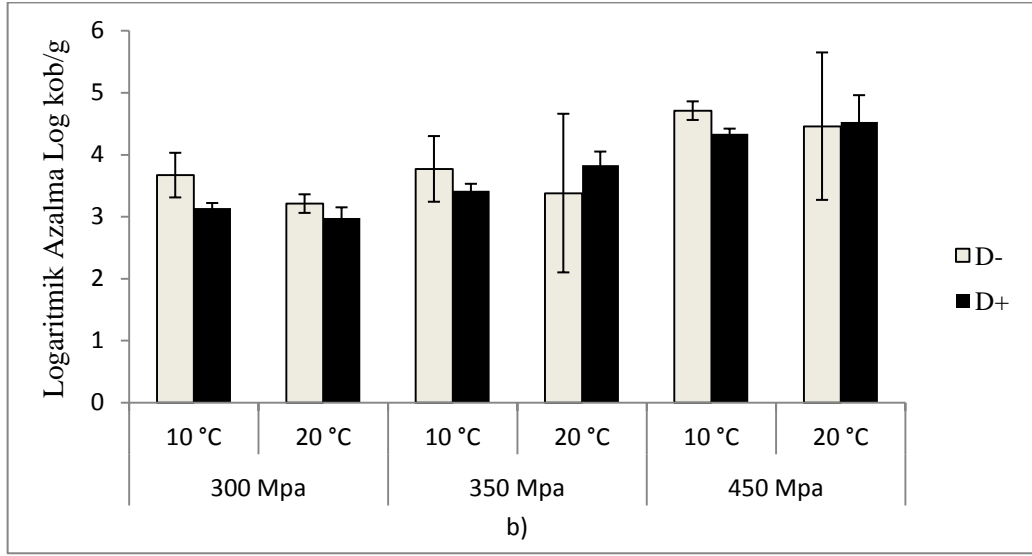
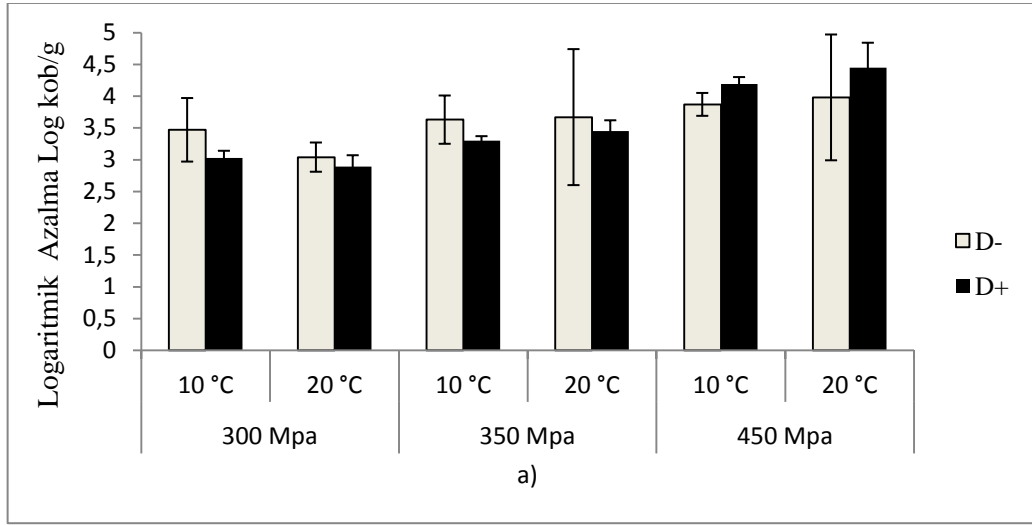
Luscher ve ark. (2004)'nın (-25 °C ile -45 °C sıcaklık ve 200 MPa ile 400 MPa aralığında) çalışmalarında *L. innocua* inaktivasyon oranını 200 MPa ve -45 °C'de dondurulmuş tampon çözeltide 3 log kob/g, dondurulmuş kıyma etinde 2 log kob/g tespit etmiş olup, mikrobiyal ölümlerin daha çok mekanik stres ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Picart ve ark. (2005), *L. innocua* aşılınmış somon kıymasında 207 MPa (-21 °C, 60 dk) YHB ile 1,1 log kob/g azalma kaydederken, herhangi bir buz oluşumuna imkan vermeyen 207 MPa (+4 °C ve 60 dk) YHB ile 0,7 log kob/g azalma bildirmişlerdir. Picart ve ark. (2004) basınç altında dondurulma olmaksızın sıcaklığın 20°C'den -3 °C'ye düşürülmesiyle tütülenmiş somon balığındaki *L. innocua* sayısında 0,4-0,9 log kob/g azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Çizelge 4.3'e göre seçici besiyerinde D- örneklerde 10 °C'de 20 °C'ye kıyasla, 300-450 MPa aralığında 0,2-0,8 log kob/g daha yüksek inaktivasyon elde edilmişken, 450 MPa'da sonuçlar benzer bulunmuştur. Ponce ve ark. (1998b) -15 ile 20 °C'de *L. innocua* ile aşılınmış sıvı yumurtada, 300 MPa'da, 20 °C ve -15 °C'de YHB ile inaktivasyonu sırasıyla 0,5, 1,5 log kob/g bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Ponce ve ark. (1998b), düşük sıcaklığın inaktivasyon artırıcı etkisinin, 400 MPa'nın üzerindeki basınçlarda kaybolduğunu ifade etmişlerdir. Carlez ve ark. (1993) ise *L. innocua* ve Patterson ve ark. (1995) *L. monocytogenes* inokule edilmiş kıyılmış ette sırasıyla 375 MPa (20 dk, 4 °C) ve 350 MPa (15 dk, 20 °C) YHB ile yaklaşık 6 log kob/g azalma bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *L. innocua* 33090 inaktivasyonu benzer parametrelerde Hajos ve ark. (2004) ve Luscher ve ark. (2004)'nın sonuçlarından daha yüksek iken, Patterson ve ark. (1995) ve Carlez ve ark. (1993)'nin sonuçlarından düşük elde edilmiştir. Çalışmada 5,8 log kob/g *L. innocua* 33090 inaktivasyonu 450 MPa (10°C, 10 dk), 4,5 log kob/g azalma ise 450 MPa (20 °C, 5 dk) YHB ile elde edilmiştir. Ayrıca çalışma sonuçları 10-20 °C aralığında literatür bilgisi ile uyum içinde olmakla birlikte, düşük sıcaklık ve yüksek basınç kombine uygulaması *L. innocua*'da 300 MPa'dan daha yüksek basınçlarda sinerjik etki göstermemiştir. Örneklerin dondurulması ek bir inaktivasyon sağlamamıştır (Şekil 4.2).



**Şekil 4.1.** *L. innocua* inokule edilmiş taze kıyamada 10 °C’de YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları





Şekil 4.2. *L. innocua* 33090 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yarananma derecesi sonuçları

#### 4.4.2. YHB'ın *S. typhimurium* ATCC 14028 üzerine etkileri

##### 4.4.2.1. Sabit sıcaklık, farklı basınç düzeyi ve farklı basınçlama sürelerinde YHB'ın *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisi

Taze kıymada farklı basınç ve sürelerde YHB işleminin *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisi ile ilgili çalışma bulguları Çizelge 4.4'de verilmiştir

**Çizelge 4.4.** *S. typhimurium* 14028'inokule edilmiş taze kıymada 10 °C'de YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Süre	Basınç MPa	Genel Besiyeri		Seçici Besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
5 dk	300	1,81±0,09	2,61±0,09	2,79±0,27	3,03±0,03	0,98±0,17	0,43±0,10
	350	2,66±0,24	3,37±0,46	3,6±0,38	3,9±0,57	0,93±0,25	0,53±0,24
	450	4,62±0,30	4,29±0,20	5,52±0,27	4,42±0,10	0,89±0,05	0,13±0,12
10 dk	300	2,33±0,44	2,46±0,16	2,50±0,35	2,60±0,18	0,17±0,09	0,14±0,22
	350	2,72±0,12	3,73±0,55	4,10±0,31	4,59±0,55	1,38±0,32	0,85±0,01
	450	4,31±0,54	4,27±0,69	4,60±0,52	4,85±0,71	0,29±0,02	0,56±0,03
15 dk	300	3,05±0,22	2,85±0,03	3,45±0,39	3,68±0,14	0,40±0,17	0,82±0,15
	350	3,41±0,52	3,60±0,12	4,44±0,13	4,97±0,08	1,02±0,65	1,37±0,14
	450	4,60±0,25	4,83±0,02	5,11±0,19	4,95±0,01	0,51±0,09	0,12±0,01

N= 3 İ- KD- : $3 \times 10^5$  İ+KD- : $1 \times 10^9$  İ+KD+ : $6 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Yukarıdaki çizelgede *S. typhimurium* 14028 üzerine farklı basınç düzeylerinde farklı basınç sürelerinin etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. İstatiksel analiz sonuçlarına göre genel besiyeri, seçici besiyeri ve mikrobiyal yaralanma için  $P < 0,05$  olup,  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,883, 0,932, 0,678 elde edilmiştir.

Genel besiyerinde basınç ( $\eta^2$  0,865), süre ( $\eta^2$  0,315), durum ( $\eta^2$  0,158), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,159) faktörleri *S. typhimurium* inaktivasyonunda önemli faktör olarak saptanmıştır ( $P < 0,05$ ). Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi *S. typhimurium*'da en yüksek inaktivasyon 4,83 log kob/g olup, 450 MPa, 15 dk YHB ile D+ örneklerde, en düşük inaktivasyon ise 1,81 log kob/g olup 300 MPa, 5 dk YHB ile D- örneklerde gerçekleşmiştir (Şekil 4.3).

Seçici besiyerinde ise basınç ( $\eta^2$  0,915), süre ( $\eta^2$  0,547), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,316), süre\*basınç ( $\eta^2$  0,449), durum\*süre\*basınç ( $\eta^2$  0,230) faktörleri, *S. typhimurium* 14028 inaktivasyonunda önemli olup ( $P < 0,05$ ),  $\eta^2$  değerlerine göre basınç faktörü en önemli faktör olup, durum faktörü önemsiz tespit edilmiştir ( $P > 0,05$ ). *S. typhimurium* 14028'da 5 ve 10

dk'daki inaktivasyon ortalamaları benzer ( $P>0,05$ ) olup, en yüksek inaktivasyon ortalaması 450 MPa'da (D- örneklerde 5,52 log kob/g) 5 dk'da gerçekleşmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.3).

Çizelge 4.4'te belirtildiği gibi en yüksek mikrobiyal yaralanma tüm süre ortalamaları dikkate alındığında (1,1 log kob/g) 350 MPa'da D- örneklerde gerçekleşmiştir ( $P<0,05$ ). Basınç ( $\eta^2$  0,485), süre\*durum ( $\eta^2$  0,220) ve süre\*basınç ( $\eta^2$  0,298) faktörleribu çalışma parametrelerinde mikrobiyal yaralanma içinönemliolmuştur ( $P<0,05$ ). Mikrobiyal yaralanma derecesi 5 ve 10 dk YHB ile D+ örneklerde oldukça düşük seviyede iken, D- örneklerde daha yüksek oluşmuştur. Fakat yaralanmaların düzeyleri düzensiz olup net olarak tespit edilememiştir (Şekil 4.3).

*S. typhimurium* 14028'da, 300, 350, 450 Mpa (5, 10 ve 15 dk) sonuçlarına göre 5 dk'da en yüksek inaktivasyon (5,52 log kob/g) seviyesine ulaşılmıştır. Patterson ve ark. (1995), 15 dk YHB ile 5 log kob/g azalma için *S. typhimurium*'da 350 MPa, basınca ihtiyaç duyduklarını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Morales ve ark. (2009), *S. enteritidis* ile aşılınmış tavuk etinde 400 MPa (15 dk) YHB ile 4,8 log kob/g, Aymerich ve ark. (2005) jambonda farklı et ürünlerinde, 400 MPa (10 dk) YHB ile yaklaşık 2-3 log kob/g azalma sağlamışlardır. Diğer bir araştırmada *S. enteritidis* aşılınmış kuru kür edilmiş jambonda 400, 500 ve 600 MPa (12 °C, 5 dk) YHB'den sonra, sırasıyla 1,06, 2,54 ve 4,32 log kob/g azalma gerçekleşmiştir (De Alba ve ark. 2012a). Söz konusu çalışmada gıdanın  $a_w$  değeri düşük olduğundan basınca karşı direnç oluşmuş olabilir. Bununla birlikte YHB ile inaktivasyonda farklı sonuçların yorumlanmasında mikrobiyal duyarlılık, gıda bileşimi ve fizikokimyasal özellikler etkili olup, düşük  $a_w$  uygulamanın antimikrobiyal etkinliğini azaltmakta ve mikrobiyal direnci artırmaktadır (Patterson, 2005). Ayrıca gıda matrisinin özelliklerinin yanı sıra, *Salmonellaserotipleri* arasında da basınç direnci varyasyonu bildirilmiştir (Alpas ve ark. 1999).

*S. typhimurium* 14028 inaktivasyonu için yukarıda bildirilen sonuçlar ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Ancak farklı mikroorganizma suşu, basınçlama şartları, stres makenizması vs. faktörler inaktivasyon oranlarına etki edebilmektedir. Bunun yanında çalışma sonuçlarında tüm basınç değerlerinde süre faktörünün ölüm oranını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Oysa 10 °C'de tüm sürelerde *S. typhimurium* 14028 inaktivasyonunu basınç önemli düzeyde etkilemiştir. 300-350 MPa aralığında mikrobiyal azalma düzeyindeki artış minimum iken 450 MPa'da mikrobiyal azalma belirgin artış göstermiştir (Şekil 4.3). Ayrıca örneklerin dondurulması ile seçici besiyerinde 300 ve 350 MPa'da 0,2-0,4 log kob/g ek bir mikrobiyal azalma sağlanırken, 450 MPa'da sonuçlar eş değer bulunmuştur. Benzer şekilde genel besiyerinde örneklerin dondurulması ile 300-350 MPa aralığında 0,2-1,0 log

kob/g ek bir mikrobiyal azalma sağlanırken 450 MPa’da sonuçlar yakın elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Yüksek basınçlarda Gram(-) bakterilerin kompleks hücre duvarı yapısından dolayı hücre duvarının farklı katmanlarında farklı etkiler yaratarak D+ örneklerde hücre duvarının yapısal olarak daha rijit yapı kazanması ile basınca daha duyarlı hale gelmesinden kaynaklanan yüksek inaktivasyon elde edilmiş olabileceği düşünülmüştür. Bu gerçeğe basınç şiddeti arttıkça hücre zarı/hücre duvarı hasar mekanizmasının D- ve D+ örneklerde farklı mekanizma ile hasar görmüş olabilir. Diğer araştırmacılar YHB ile bakteri inaktivasyonunda membranların, birincil hedef olduğunu ve bunun için basınç direnci ve membran akışkanlığı arasındaki ilişkinin önemini bildirmişlerdir (Smelt ve ark. 2002).

#### 4.4.2.2. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde basınç düzeylerinin *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisi

Taze kıymada farklı sıcaklık ve sürelerde YHB işleminin *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisi ile ilgili çalışma bulguları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6’da verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** *S. typhimurium*14028 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Sıcaklık	Basınç (MPa)	Genel besiyeri		Seçici besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
10 °C	300	1,81±0,09	2,61±0,09	2,79±0,27	3,03±0,03	0,98±0,17	0,43±0,10
	350	2,64±0,24	3,37±0,46	3,60±0,38	3,90±0,57	0,96±0,14	0,53±0,41
	450	4,62±0,30	4,29±0,20	5,52±0,27	4,42±0,10	0,89±0,05	0,13±0,12
20 °C	300	1,56±0,12	2,25±0,26	2,20±0,56	2,79±0,12	0,64±0,12	0,64±0,14
	350	1,77±0,46	2,54±0,38	3,46±0,42	3,39±0,20	1,69±0,04	0,85±0,57
	450	3,33±0,26	3,76±0,18	3,85±0,59	4,31±0,42	0,51±0,35	0,54±0,19

N=3 İ- KD- :  $4 \times 10^6$  İ+KD- :  $2 \times 10^8$  İ+KD+ :  $4 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Çizelge 4.5’te farklı basınç düzeylerinde düşük ve oda sıcaklığında YHB’ın *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisini Çizelge 4.6’da ise sabit basınçta düşük sıcaklık ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda YHB’ın *S. typhimurium* 14028 üzerine etkisini değerlendirilmiştir. Oda sıcaklığında (20 °C) elde edilen mikrobiyal azalmalar düşük sıcaklıklara kıyasla az olduğundan bu parametrede farklı sürelerde çalışılmamıştır. Yukarıdaki verilerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre genel besiyeri seçici besiyeri ve mikrobiyal yaralanma için  $P < 0,05$  olup,  $R^2$  değerleri ise sırasıyla 0,937, 0,929, 0,758 elde edilmiştir.

Genel besiyerinde inaktivasyon sonuçlarına bakıldığında durum ( $\eta^2$  0,512), basınç ( $\eta^2$  0,918), sıcaklık ( $\eta^2$  0,658), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,301) ve sıcaklık\*basınç ( $\eta^2$  0,232) faktörleri önemli tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).  $\eta^2$  değerlerine en etkili faktör basınç tespit edilmiştir. *S. typhimurium*14028 için 300-450 MPa ve 350-450 MPa sonuçları farklı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi genel besiyerindeen yüksek inaktivasyon (4,62 log kob/g) 450 MPa, 10 °C'de ve D- örneklerde, en düşük inaktivasyon ise (1,56 log kob/g) 300 MPa, 20 °C YHB ile D- örneklerde gerçekleşmiştir. Genel ve seçici besiyerinde 10 °C'de 20 °C'ye kıyasla daha yüksek azalma elde edilmiştir ( $P<0,05$ ).

Seçici besiyerinde ise basınç ( $\eta^2$  0,910), sıcaklık ( $\eta^2$  0,571), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,288), durum\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,224), durum\*basınç\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,417) önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). En önemli faktör basınç olup, durum faktörü etkisi önemsiz olsada ( $P>0,05$ ) Şekil 4.4'te görüldüğü gibi dondurma ile ortalama 0,6- 0,8 log kob/g ek inaktivasyon gerçekleşmiştir. Basınç düzeyleri arasında farklılığın ( $P<0,05$ ) olduğu görülmüştür. Mikrobiyal yaralanmada durum ( $\eta^2$  0,515), basınç ( $\eta^2$  0,481), sıcaklık\*basınç ( $\eta^2$  0,309), durum\*sıcaklık\*basınç ( $\eta^2$  0,274) faktörleri önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi D+ örneklerde yaralanma daha düşük düzeydedir ( $P<0,05$ ). D- örneklerde 350 MPa'da 20°C YHB ile en yüksek yaralanma derecesi elde edilmiş olsada (1,69 log kob/g), sıcaklığın yaralanma üzerine etkisi *S. typhimurium*14028 için net olarak tespit edilememiştir.

**Çizelge 4.6.** *S. typhimurium* 14028 inokule edilmiş taze kıymada 300 MPa YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen mikrobiyal azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Süre	Sıcaklık °C	Genel Besiyeri		Seçici Besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
5 dk	10	1,81±0,09	2,61±0,09	2,79±0,27	3,03±0,03	0,98±0,17	0,43±0,10
	0	1,38±0,44	1,71±0,03	1,81±0,27	2,06±0,04	0,43±0,20	0,34±0,01
	-5	2,29±0,15	2,40±0,14	2,52±0,11	2,53±0,14	0,13±0,01	0,14±0,03
10 dk	10	2,33±0,44	2,46±0,16	2,50±0,35	2,60±0,18	0,17±0,09	0,14±0,22
	0	1,92±0,59	2,59±0,16	2,35±0,72	3,01±0,16	0,43±0,27	0,42±0,02
	-5	2,76±0,45	2,92±0,28	2,90±0,40	3,03±0,19	0,10±0,16	0,10±0,13
15 dk	10	3,05±0,22	2,85±0,03	3,45±0,39	3,68±0,14	0,40±0,16	0,82±0,15
	0	2,86±0,02	3,15±0,02	3,29±0,18	4,27±0,02	0,43±0,20	1,11±0,00
	-5	3,60±0,26	3,77±0,50	3,76±0,23	4,70±0,43	0,92±0,26	0,91±0,33

N=3 İ- KD- :  $2 \times 10^4$  İ+KD- :  $1 \times 10^8$  İ+KD+ :  $1 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Yukarıdaki verilerin istatistiksel sonuçlarına göre genel besiyeri, seçici besiyeri ve mikrobiyal yaralanma için  $P < 0,05$  ve  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,869, 0,910 ve 0,899 elde edilmiştir.

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi genel besiyerinde *S. typhimurium* 14028'un inaktivasyonunda en önemli faktör süre ( $\eta^2$  0,807) olmuştur. Ayrıca durum ( $\eta^2$  0,251), sıcaklık ( $\eta^2$  0,591), süre\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,237) etkileşimi önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Tüm sürelerde farklı inaktivasyon düzeyleri elde edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi  $-5$  °C ve  $10$  °C sonuçları benzer olup ( $P > 0,05$ ),  $-5$  °C,  $0$  °C'ye kıyasla, daha yüksek inaktivasyon elde edilen parametre olmuştur ( $P < 0,05$ ). Çizelge 4.6'da  $5$  dk ve  $10$  dk sonuçları benzer bulunmuştur ( $P > 0,05$ ).  $300$  MPa  $15$  dk  $-5$  °C YHB ile D+ örneklerde en yüksek azalma gerçekleşirken ( $3,77$  log kob/g), en düşük azalma seviyesi ( $1,38$  log kob/g)  $300$  MPa,  $5$  dk,  $0$  °C YHB ile D- örneklerde gerçekleşmiştir.

Seçici besiyerindeki azalma sonuçlarına göre ise *S. typhimurium* 14028 inaktivasyonunda durum ( $\eta^2$  0,525), süre ( $\eta^2$  0,845), sıcaklık ( $\eta^2$  0,396) süre\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,757), durum\*süre\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,291) etkileşimi önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). *S. typhimurium* 14028 inaktivasyon düzeyleri arasında  $-5$  °C ve  $10$  °C sonuçları benzer ( $P > 0,05$ ),  $-5$  °C ve  $0$  °C sonuçları ve  $0$  °C ve  $10$  °C sonuçları farklı elde edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Süre faktörü yönüyle değerlendirilecek olursa mikrobiyal azalmada  $5$  dk ve  $10$  dk sonuçları benzer ( $P > 0,05$ ) olup,  $10$  dk ve  $15$  dk ile  $5$  dk ve  $15$  dk sonuçları farklı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi  $300$  MPa ( $-5$  °C,  $15$  dk) YHB ile *S. typhimurium* 14028'da en fazla elde edilen mikrobiyal azalma seviyesi  $4,7$  log kob/g olup (aynı parametrede D- örneklerde  $3,76$  log kob/g), D+ örneklerde, en düşük mikrobiyal azalma ise ( $1,81$  log kob/g)  $300$  Mpa ( $0$  °C,  $5$  dk) YHB ile D- örneklerde elde edilmiştir. Her iki besiyerinde D+ örneklerde D- örneklere kıyasla  $0,2-1$  log kob/g daha yüksek azalma gerçekleşmiştir (Şekil 4.5).

Mikrobiyal yaralanmada durum, sıcaklık, süre, süre\*sıcaklık ve durum\*süre etkileşimi faktörleri ile durum\*sıcaklık\*süre etkileşimi önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Sıcaklık, süre ve süre\*sıcaklık içinetki büyüklükleri sırasıyla  $0,598$ ,  $0,664$ ,  $0,757$  elde edilmiştir. Yaralanmada  $-5$  °C sonuçları,  $0$  °C ve  $10$  °C sonuçları ile farklı ( $P < 0,05$ ),  $0$  °C ve  $10$  °C sonuçları benzer olup, en düşük yaralanma  $0,1$  log kob/g ile  $-5$  °C'de ( $5,10$  dk) YHB ile tespit edilmiştir. Süre faktörü yönünden  $5$  ve  $15$  dk sonuçları benzerken ( $P > 0,05$ ),  $5$  dk ve  $10$  dk ile  $10$  dk ve  $15$  dk sonuçları farklı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ).

Çalışma sonuçlarında her iki besiyerinde de  $300$  MPa ( $15$  dk,  $-5$  °C) YHB ile D+ örneklerde en yüksek inaktivasyon elde edilmiştir (Çizelge 4.6). D+ örneklerde daha fazla

mikrobiyal azalma bu deneme çalışmasında gözlenmiş olup (Şekil 4.5), bu durum Bulut (2014b) tarafından, mikroorganizmalar buz kristalleri gibi katı parçacıklarla temas ettiğinde, basınç, mikroorganizmalar üzerinde homojen olarak etki edemez ve daha düşük bir basınç, mikroorganizmalar üzerinde daha yüksek bir deformasyon oranına neden olmaktadır şeklinde açıklanmıştır. Bununla birlikte donmuş et örneklerinde mikroorganizmaların çift lipid katmanının katı fazda olduğu ve bu jel yapısının rijitliğinin basınç ile arttığı, artan sertlik sonucunda, hücrelerin basınca duyarlı hale geldiği bildirilmiştir.

Kruk ve ark. (2011) ve Tananuwong ve ark. (2012) YHB ile çiğ tavuk etinde *S. typhimurium* inaktivasyonunu düşürmek için en iyi yolun basınç seviyesini arttırmak olduğunu bildirmişlerdir. 300 MPa'dan 400 MPa basınca artış ile inaktivasyonun iki katına çıktığını, ayrıca süre ve sıcaklığın artırılması ile yüksek inaktivasyon sağlandığını bildirmişlerdir.

Alpas ve ark. (1999), 345 MPa (5 dk, 25 °C) YHB ile *S. enteritidis* FDA ve *S. typhimurium* E21274 için pepton çözelti içinde sırasıyla 5,45 ve 5,71 log kob/ml arasında inaktivasyon tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızdan yüksek olup gerçek gıdalarla çalışıldığından stres faktörlerinin (gıda bileşenleri koruyuculuğu gibi) etkisi olduğu düşünülmüştür.

De Alba ve ark. (2012b) *S. enteritidis*'te YHB ile (12 °C, 5, 10 ve 15 dk, 450 MPa) 5 ve 10 dk'da sırasıyla 3,68, 5,94 log kob/g 15 dk YHB ile ise sadece zenginleştirmeden sonra patojen tespit edebilmişlerdir.

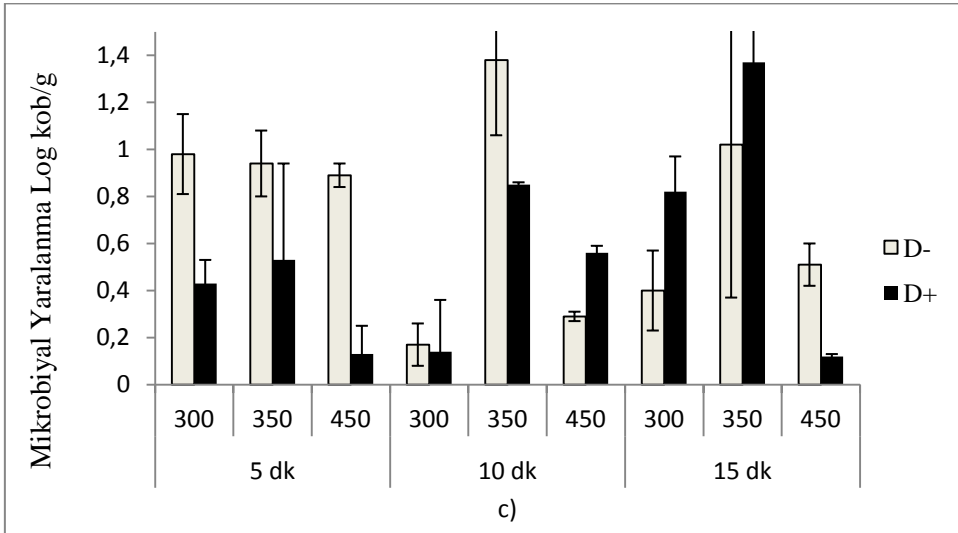
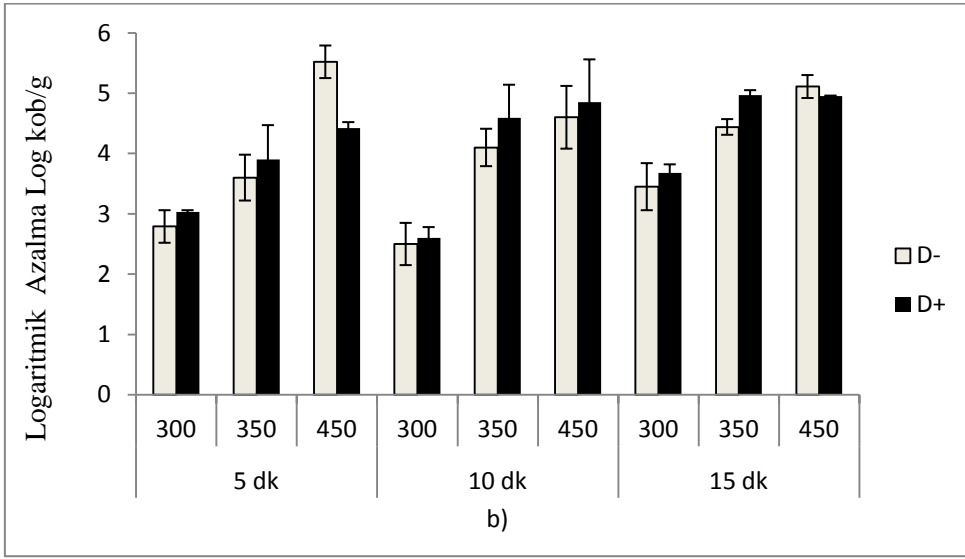
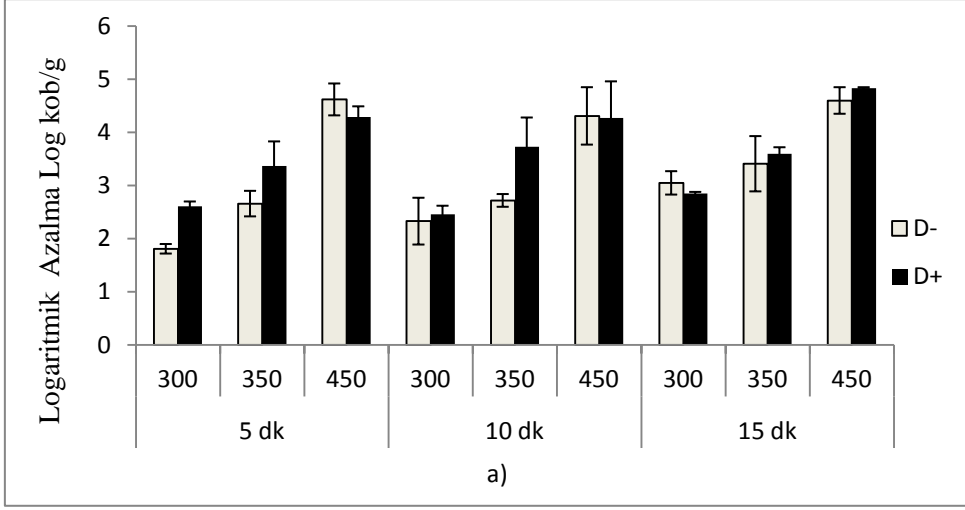
Çizelge 4.4 sonuçlarına göre 450 MPa'da D- ve D+ arasındaki beklenen inaktivasyon farkı yok olmakla birlikte çalışma yapılan basınç değerlerinde D- örneklerde daha yüksek logaritmik azalma elde edilmiştir. Bu durum D+ örneklerde basıncın şiddetinin artması ile Gram(-) bakterilerin kompleks hücre duvarı yapısında oluşmuş olabilen farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Bu gerçeğe basınç şiddeti arttıkça hücre duvarı hasar mekanizmasının D- ve D+ örneklerde farklı mekanizma ile hasar gördüğü söylenilebilir.

YHB ile düşük sıcaklıklarda bakteriyel inaktivasyonun daha etkin olduğu değişik çalışmalarda rapor edilmiştir (Yuste ve ark. 1999, Ritz ve ark 2000, Shen ve ark 2005, Moussa ve ark. 2007). Düşük sıcaklıklarda mikrobiyal azalmanın daha etkin olması, mikroorganizmaların dirençlerinin optimum gelişme sıcaklığı aralığı dışındaki sıcaklıklarda daha düşük olduğu gerçeğiyle ilgili olduğu belirtilmiştir (Smelt 1998). Benzer şekilde Noma ve ark. (2002), *S. typhimurium* ile yaptıkları çalışmada 70-400 MPa aralığında basınç ve 25, 5, 0, -5,-20 °C sıcaklıklarda, 0-60 dk süre aralığında, YHB ile sıcaklık düştüğünde mikrobiyal inaktivasyonun arttığını bildirmişlerdir. Bunun yanında ter Steeg ve ark. (1999), basıncın

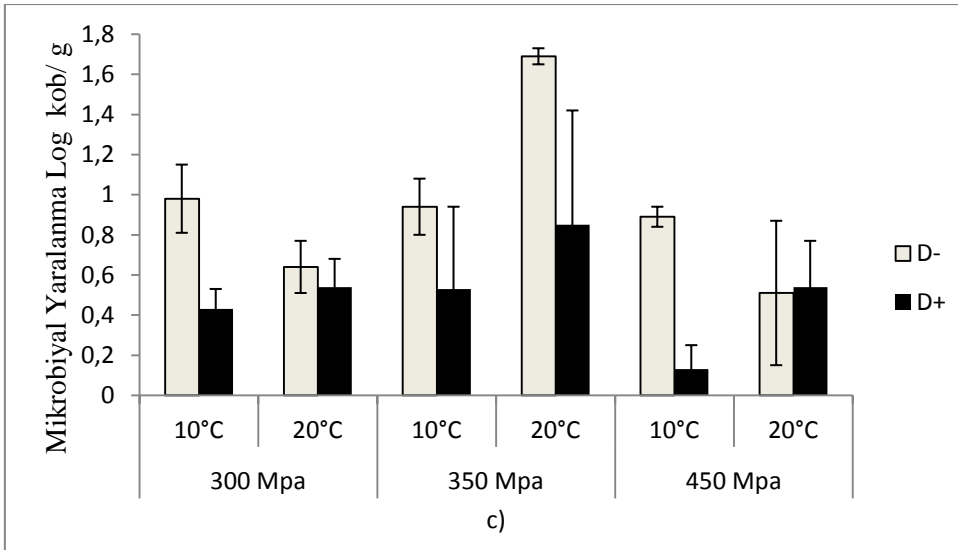
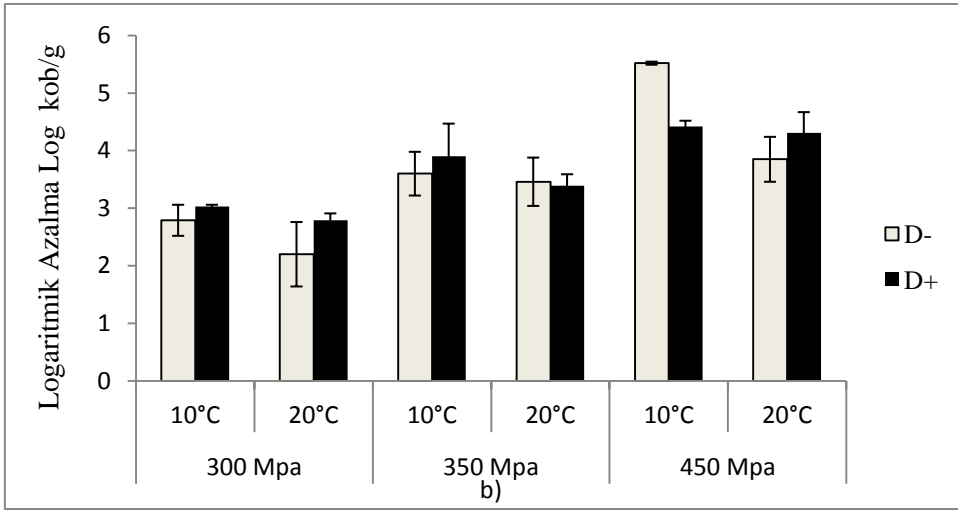
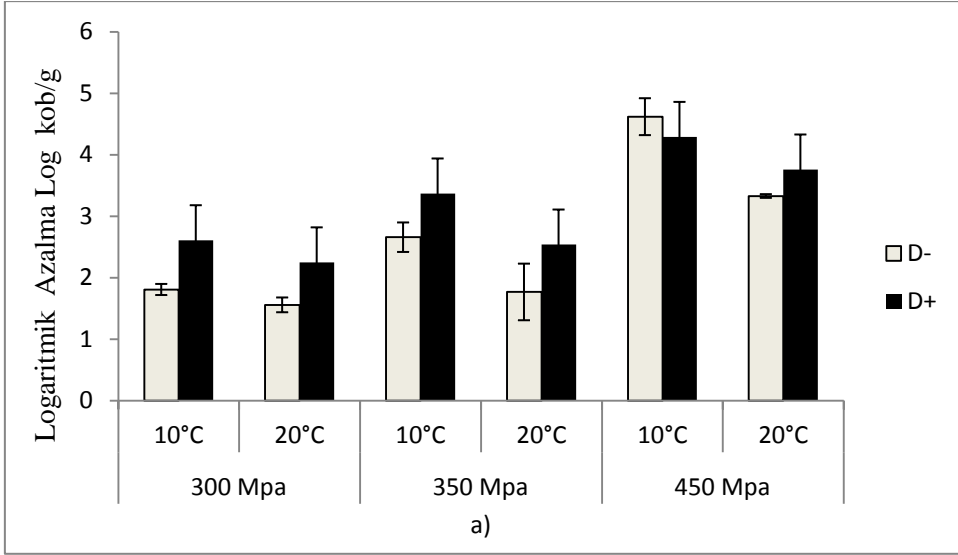
yükseltilmesi ile, organizmaların büyümesi sırasında sitoplazmik zarın sıvı kristal halinin daha katı, yarı kristalli bir duruma dönüştüğü koşullar altında YHB sıcaklığı düşürüldüğünde, işleminin etkinliğinin arttığını gözlemişlerdir. Bu gerçekle sıfırın altındaki basınçlama işlemlerinde mikrobiyal hücreler üzerinde hasarın ölümcül olması dolayısıyla yaralanma derecesinde düşüş beklenilebilmektedir.

Bulut (2014b) tarafından yapılan kıyılmış sığır etindeki YHB çalışmasında, *E. coli* inokule edilmiş örneklerde dondurulmuş ve dondurulmamış şekilde, 300 Mpa'da ve -10, -5, 0, 10, 20 °C sıcaklıklarda gerçekleşen YHB sonrasında, tüm örneklerde sıfırın altındaki sıcaklıklarda mikrobiyal yaralanmanın çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, çalışılan basınç parametrelerinde dondurulmuş örneklerde mikrobiyal yaralanmanın düşük olması nedeniyle paralellik göstermektedir. Ancak bizim çalışmalarımızda da tespit edildiği şekilde donmuş örneklerde YHB'ın düşük ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerindeki etkisiyle ilgili literatürdeki tutarsızlıklar, sıfırın altındaki sıcaklıklarda inaktivasyonun derecesinin mikroorganizma türüne, gıdanın özelliklerine (pH gibi) bağlı olması nedeniyle oluşmaktadır. Ayrıca su aktivitesi, ilave tuzlar, sertleştirici maddeler, protein veya yağ içeriği ve basınçlandırma parametreleri (zaman ve sıcaklık) gibi faktörler ile ilgili olabilir.

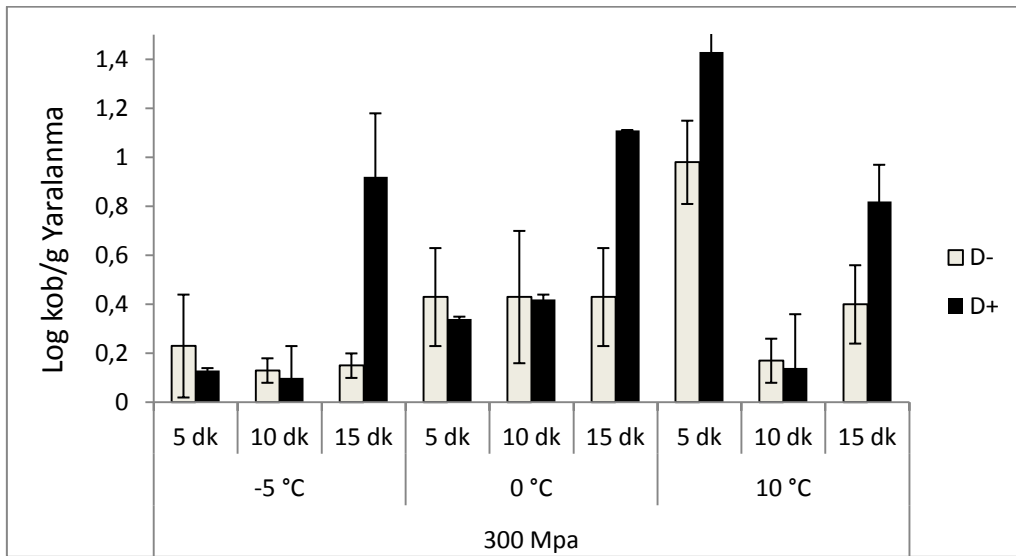
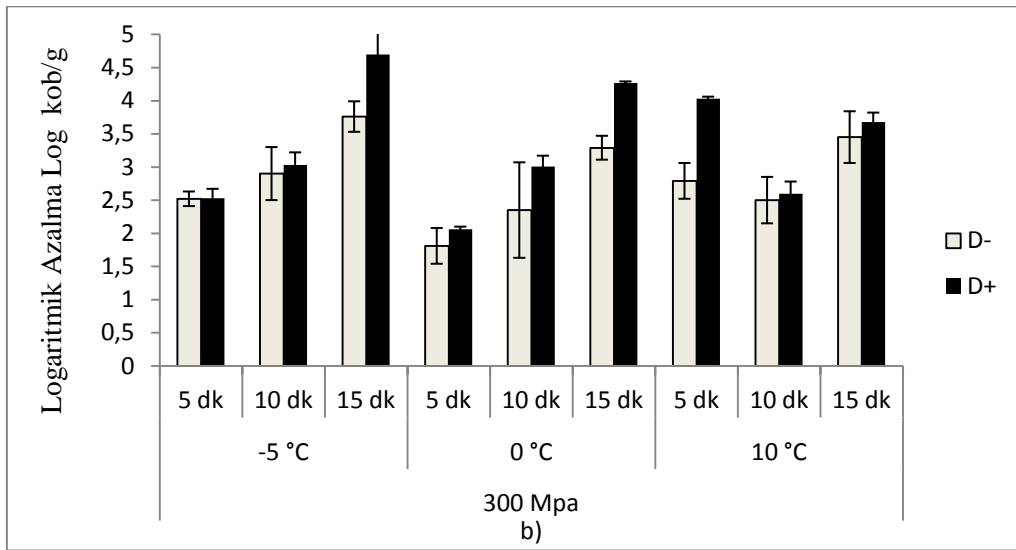
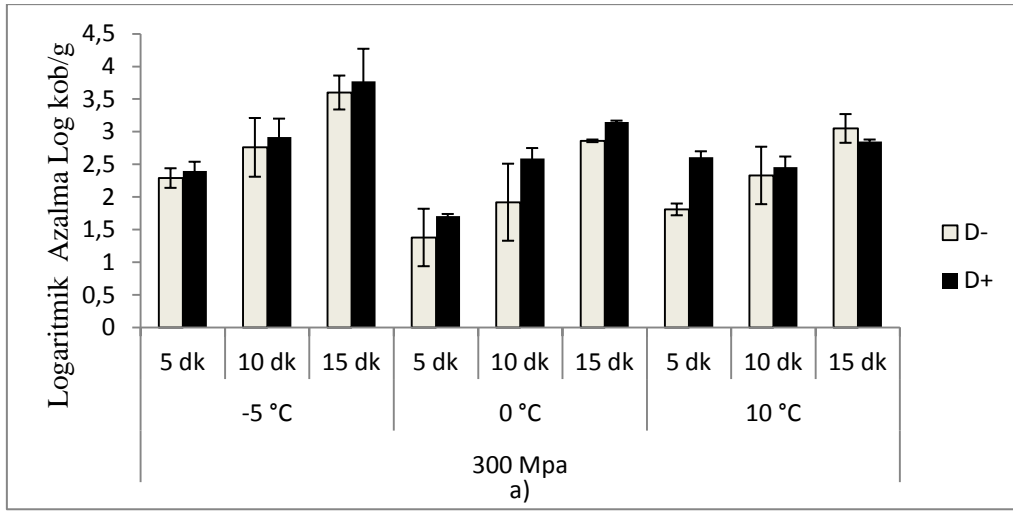




**Şekil 4.3.** *S. typhimurium*14028 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’de YHB ile **a)** genel besiyerinde **b)** seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve **c)** yaralanma derecesi sonuçları



**Şekil 4.4.** *S. typhimurium* 14028 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile **a)** genel besiyerinde **b)** seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve **c)** yaralanma derecesi sonuçları



**Şekil 4.5.** *S. typhimurium* 14028 inokule edilmiş taze kıymada farklı sıcak ve sürelerde YHB ile **a)** genel besiyerinde **b)** seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve **c)** yaralanma derecesi sonuçları

#### 4.4.3. YHB'ın *E. coli* ATCC 25922 üzerine etkileri

##### 4.4.3.1. Sabit sıcaklık, farklı basınç ve farklı basınçlama sürelerinde YHB'ın *E. coli* 25922 üzerine etkisi

Taze kıymada farklı basınç ve sürelerde YHB işleminin *E. coli* ATCC 25922 üzerine etkisi ile ilgili çalışma bulguları Çizelge 4.7'de verilmiştir..

**Çizelge 4.7.** *E. coli* 25922 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Süre	Basınç (MPa)	Genel besiyeri		Seçici besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
5 dk	300	1,94±0,17	2,24±0,27	2,70±0,01	2,96±0,23	0,76±0,11	0,72±0,20
	350	2,20±0,43	2,63±0,27	2,59±0,05	2,87±0,27	0,39±0,37	0,24±0,03
	450	2,82±0,40	3,12±0,42	2,94±0,64	3,36±0,38	0,12±0,20	0,24±0,04
10 dk	300	1,61±0,75	1,93±0,10	1,88±0,09	3,08±0,17	0,27±0,16	1,15±0,13
	350	1,81±0,02	2,90±0,38	2,41±0,04	3,08±0,19	0,60±0,03	0,18±0,20
	450	2,25±1,46	3,47±0,10	3,19±0,96	3,75±0,11	0,94±0,54	0,28±0,06
15 dk	300	1,74±0,60	2,17±0,15	1,94±0,17	3,16±0,22	0,21±0,11	0,98±0,37
	350	2,20±0,18	3,40±0,15	2,67±0,12	3,55±0,12	0,47±0,08	0,15±0,06
	450	2,71±0,45	3,63±0,56	3,01±0,26	3,72±0,76	0,29±0,22	0,17±0,22

N=3 İ- KD- :1×10<sup>5</sup>İ+KD- :7×10<sup>8</sup>İ+KD+:1×10<sup>8</sup>(İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Yukarıdaki çizelgedeki verilerin istatistiksel sonuçlarına göre genel ve seçici besiyeri ve yaralanma için P<0,05'tir. R<sup>2</sup> değerleri ise sırasıyla 0,758, 0,802, 0,799 elde edilmiştir. Genel besiyerinde ve seçici besiyerinde elde edilen sonuçlara göre durum, basınç ve durum\*süre faktörleri *E. coli* 25922 inaktivasyonunda önemli bulunmuş olup (P<0,05), durum, basınç  $\eta^2$  değerleri sırasıyla 0,505, 0,603, 0,158 tespit edilmiştir. Çizelge 4.7'de gösterildiği gibi genel besiyerinde en yüksek inaktivasyon 3,63 log kob/g olup, 450 MPa, 15 dk YHB ile, D+ örneklerde, en düşük inaktivasyon ise 1,61 log kob/g olup, 300 MPa'da 10 dk YHB ile, D- örneklerde gerçekleşmiştir. 300-350 MPa sonuçları farklı saptanmıştır (P<0,05). 300 MPa'da tüm sürelerin ortalaması dikkate alındığında inaktivasyon 300 MPa'da yaklaşık 2 log kob/g, 350 MPa'da 2,52 log kob/g'dır. Basıncın 450 MPa'a yükselmesi yaklaşık 0,4 log kob/g daha fazla azalma sağlamıştır (Şekil 4.6a).

Seçici besiyerindeen etkili faktör durum ( $\eta^2$  0,657)olmuştur. Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi örneklerin dondurulması genel ve seçici besiyerinde *E. coli* 25922’de ortalama minimum 0,4 log kob/gve maksimum 1,3 log kob/g daha fazla azalma sağlamıştır. İnaktivasyonda 300-350 MPa sonuçları benzer ( $P>0,05$ ), 350-450 MPa sonuçları ve 300-450 MPa sonuçları farklı elde edilmiştir ( $P<0,05$ ). Ayrıca bütün basınç değerlerinde YHB’nın ilk 5 dk’sında elde edilen mikrobiyal azalma 10 ve 15 dk işlem süresine kıyasla yüksek olmakla birlikte seçici besiyerinde en yüksek azalma 450 MPa’da (3,75 log kob/g), 10 dk’da D+ örneklerde gerçekleşmiştir.

Basınç, durum\*basınç, durum\*basınç\*süre faktörleri mikrobiyal yaralanmada önemli ( $P<0,05$ ) tespit edilmiş,  $\eta^2$  değerleri basınç, \*durum\*basınç, durum\*basınç\*süre faktörleri için sırasıyla 0,401, 0,593, 0,581 elde edilmiştir. Çizelge 4.7’de gösterildiği gibi D- örneklerde tüm sürelerde basınç değişimine tepki düzensiz olup, net olarak tespit edilememiştir. D+ örneklerde ise artan basınç şiddeti ile birlikte yaralanma derecesi azaldığı görülmektedir (Şekil 4.6c).

Bulut (2014b), dondurulmuş ve dondurulmamış kıyma ile yaptığı çalışmada *E. coli* 25922 aşılınmış örneklerde 300 MPa (10 °C, 5 dk) elde edilen yüksek düzeydeki mikrobiyal azalma ve dondurulmuş örneklerde elde edilen yüksek inaktivasyon düzeyi bu çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalışma sonuçlarına göre basınçlanmanın ilk 5 dk’sında elde edilen ölüm oranları diğer sürelerle göre yüksek tespit etmişlerdir. Bulut (2014b) tarafından bu durum ‘‘kıyma eti gibi viskoelastik bir ortama inoküle edilen mikroorganizmalar basınçlanma sırasında, kıyma etinde bulunan su ve kıymanın viskoelastik yapısı nedeni ile her yönden eşit kuvvetlere (hidrostatik basınç) maruz kalmaktadır. Kıymanın dondurulması sonucunda basıncı homojen bir şekilde ileten sıvı fazın, suyun donması sonucu azaldığı ve mikroorganizmaların oluşan buz kristalleri ile temas halinde olduğu düşünülebilir. Bu şekilde dondurulmuş ve tamamen katı özellik gösteren kıymanın basınçlanması sırasında mikroorganizmaların her yönden homojen bir kuvvete maruz kalmayacağı ve bunun sonucunda da mikrobiyal hücrelerin deformasyona uğrayarak hücre yapılarının bozulabileceği düşünülmektedir’’ şeklinde açıklanmıştır.

Perrier-Cornet ve ark. (1995)’na göre YHB ile D+ örneklerde yüksek mikrobiyal azalmayı açıklayabilecek bir diğer faktör, -21°C’de dondurma ve YHB sırasında bakteri hücre duvar yapısında lipid katmanlarda düşük sıcaklıklarda basıncın serbest bırakılması ile birlikte faz değişimi olabilmektedir. Biyolojik membranlardaki lipid katmanların termotropik ve basınca bağlı faz dönüşümlerine uğrayabileceği bilinmektedir. Benzer şekilde *Lactobacillus*

*delbrueckii* ssp. *Lactobacillus bulgaricus* CFL1'un lipid membran davranışının incelendiği çalışmada dondurma-çözme işlemi sırasında hücrelerde jel-sıvı-kristal geçişlerinin meydana geldiği bildirilmiştir. Rigid kristal yapıdan, gel-kristal yapıya geçiş sıcaklıklarının hücre duvarında bulunan lipit bileşimine bağlı olarak, -8 ve 22°C sıcaklıklar arasında değiştiği bildirilmiştir (Winter ve Jeworrek 2009).

Luscher ve ark. (2004), dondurulmuş süspansiyonda, *L. innocua*'nın inaktivasyonu üzerine buz I'den buz III faz geçişleri etkisini inceledikleri çalışmada *L. innocua*'yı buz I ile buz III arasındaki faz geçişlerinde, 200 MPa'ın üzerindeki donmuş süspansiyonda basınç uygulayarak, 3 log kob/g azalmayı çok kısa sürede düşürebilirken, sıvı halde aynı ölüm düzeyini elde etmek için 15 dk süre gerektiğini belirtmişlerdir.

Şekil 4.6c'da görüldüğü gibi yaralanma derecesi çalışılan basınç parametrelerinde D+ örneklerinde artan basınç şiddeti ile birlikte azalmıştır. Bu durumun mikrobiyal hücreler üzerinde artan baskı sonucu ölümcül yaralanmaların oluşması ile ilgili olduğu düşünülmüştür. D- örneklerde ise bu durumun gözlenmemiş olması dondurmanın basıncın etkisini artırdığı, dolayısıyla birikmiş hasarın sonucu olarak D+ örneklerde artan baskı ile elde edilen ölüm artışı D- örneklerde gerçekleşmemiş olabilir.

#### 4.4.3.2. Farklı sıcaklıklarda ve farklı sürelerde basınç düzeylerinin *E. coli* 25922 üzerine etkisi

Taze kıymada farklı sıcaklık ve sürelerde YHB işleminin D- ve D+ örneklerde *E. coli* 25922 üzerine etkileri ile ilgili çalışma bulguları Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da verilmiştir.

**Çizelge 4.8.** *E. coli* 25922 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Sıcaklık	Basınç (MPa)	Genel besiyeri		Seçici besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
10 °C	300	1,94±0,17	2,24±0,26	2,70±0,01	2,96±0,23	0,76±0,11	0,72±0,20
	350	2,20±0,43	2,62±0,27	2,58±0,05	3,62±0,27	0,58±0,37	0,18±0,03
	450	2,83±0,46	2,90±0,42	2,99±0,63	3,50±0,38	0,11±0,20	0,24±0,04
20 °C	300	0,93±0,26	1,33±0,20	2,01±0,24	2,28±0,10	1,08±0,50	0,95±0,13
	350	1,28±0,05	2,32±0,27	1,86±0,23	3,37±0,06	0,38±0,19	0,23±0,33
	450	1,66±0,06	2,36±0,05	2,65±0,03	4,30±0,15	0,94±0,09	1,65±0,11

N=3, İ- KD- : $4 \times 10^6$  İ+KD- : $7 \times 10^8$  İ+KD+ : $1 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Çizelge 4.8’de farklı basınç düzeylerinde *E. coli* 25922 üzerine farklı basınçlama sıcaklıklarının etkisini, Çizelge 4.9’da ise sabit basınçta sıfırın altındaki sıcaklıklarda, düşük ve oda sıcaklıklarında basınçlamanın *E. coli* 25922 üzerine etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. *E. coli* 25922 üzerine yapılan ön denemelerde süre faktörünün etkili olmadığı saptandığından doğrulama deneylerinde aşağıda verilmiş olan parametrelerde süre etkisi incelenmemiştir.

Yukarıdaki verilerin değerlendirildiği istatistiksel analiz sonuçlarına göre genel, seçici besiyeri ve yaralanma için  $P < 0,05$ ’tir.  $R^2$  değerleri ise sırasıyla 0,990, 0,994, 0,996 elde edilmiştir. Genel besiyerinde elde edilmiş olan sonuçlara göre (Çizelge 4.8) tüm faktörler *E. coli* 25922 inaktivasyonunda önemli olup ( $P < 0,05$ ), çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre 300 ve 450 MPa sonuçları farklı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi *E. coli* 25922’de tüm basınçlarda 10 ve 20 °C’de yaklaşık 0,4-1 log kob/g D+ örneklerde daha yüksek inaktivasyon gerçekleşmiştir. Ayrıca tüm örneklerde ve tüm basınçlarda 10 °C’de 20 °C’ye kıyasla daha fazla mikrobiyal azalma olmuştur. Genel besiyerinde en yüksek inaktivasyon (2,90 log kob/g), 450 MPa’da (10 °C) D+ örneklerde, en düşük inaktivasyon (0,93 log kob/g), 300 MPa’da (20 °C) D- örneklerde gerçekleşmiştir (Şekil 4.7a).

Seçici besiyerinde ise durum, basınç, sıcaklık, durum\*basınç, sıcaklık\*basınç, durum\*sıcaklık ve durum\*basınç\*sıcaklık faktörleri *E. coli* 25922 inaktivasyonunda ayrı ayrı önemli etkiye sahiptir ( $P < 0,05$ ). *E. coli* 25922 inaktivasyonu üzerine bütün faktörler yüksek etki değerine sahiptir. Basınç seviyeleri çoklu karşılaştırmalarında 300 ve 450 MPa sonuçları farklı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). *E. coli* 25922’de 10 °C’de 20 °C’ye kıyasla daha yüksek inaktivasyon gerçekleşmiştir (Çizelge 4.8). D+ örneklerde D- örneklerine kıyasla 0,3-1 log kob/g arasında değişen düzeylerde daha yüksek mikrobiyal azalma sağlanmıştır. D- örneklerde 300 ve 350 MPa’da yaklaşık 1 log kob/g, 450 MPa’da 1 log kob/g’den fazla azalma olduğu görülmektedir. Sadece 450 MPa’da D+ örneklerde sıcaklığın düşmesi (genel besiyerinden farklı olarak) tersi durum oluşturmuş, yaklaşık 0,8 log kob/g yüksek inaktivasyon farkı oluşmuştur. Ancak bu parametrede yüksek (1,65 log kob/g) yaralanma derecesi tespit edilmiştir. Benzer bir durum aynı basınç parametrelerinde *L. innocua* sonuçlarında da gözlenmiştir.

Mikrobiyal yaralanmada durum, basınç, sıcaklık, durum\*basınç, sıcaklık\*basınç, durum\*sıcaklık ve durum\*basınç\*sıcaklık faktörleri *E. coli* 25922 inaktivasyonunda önemli olup ( $P < 0,05$ ), Çizelge 4.8’de belirtildiği gibi *E. coli* 25922’de yaralanma 300 ve 450 MPa’da 20 °C’de 10 °C’ye kıyasla hem D- hem D+ örneklerde belirgin şekilde artmıştır. 450 Mpa

YHB ile 10 °C'de yaralanma çok düşük (0,24 log kob/g) iken, 20 °C'de aynı basınçta yaralanma (1,94 log kob/g) düzeyi yüksek olmuştur (Şekil 4.7c).

**Çizelge 4.9.** *E. coli* 25922 inokule edilmiş taze kıymada 5 dk, 300 Mpa YHB ile genel ve seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve yaralanma derecesi sonuçları

Basınç MPa	Sıcaklık °C	Genel Besiyeri		Seçici Besiyeri		Yaralanma	
		D-	D+	D-	D+	D-	D+
300	-10	2,35±0,12	2,99±0,11	3,02±0,07	3,24±0,11	0,67±0,07	0,24±0,11
	-5	3,28±0,79	3,41±0,66	4,02±0,22	4,10±0,21	0,74±0,62	0,69±0,44
	0	2,97±0,11	3,80±0,30	3,70±0,48	3,98±0,13	0,72±0,52	0,18±0,16
	5	2,18±0,38	2,76±0,23	2,89±0,30	3,58±0,30	0,71±0,17	0,82±0,19
	10	1,94±0,13	2,24±0,27	2,70±0,17	2,96±0,23	0,76±0,11	0,72±0,20
	20	0,93±0,25	1,33±0,20	2,01±0,24	2,28±0,10	1,08±0,50	0,95±0,13

N=3, İ- KD- :  $2 \times 10^5$  İ+KD- :  $1 \times 10^9$  İ+KD+ :  $8 \times 10^8$  (İ- ve İ+ kontrol örneklerinin genel besiyerinde başlangıç mikroorganizma seviyesi kob/g) Logaritmik Azalma/yaralanma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş \* *E. coli* 25922'de sürenin etkisi önemli olmadığından düşük basınçta (300 MPa) sadece sıcaklığın etkisi araştırılmıştır.

Yukarıdaki verilerin değerlendirildiği istatistiksel analiz sonuçlarına göre genel, seçici besiyeri ve yaralanma için  $P < 0,05$ 'tir.  $R^2$  değerleri ise sırasıyla 0,894, 0,932, 0,517 elde edilmiştir. Çizelge 4.9'a göre durum, sıcaklık, faktörleri genel besiyerinde inaktivasyonda önemli olup ( $P < 0,05$ )  $\eta^2$  değerlerine göre sıcaklık (0,884) en etkili faktör tespit edilmiştir. Durum\*sıcaklık etkileşimi önemli bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ). Çoklu karşılaştırma tablosuna göre 20 °C ve -10 °C sıcaklık aralığında -10 °C sadece 20°C sonuçları ile farklı ( $P < 0,05$ ), diğer sıcaklık sonuçları ile benzer tespit edilmiştir ( $P > 0,05$ ). -5°C sonucu 10 °C sonuçları ve 20 °C sonuçları arasında farklılık tespit edilmiş olup ( $P < 0,05$ ) 0 °C, 5 °C ve 10 °C sonuçları ile benzerdir ( $P > 0,05$ ). 0°C sonuçları sadece 10 °C ve 20 °C sonuçları ile farklı ( $P < 0,05$ ), diğerleri ile benzer ( $P > 0,05$ ) tespit edilmiştir. 5 °C sonuçları sadece 20 °C sonuçları ile farklı ( $P < 0,05$ ) diğer sıcaklık sonuçları ile benzer elde edilmiştir ( $P > 0,05$ ). 20 °C sonuçları tüm sonuçlardan farklı elde edilmiştir ( $P < 0,05$ ).

Seçici besiyerinde elde edilen sonuçlara göre durum ve sıcaklık faktörleri önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Sıcaklık (0,928) en etkili faktör olup, durum\*sıcaklık etkileşimi önemli bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ). Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre -10 °C sonuçları 5 °C ve 10 °C sonuçları ile benzer ( $P > 0,05$ ), diğerleri ile farklı tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). -5 °C sonuçları 0 °C ve 5 °C sonuçları ile benzer ( $P > 0,05$ ), -10, 10, 20 °C sonuçları ile farklı tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). 0 °C sonuçları sadece -5 °C ve 5 °C sonuçları ile benzer ( $P > 0,05$ ) -10 °C,



10 °C, 20 °C sonuçları ile farklı elde edilmiştir (P<0,05). 5 °C sonuçları sadece 20 °C sonuçları ile farklı (P<0,05) diğer sonuçlar ile benzer tespit edilmiştir (P>0,05). 10 °C sonuçları -10 °C ve 5 °C sonuçları ile benzer bulunmuştur (P>0,05). 20 °C sonuçları, 0 °C ve -5 °C sonuçları ile farklı elde edilmiştir (P<0,05). Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi en düşük mikrobiyal azalma 20 °C'de elde edilmiştir. -10 °C'de gerçekleşen azalma -5 °C'de elde edilen mikrobiyal azalmadan düşük olmuş, fakat -10 °C'de yaralanma derecesinin çok düşük olduğu yukarıdaki Şekil 4.8c'de görülmektedir.

Çizelge 4.9 verilerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre durum faktörü *E. coli* 25922'de mikrobiyal yaralanma için önemli (P<0,05), sıcaklık ve durum\*sıcaklık etkileşimi ise önemsizdir (P>0,05). Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre -10 °C sonuçları sadece 20 °C sonuçları ile farklı (P<0,05) diğer sonuçlar ile yakın değerler elde edilmiştir (P>0,05). 10 °C ve altındaki sıcaklıklarda (5, 0,-5,-10 °C) yaralanma derecesi örneklerin dondurulup dondurulmamasına bakılmaksızın nispeten aynı iken 20 °C'de elde edilen yaralanma düzeyinin yüksek olduğu görülmektedir (P<0,05).

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi 300 MPa (-5, 0, 5, 10, 20 °C) denemelerinde düşük sıcaklıklarda *E. coli* 25922'de inaktivasyon artmış olup, D- ve D+ örneklerde en fazla mikrobiyal azalma genel ve seçici besiyerinde -5 °C ve 0 °C'de elde edilmiştir. İki besiyerinde sıcaklık yükseldikçe mikrobiyal azalma önemli oranda azalmıştır. Benzer şekilde Urratia ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada *B. subtilis*'te maksimum azalma 250-350 MPa aralığında ve yaklaşık -25 °C sıcaklıkta işlem gören örneklerde gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bu aralıkta meydana gelen etkin bakteriyel inaktivasyonun katı-katı faz geçişlerinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde Malinowska ve ark. (2014)'nin araştırmalarında, dondurulmuş örneklerde 193 MPa (-20 °C, 30 dk) YHB ile *E. coli* için yüksek oranda azalma, (~ 3,5 log kob/g) bildirmişlerdir.

Ayrıca oda sıcaklıklarında düşük sıcaklıklara nazaran daha az mikrobiyal azalma ile ilgili olarak araştırmalar mevcuttur (Yuste ve ark. 1999, Ritz ve ark. 2000, Shen ve ark. 2005, Moussa ve ark. 2007). YHB altında inaktivasyon optimum büyüme sıcaklıkları dışındaki sıcaklıklarda daha yüksektir, zira membran akışkanlığı optimal büyüme sıcaklıklarının ötesinde olan sıcaklıklarda daha kolay bozulabilmektedir (Smelt 1998). terSteege ve ark. (1999), basıncın yükseltilmesi sırasında, sitoplazmik zarın sıvı kristal halinin basınçlandırma sırasında daha katı, yarı kristalli bir duruma dönüştüğünü ve kırılabilirliğinin arttığını buna bağlı olarak bakteriyel ölümlerin arttığını tespit etmişlerdir. Sıfır derecenin altındaki sıcaklıklarda yüksek basınç ve sıcaklığın mikrobiyal inaktivasyon üzerine sinerjistik bir etki oluşturduğu vurgulanmıştır (Luscher ve ark. 2005). Bunun yanında çeşitli

mikroorganizmalar üzerine YHB'nin ve düşük yada sıfırın altındaki sıcaklıkların kombine etkisi incelenmiştir (Picart ve ark. 2004,2005, Fernandez ve ark. 2007, Realini ve ark. 2011, Vaudagna ve ark. 2012). Bahsi geçen araştırma sonuçlarında bir sinerjistik etki, genel olarak mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesi ile ilgili olarak bildirilmiştir.

Basınçlama işleminde sıcaklık karşılaştırmalarının yapıldığı bir diğer çalışmada Bulut (2014b), *E. coli* 25922 ile inoküle edilen dondurulmuş ve dondurulmamış kıymada 300 MPa (5 dk, -5 °C) YHB ile dondurulmuş dana kıymalarında *E. coli* 25922'de ortalama 3 log kob/g azalma elde etmiş olup, en yüksek mikrobiyal azalmayı dondurulmuş örneklerde bildirmiştir. D+ örneklerde elde edilen daha yüksek ölüm oranı ile ilgili çalışma sonuçları Bulut (2014b)'un sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu durum su fazı diyagramına göre açıklanabilir. D+ örneklerin -10, -5 ve 0 °C'de basınçlandırılması sırasında, sırasıyla yaklaşık 111 ve 60 MPa'ya kadar donmuş olarak kalıp, D+ örneklerin 0 °C ve üzerinde basınçlandırılması sırasında bile, basınç uygulamasının ilk safhalarında buzların mevcut olabileceğinden buzların varlığı, basınçlama sırasında mikrobiyal hücrelerde mekanik hasar yaratarak ölüm düzeyini artırmıştır. Buz kristalleri henüz erimemişken basınçlamanın ilk aşamasında, mikroorganizmalara katı buz partikülleri dışarıdan baskı uygulayabilmekte ve katı buz partiküllerinin varlığına bağlı olarak düzgün olmayan bir şekilde etki eden basınç kuvvetlerinin bir sonucu olarak, mikroorganizmalar mekanik (kesme) kuvvetlere maruz kalabilmektedir (Bulut 2014b). Ancak 300 MPa (5 dk) -10 °C'de gerçekleşen basınçlama sonrasında seçici besiyerinde D- ve D+ örneklerde sırasıyla 3,02, 3,24 log kob/g mikrobiyal azalma gerçekleşmiştir. Halbuki -5 °C'de D- ve D+ örneklerde sırasıyla 4,02, 4,10 ve 0 °C'de 3,70, 3,98 log kob/g inaktivasyon oluşmuştur (Çizelge 4.9). Mikrobiyal azalma -10 °C'de -5 ve 0 °C'de elde edilen azalmadan daha düşük elde edilmiştir. Benzeri durum Vaudagna ve ark. (2012) tarafından da bildirilmiştir. Vaudagna ve ark. (2012), taze kürlenmiş carpaccio üzerinde 650 MPa ve 20 °C'de YHB'nin -30°C'de YHB donmuş örneklerle göre bakteri sayısını azaltmada daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak, -30 °C'de YHB ile işlenmiş kürlenmiş donmuş sığır carpaccioda, bekletme süresine bakılmaksızın (1 veya 5 dk) 400 ve 650 MPa'da benzer azalma elde etmişlerdir

Çizelge 4.8'de verilmiş olduğu gibi 300, 350 ve 450 MPa'da 20 °C'de 10 °C'ye göre daha düşük mikrobiyal azalma elde edilmiştir. Ancak sadece D+ örneklerde 450 MPa'da farklı bir şekilde 20 °C'de 10 °C'ye göre inaktivasyon yaklaşık 0,8 log kob/g daha yüksek tespit edilmiştir. Bu durum Moussa ve ark. (2007) tarafından basınç şiddetinin yükselmesi ile birlikte düşük sıcaklık ve YHB sinerjik etkisinin kalktığı şeklinde açıklanmıştır. Moussa ve ark. (2007), sıfırın altındaki sıcaklıklarda YHB uygulamasının sinerjik etkisinin *E. coli* için

350 MPa üzerindeki basınçlarda azaldığı yönünde görüş bildirmişlerdir. 150-550 MPa aralığında (-20, -10, 25 °C aralığında) yapılan çalışmada 250 MPa'da 25 °C'ye göre -10 ve -20 °C'de 2,3 log kob/g yüksek mikrobiyal azalma sağlanmışken, 350 MPa'da bu fark azalmıştır (maksimum 1 log kob/g fark). İnaktivasyon oranı 350 MPa'da 25 °C'de 3,5 kob/g, -10 ve -20 °C'de, 4-4,5 log kob/g bulunmuştur. 25 °C'de 550 MPa'da tam inaktivasyon sağlanırken -10 ve -20 °C'de inaktivasyon oranı 4,7 log kob/g'ın üzerine çıkamamıştır. Sıfırın altında sıcaklık ve YHB arasındaki sinerji, 450 ve 550 MPa basınçta tamamen tersine dönmüştür. Benzer şekilde YHB ve sıfır altı sıcaklık arasındaki azalmış sinerji, Ponce ve ark. (1998b) tarafından da gözlenmiştir. *L. Innocua* ile aşılınmış donmamış ve dondurulmuş sıvı yumurtada 300 MPa ve 20 °C'de YHB ile donmamış örneklerde 0,5 log kob/g azalma, -15 °C'de, 1,5 log kob/g azalma dondurulmuş örneklerde gözlenmiştir. Bununla birlikte, sıfır altı sıcaklıktaki bu artırıcı etki, 400 MPa üzerindeki basınçlarda kaybolmuştur. Ayrıca Gervilla ve ark. (2000) YHB ile inokule edilmiş sütte 100–500 MPa aralığında 15 dk ve 25 °C sıcaklıkta YHB işlemi ile *E. coli* için +4 °C ve 25 °C'de benzer inaktivasyon oranı sağladıklarını bildirmişlerdir.

Şekil 4.7a sonuçlarına göre basıncın 300 MPa'dan 350 MPa'a yükselmesi (10-20 °C'de) *E. coli* 25922 için genel besiyerinde 0,5 log kob/g inaktivasyon artışı sağlarken, seçici besiyerinde artış olmamıştır. Benzer şekilde basıncın 300 MPa'dan 450 MPa'a yükselmesi genel ve seçici besiyerinde *E. coli* 25922 için sırasıyla yaklaşık 0,8, 0,4 log kob/g ölüm artışına neden olmuştur. Bu parametrelerde *E. coli* 25922 için basınca karşı direnç tespit edilmiştir. Literatürde *E. coli* için daha yüksek basınçlarda elde edilen sonuçlar aşağıda görüldüğü gibi basınç direnci yönünde elde edilen bu çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir.

Patterson ve ark. (1995) ette yaptıkları çalışmada *E. coli* için 700 MPa (15 dk, 20 °C) YHB ile 5 log kob /g inaktivasyon, De Alba ve ark. (2012b) ise vakum paketli kuru kür edilmiş carpacciada 400 ve 500 MPa YHB ile *E. coli* azalmasını sırasıyla 0,25 ve 1,28 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların elde ettiği sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarından düşük olup, yüksek basınçlarda düşük azalma elde etmişlerdir. Bu minimum ölüm düzeyi aynı zamanda ürünün su aktivitesinin düşük olması sebebi ile yüksek basınca daha fazla direnç göstermesinden de kaynaklanmış olabilir.

Ayrıca bu çalışmada *E. coli* 25922 inaktivasyonunda yapılan tüm YHB deneylerinde D+ örneklerde yüksek oranda mikrobiyal azalma gerçekleşmiş olup, bu durum kıymadaki mikroorganizmaların deneylerin doğası gereği çeşitli stres faktörlerine (yavaş donma, çözünme, basınçlama) tabi olmasından da kaynaklanmıştır. Çünkü Ek1'de belirtilmiş olduğu

gibi 300, 350 ve 450 MPa (10, 20, 5 °C) basınçlama deneylerinde, sıcaklığa bakılmaksızın, dondurulmuş tüm örnekler basınçlama sonrasında erimiştir. Bu, çeşitli çalışmalar tarafından bildirilen su fazı diyagramlarında görülebilmektedir (LeBail ve ark. 2002, Luscher ve ark. 2004). Bunun aksine 0 ile -10°C aralığında (300MPa) yapılan deneylerde ise basınçlama sırasında mikroorganizmaların sitoplazması içinde de buz kristallerinin bulunabileceği düşünülebilir (Ek 1a). Zhu ve ark. (2004), -10°C'de suyun 111 MPa basınca kadar donmuş olduğunu daha önce göstermiştir. 111 MPa'da erime başlangıcından 50 dk sonra erime 126 MPa'da tamamlanmıştır. Bu nedenle, su fazı diyagramına göre, D+ örneklerin -10 ve -5 °C'de basınçlandırılması sırasında su, sırasıyla yaklaşık 111 ve 60 MPa'a kadar donmuş olarak kalabilmektedir (Şekil 2.1). D+ örneklerin 0 °C ve üzerinde basınçlandırılması sırasında bile, YHB'nin ilk safhaları sırasında buzların mevcut olabileceği belirtilmiştir (Bulut 2014b). Ayrıca D+ örneklerde -21 °C'de yaklaşık 18 saat yavaş dondurma, hücrelerin önemli ölçüde büzülmesine ve geniş hücre dışı buz kristallerinin oluşumuna neden olmaktadır (Martino ve ark. 1998). Donmuş ette buz kristallerinin büyüklüğü ve yerlerini gösteren mikrograflar görülebilmektedir (Anese ve ark. 2012, Xanthakis ve ark. 2013). Bu da tahribatı artırmaktadır.

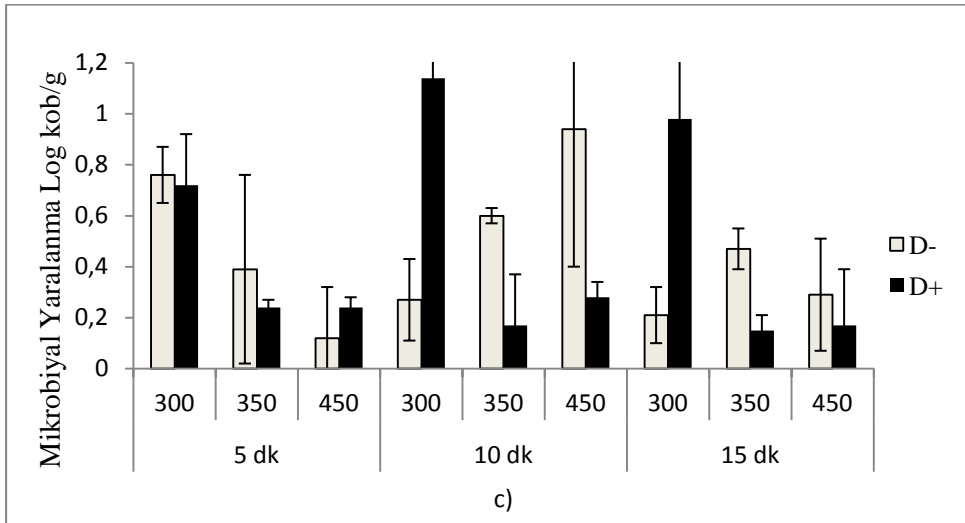
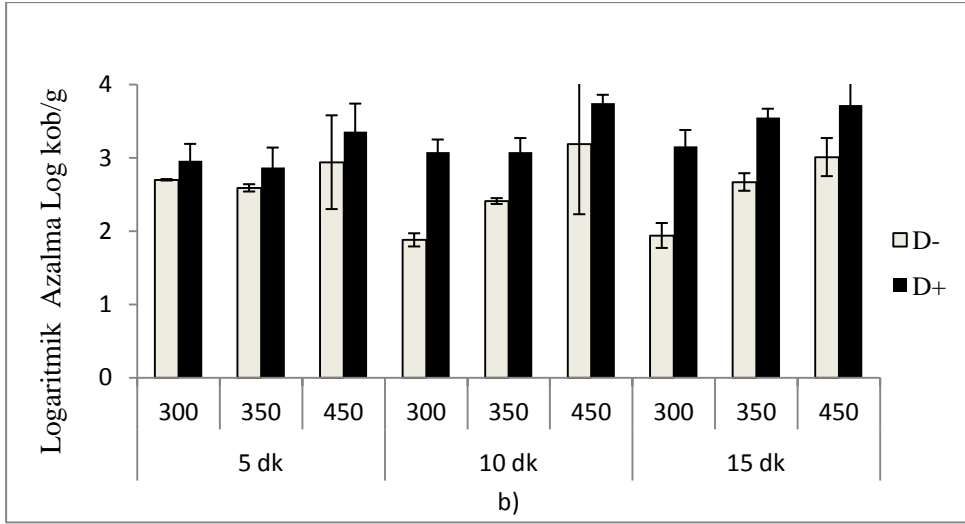
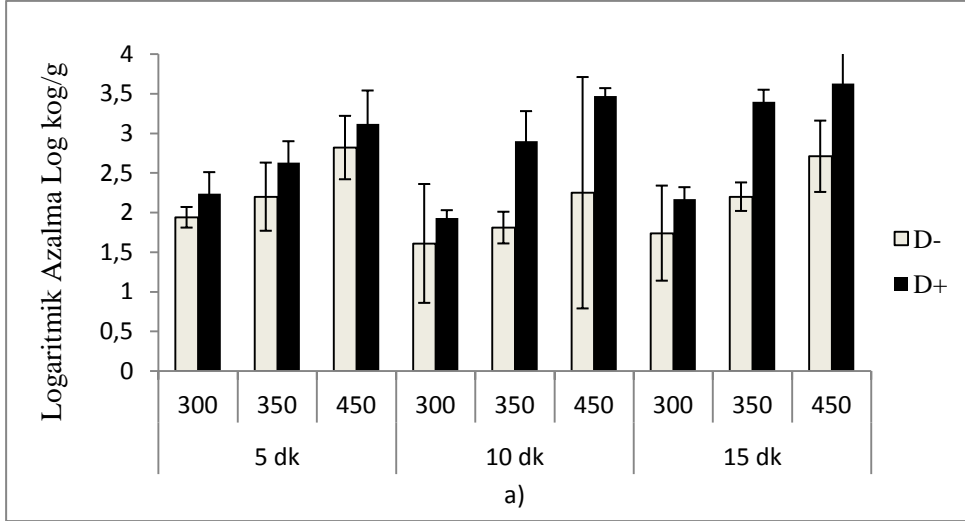
Bunun aksine, örnekler YHB'dan önce dondurulduklarında, sıfırın altında sıcaklıklarda YHB'nin mikroorganizmalar üzerindeki sınırlayıcı etkisini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Realini ve ark. (2011), domuz carpaccionun kalitesi ve mikrobiyal inaktivasyonu üzerinde YHB (400 ve 600 MPa, 6 dk) uygulamasının ve dondurma sıcaklığının (-15 ve -35 °C) etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında -15 veya -35 °C'de basınç işlemleri arasında ölüm oranları arasında herhangi bir fark gözlemediklerini bildirmişlerdir.

D- kıyma örneklerinde YHB ve sıfırın altındaki sıcaklıkların mikroorganizmalar üzerindeki sinerjik etkileri ile ilgili bu çalışmadaki bulgular, Picart ve ark. (2005), Moussa ve ark. (2007), Vaudagna ve ark. (2012), Bulut (2014b)'un sonuçları ile paralellik göstermektedir. D+ örneklerde YHB'nin sıfırın altındaki sıcaklıklarda mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerindeki etkisiyle ilgili tutarsızlıklarda, mikroorganizma türü, gıdanın özellikleri,  $a_w$ , gıdanın protein veya yağ içeriği, basınçlandırma parametreleri ve basınç salınma süresi gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Ancak mikrobiyal azalma sonuçlarına göre bu çalışma için durum ve sıcaklık ayrı ayrı etkili iken, birlikte etkili tespit edilmemiştir. Bu durum çalışmadaki basınçlama parametrelerinde her iki etkinin birbirinden farklı ve bağımsız mekanizmalarının olduğunu göstermiştir.

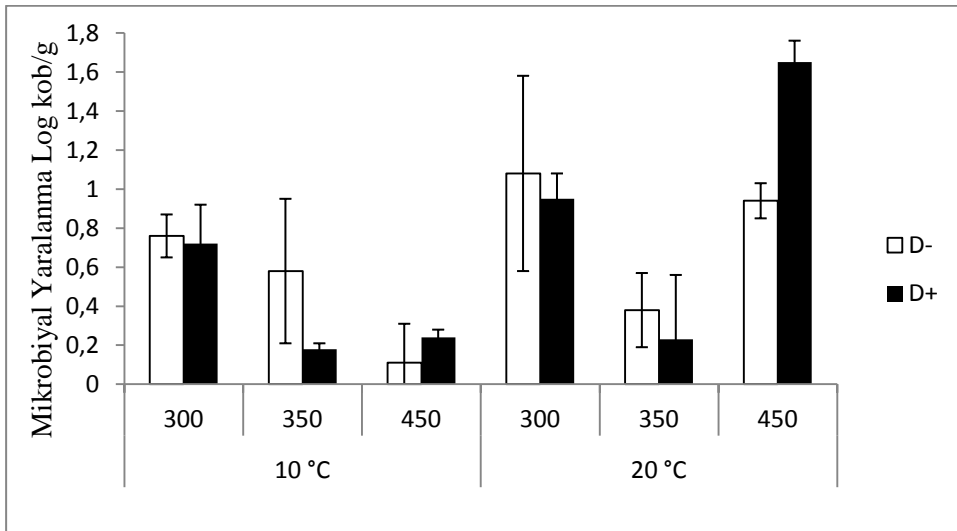
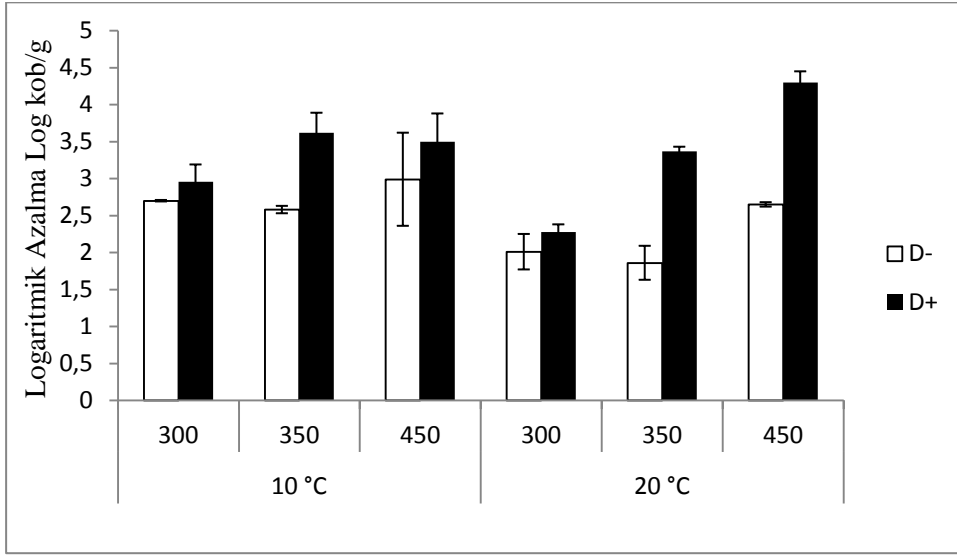
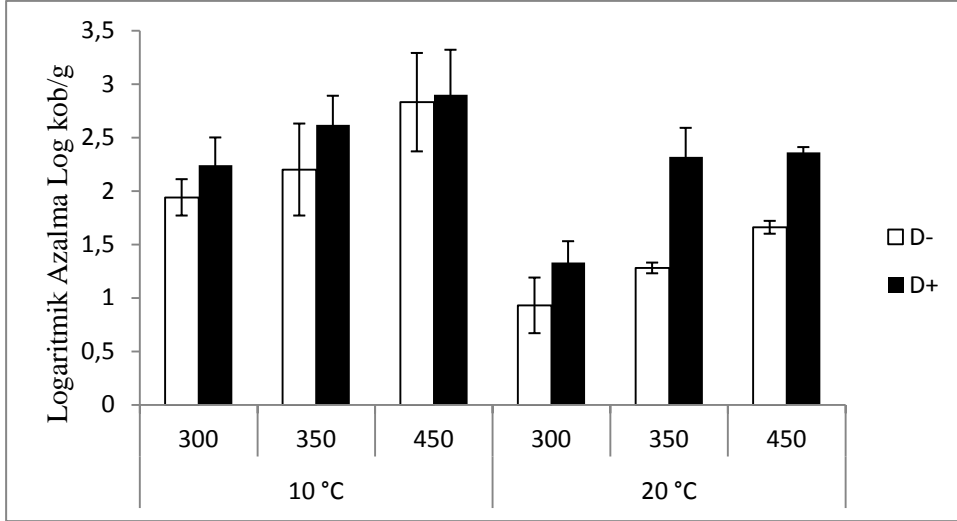
Ayrıca yukarıda belirtildiği gibi tüm örneklerde elde edilen ölüm düzeyleri ile düşük sıcaklık-orta sıcaklık inaktivasyon seviyeleri üzerine yazarlar tarafından farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmada D- örneklerdeki yaralanma derecesi D+ örneklerinde elde edilen yaralanma derecesinden daha yüksek olmuştur. Ayrıca Şekil 4.8c'de verildiği gibi 10 ve 20 °C'de YHB ile yaralanma düzeyleri -10, -5 ve 0 °C'ye göre daha yüksek tespit edilmiştir. Sonuçlar mikrobiyal hücrelere (zarar veya ölüme neden olan) YHB'nin hasar mekanizmalarının, sıfırın altındaki ve düşük sıcaklıklarda farklı olabildiğini göstermektedir. Ayrıca D+ örneklerde hücrelerin yaralanma durumunda dondurma, çözünme, basınçlama gibi stres faktörleri yaşandığından büyük olasılıkla birikmiş hasarların ölüm düzeyinde yaralanmaya neden olduğu, dolayısıyla daha az yaralanma derecesi görüldüğü söylenilebilir. Benzer şekilde Bulut (2014b) kıyılmış sığır etinde yaptığı çalışmada, D+ ve D- örneklerde -10 ve 20 °C aralığında 300 Mpa (5 dk) YHB sonrasında tüm örneklerde sıfırın altındaki sıcaklıklarda mikrobiyal yaralanmanın çok düşük olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmanın sonuçları araştırma sonuçları ile benzer bulunmuştur.

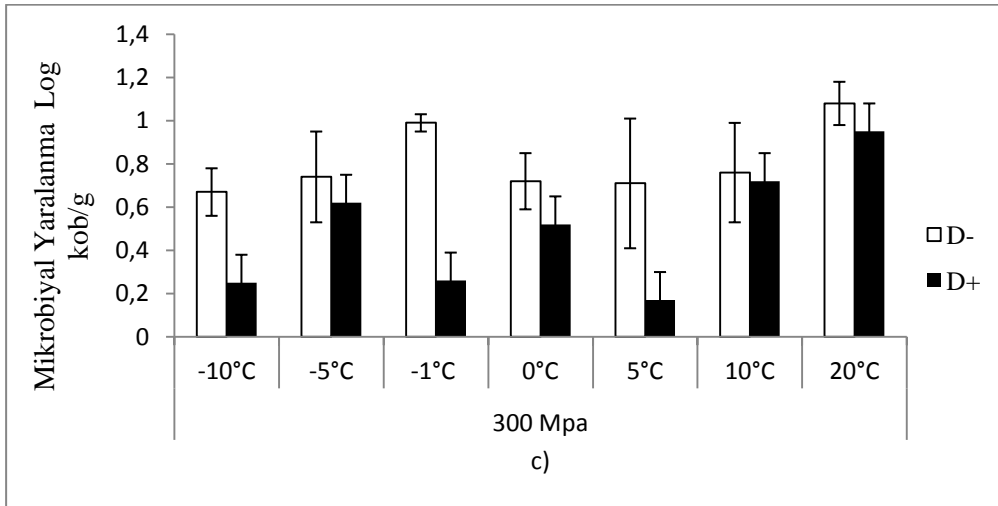
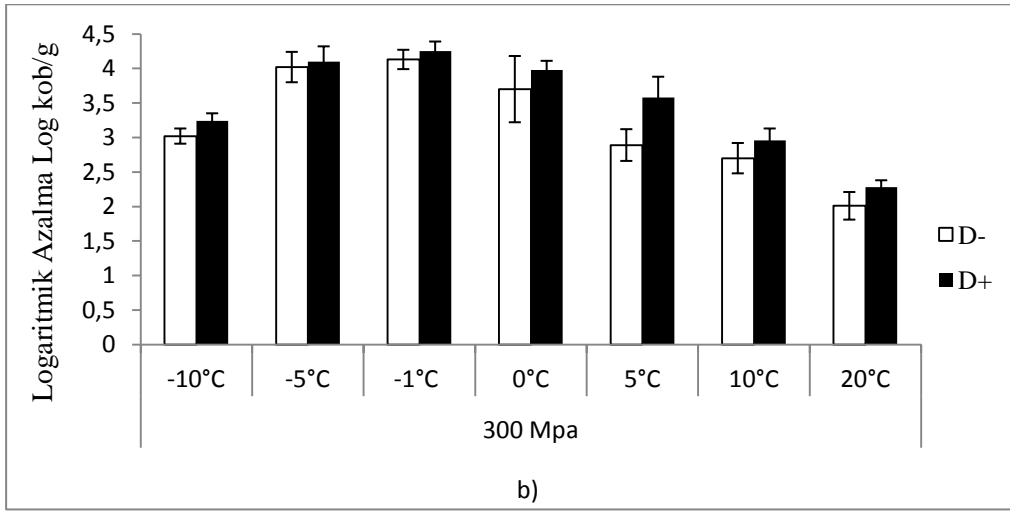
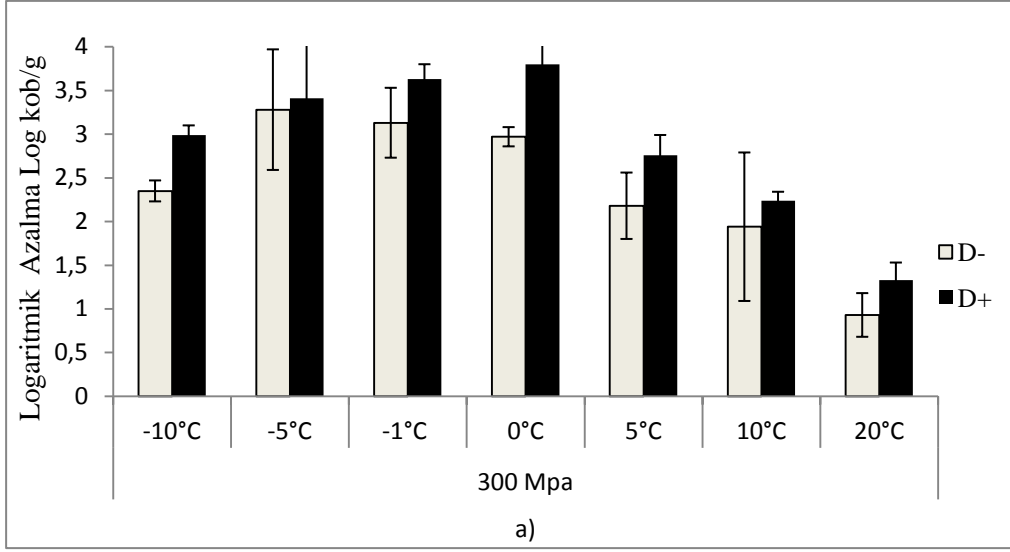
Genel olarak, Gram(+) bakterilerin Gram(-) bakterilere göre basınca daha dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Hoover ve ark. 1989). Ancak tüm çalışma sonuçları değerlendirildiğinde *E. coli* 25922 (Gram-) *L. innocua* 33090'ya (Gram+) ve *S. typhimurium* 14028'a Gram(-) göre daha dirençli tespit edilmiştir. Benzer şekilde diğer bir çalışmada *E. coli*, *L. monocytogenes*'e göre YHB'a daha büyük bir direnç göstermiş ve YHB seviyelerinde Gram(+) ve Gram(-) bakterilerinin direnç mekanizmalarının değişebildiğini gösterilmiştir. Ramaswamy ve ark. (2008), basınç hassasiyetinin gıdada diğer etkileşim faktörleri nedeniyle değişkenlik gösterebildiğini, yağ açısından zengin bir balık olan uskumruda yapılan çalışmada yağın *E. coli* hücrelerine koruma sağlayabileceğini ve besinin pH'sının farklı mikroorganizmalar için direnç değişimine neden olabileceğini bildirmişlerdir.



**Şekil 4.6.** *E. coli* 25922 inokule edilmiş taze kıymada 10 °C’de YHB ile a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde elde edilen logaritmik azalma ve c) yarananma derecesi sonuçları



**Şekil 4.7.** *E. coli* 25922 inokule edilen taze kıymada 5 dk YHB ile elde edilen a) genel besiyerinde b) seçici besiyerinde logaritmik azalma ve c) yaralanma derecesi sonuçları



**Şekil 4.8.** *E. coli* 25922 inokule edilen taze kıymada 300 MPa YHB ile elde edilen **a)** genel besiyerinde **b)** seçici besiyerinde logaritmik azalma ve **c)** yaranma derecesi sonuçları



#### 4.5. YHB'nin İnokule Edilmeyen Kıyma Örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısına Etkisi

İnokulasyon yapılmamış taze kıyma örneklerinde etlerin başlangıç TMAB seviyesi ortalama  $4,81 \pm 0,11 - 6,86 \pm 0,42$  log kob/g aralığında tespit edilmiştir. Taze kıymada  $N_0$ TMAB seviyeleri ve TMAB inaktivasyonu üzerine farklı basınç ve sürelerde YHB'nin etkisi Çizelge 4.10'da farklı sıcaklıklarda basınç şiddetinin etkisi Çizelge 4.11'de, sabit basınç ve düşük sıcaklık ile sıfırın altındaki sıcaklıklarda YHB'nin logaritmik azalma üzerine etkisi Çizelge 4.12'de verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** İnokule edilmemiş taze kıymada 300, 350, 450 MPa, 10 °C, 5 dk, 10 dk, 15 dk YHB ile toplam mezofilik aerobik akteride elde edilen logaritmik azalma sonuçları

Basınç (MPa)	Süre(dk)	$N_0$ TMAB (Log kob/g)		LogaritmikAzalma (Log kob/g)	
		D-	D+	D-	D+
300	5	6,36±0,36	5,85±0,48	1,51±0,25	2,24±0,89
	10	6,36±0,36	5,85±0,48	1,64±0,11	2,15±0,52
	15	6,36±0,36	5,85±0,48	2,03±0,17	3,85±0,52
350	5	4,81±0,11	4,37±0,15	2,41±0,82	2,94±0,49
	10	5,81±1,10	5,93±0,69	3,76±1,09	3,79±0,67
	15	6,50±0,91	6,22±2,30	3,44±1,07	3,54±0,99
450	5	4,85±0,35	4,68±0,35	2,93±0,25	2,87±0,54
	10	5,26±0,82	6,08±0,51	4,25±0,60	4,33±0,65
	15	6,15±0,42	5,81±1,10	4,70±1,31	4,75±1,17

N= 6 İnokule edilmemiş YHB uygulanmış et örneklerinde logaritmik azalma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Çizelge 4.10'da basınç ve basınçlama süresinin TMAB sayısına etkisi incelenmiş ve  $P < 0,05$  ve  $R^2$  değeri 0,762 elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre durum, basınç, süre, durum\*basınç ve basınç\*süre faktörleri önemli bulunmuş ( $P < 0,05$ ) olup,  $\eta^2$  değerlerine göre TMAB inaktivasyonunda en etkili faktör basınç faktörü olmuştur (0,614). Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre 300-350 MPa inaktivasyon sonuçları ile 350-450 MPa sonuçları farklı bulunmuşken ( $P < 0,05$ ), 5-10 dk sonuçları ve 5-15 dk sonuçları farklı elde edilmiştir ( $P < 0,05$ ).

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi TMAB inaktivasyonu üzerine sürenin etkisi önemsizken, basınç etkili tespit edilmiştir. 300 MPa'da tüm süre ortalamalarına göre 2,24 log

kob/g azalma gerçekleşmiş iken, 350 ve 450 MPa’da sırasıyla 3,35 ve 3,97 log kob/g azalma olduğu gözlenmiştir.

Jung ve ark. (2003) sığır etinde yaptıkları çalışmada 130 MPa işleminden sonra örneklerin toplam florası kontrol örnekleri ile benzer iken 520 MPa işleminden sonra 2,5 log kob/g azalma bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışma sonuçlarında da artan basınç ile inaktivasyon artış göstermiş olup, süre etkisinde düzensizlikler mevcuttur. İnokule edilmemiş et örneklerinde baskın floranın türüne göre YHB’ın etkisi değişebilmektedir.

**Çizelge 4.11.** İnokule edilmemiş taze kıymada 300, 350, 450 MPa (10, 20 °C, 5dk) YHB ile Toplam Mezofilik Aerobik bakteride elde edilen logaritmik azalma sonuçları

Sıcaklık°C	Basınç(MPa)	N <sub>0</sub> TMAB (log kob/g)		Logaritmik Azalma (log kob/g)	
		D-	D+	D-	D+
20	300	5,1±0,25	6,36±0,32	0,90±0,14	1,10±0,11
	350	5,5±0,59	4,96±0,38	1,76±0,55	2,12±0,63
	450	5,5±0,62	5,39±0,87	2,98±0,86	3,42±0,70
10	300	6,36±0,36	5,85±0,48	1,51±0,25	2,24±0,89
	350	4,81±0,11	4,37±0,15	2,41±0,82	2,94±0,49
	450	4,85±0,35	4,68±0,35	2,93±0,76	2,87±1,31

N= 6 İnokule edilmemiş YHB uygulanmış et örneklerinde logaritmik azalma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Yukarıdaki çizelgede sabit sürede (5 dk) basınç ve basınçlama sıcaklığının (düşük ve oda sıcaklığı) etkisi incelenmiştir. Bu sonuçlara göre  $P<0,05$ 'tir.  $R^2$  değeri ise 0,653 olup, TMAB inaktivasyonunda durum, sıcaklık, basınç, basınç\*sıcaklık faktörleri önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $\eta^2$  değerlerine göre basınç (0,561), TMAB inaktivasyonunda en etkili faktör olmuştur. Bütün basınç değerleri sonuçları arasında farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

20 °C’de 300 ve 450 MPa YHB ile 10 °C’ye göre daha fazla mikrobiyal azalma olduğu görülmektedir (Çizelge 4.11). Düşük sıcaklıklarda daha yüksek inaktivasyon elde etmek için sıcaklığın 10 °C’nin altına düşülmesi gerektiği bu çalışma sonuçlarına göre söylenilebilir. Örneklerin dondurulması 300 ve 350 MPa’da 10 ve 20 °C’de daha fazla azalma sağlarken, 450 MPa’da 10 °C’de D+ örneklerde bu azalma gerçekleşmemiştir. Bu durumun basınç değerindeki artışa paralel olarak artan sıkıştırma sıcaklığından dolayı D+ örneklerdeki buz kristallerinin erimesi nedeniyle oluşmuş olabilir (Ek 1).

Oda sıcaklığında 450 (5dk) MPa ile 3,42 log kob/g ve 10 °C'de 350 Mpa (5 dk)'da YHB ile yaklaşık 2,94 log kob/g olup, D+ örneklerde gözlenmiştir (Çizelge 4.11). Diğer araştırma sonuçlarına göre daha düşük basınçlarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Hajós ve ark. (2004), 20 dk, 600 MPa YHB ile sosis doğal mikroflorasında TMAB sayısında 3 log kob/g'dan fazla azalma sağlarken, Fernandez ve ark. (2007) 650 MPa, 10 dk (20 °C ve -35 °C)'da yaptıkları YHB çalışması ile TMAB sayısında farklı sıcaklıklarda olmak üzere 2 log kob/g inaktivasyon sağladıklarını bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.12.** İnokule edilmemiş örneklerde 300 MPa (-5, 0, 10 °C, 5, 10, 15 dk) YHB ile Toplam Mezofilik Aerobik bakteride elde edilen logaritmik azalma sonuçları

Basınç(MPa)	Sıcaklık(°C)	Süre(dk)	N <sub>0</sub> TMAB (log kob/g)		LogaritmikAzalma (log kob/g)	
			D-	D+	D-	D+
300	10	5	6,36±0,36	5,85±0,48	1,51±0,25	2,24±0,89
		10	6,36±0,36	5,85±0,48	1,64±0,11	2,15±0,52
		15	6,36±0,36	5,85±0,48	2,03±0,17	3,85±0,52
	0	5	6,30±0,56	5,83±0,48	1,58±0,49	2,13±0,22
		10	6,65±0,71	4,55±0,58	1,48±0,55	2,07±1,32
		15	6,86±0,42	4,60±0,65	1,97±0,13	2,23±0,13
	-5	5	6,3±0,58	5,70±0,71	2,37±0,30	2,96±0,27
		10	6,65±0,71	6,09±0,12	2,33±0,02	3,04±0,02
		15	6,65±0,71	6,09±0,12	3,84±0,06	5,00±0,15

N= 6 İnokule edilmemiş YHB uygulanmış et örneklerinde logaritmik azalma (log kob/g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. D-:Dondurulmamış, D+:Dondurulmuş

Çizelge 4.12'de sabit basınçta basınçlama sıcaklığı (sıfırın altında ve üzerinde) ve basınçlama süresinin etkisi incelenmiş ve  $P<0,05$ ,  $R^2$  0,999 elde edilmiştir. Mikrobiyal azalma sonuçlarına göre durum, sıcaklık, süre, durum\*sıcaklık, sıcaklık\*süre, durum\*sıcaklık\*süre etkileşim faktörleri bu çalışma parametrelerinde önemli olup ( $P<0,05$ ),  $\eta^2$  değerlerine göre inaktivasyonda tüm faktörler yüksek etki değeri taşıdığı gözlenmiştir. Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre -5 °C sonuçları, 0 °C ve 10 °C sonuçlarından yüksek bulunmuşken ( $P<0,05$ ), 0 °C sonuçları 10 °C sonuçları benzer ( $P>0,05$ ), 0 °C ile -5 °C sonuçları farklı ( $P<0,05$ ) tespit edilmiştir. Ayrıca 5 dk sonuçları 10 dk sonuçları ile benzer ( $P>0,05$ ), 15 dk sonuçlarından düşük tespit edilmişken ( $P<0,05$ ), 10 ve 15 dk sonuçları arasındaki farklılıkta önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

300 MPa'da (5 dk) maksimum TMAB inaktivasyonu -5 °C'de (2,96 log kob/g), D+ örneklerde (Çizelge 4.12), en düşük inaktivasyon ise 20 °C'de D- örneklerde (0,90 log kob/g) gözlenmiştir (Çizelge 4.11). Tüm sıcaklıklarda 300 MPa YHB ile TMAB'da -0,2-0,6 logkob/g D+ örneklerde D- örneklerine kıyasla daha fazla mikrobiyal azalma olmuştur. 300 MPa (10, 0, -5 °C) ve 5, 10, 15 dk çalışma sonuçlarına (Çizelge 4.12) göre dondurma tüm süre ve sıcaklıklarda inaktivasyonu artırmıştır. En yüksek ölüm düzeyi tüm süre ortalamaları dikkate alındığında -5 °C'de gerçekleşmiş (P<0,05) olup, -5 °C, 15 dk YHB parametresi farklı bulunmuştur (P<0,05). 0 °C'de süre değişimi etkili değilken, -5 °C ve 10 °C'de 15 dk'da azalma önemli oranda artmıştır (P<0,05). D- grupta tüm sıcaklıkların ortalamalarına göre 5, 10 ve 15 dk'da sırası ile ölüm düzeyi 1,82, 1,81, 2,61 log kob/g düzeyinde iken, D+ grupta sırasıyla 2,24, 2,41, 3,69 log kob/g olmuştur.

Yukarıdaki sonuçların aksine 300 Mpa (5 dk, 20 °C) YHB sonuçlarına göre durum faktörünün bu sıcaklıkta etkili olmadığı görülmüştür. Bu durum 20 °C'de basınçlama sırasında, kabin içindeki sıcaklığa sıkıştırmadan kaynaklı 8-11 °C sıcaklık artışı da eklenmesi ile D+ örneklerde buz formları kalmamış olması (Ek 1a) ve dolayısıyla D+ örneklerde 20 °C'de basınçlamanın D- örneklere kıyasla sadece 0,2 log kob/g ek ölüm düzeyi getirmiş olması ile açıklanabilir. Bu küçük logaritmik fark mikrobiyal hücrelere gece boyunca dondurucuda bekleyen ve basınçlama esnasında çözünme gibi adaptasyonu etkileyen faktörlerin basınç stresi ile de birleşerek hücrelerde oluşan toplu etkinin verdiği hasardan kaynaklanabilir. Ayrıca oda sıcaklıklarında mikrobiyal hücrelerin membran yapılarının daha akışkan yapıda olması beklendiğinden dolayı düşük sıcaklıklara nazaran hasar düzeyi düşmüştür. Çalışma sonuçlarını destekleyen bir diğer çalışmada; Malinowska ve ark. (2013), inokule edilmemiş domuz eti ve sığır etindeki başlangıç 4,3 log kob/g TMAB sayısını, -5 °C'de 60 MPa YHB'in değiştirmedeğini, 193 MPa (-20 °C) YHB ile domuz eti ve sığır etinde sırasıyla 1,1 ve 0,6 log kob/g azalmaya gerçekleştiğini ve oda sıcaklığında, 200 MPa ya da altındaki basınç işlemleri ile, sığır etinin TMAB düzeyini önemsiz derecede etkilediğini bildirmişlerdir.

Vaudagna ve ark. (2012), D+ ve D- carpoccico örneklerinde 400 ve 650 MPa'da (-30 °C ve 20 °C) yaptıkları araştırmada TMAB sayısında 650 MPa'da 20 °C de sırasıyla 1 ve 5 dk'da 2,9 ve 4,4 log kob/g azalma 400 MPa' da (20 °C) 1 dk ve 5 dk aralığında sırasıyla 1,7-2,6 log kob/g TMAB azalma saptadıklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte -30 °C'de YHB sonrası, TMAB için elde edilen en yüksek azalma sırasıyla 1,9 log kob/g'dır. Benzer şekilde marine edilmiş sığır etinde Garriga ve ark. (2004) 600 MPa (31°C, 6 dk) işlem ile TMAB

sayısında 4 log kob/g azalma bildirmişlerdir. Ayrıca Carlez ve ark. (1994), 400, 450 MPa ile toplam florada sırasıyla 3 ve 5 log kob/g azalma sağladıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda 300 MPa (-5 °C, 15 dk) YHB ile D+ örneklerde 5 log kob/g azalma elde edilmiştir. Çalışma sonuçları diğer araştırmacıların sonuçları ile uyum içinde olup, benzer basınç parametrelerinde farklı sonuçlar taze ette farklı başlangıç mikrobiyal yük seviyesi ve farklı mikroflora nedeniyle değişkenlik gösterebilmektedir. İnokulasyon yapılmamış kıyma örneklerinde etlerin başlangıç TMAB seviyesi yaklaşık 4,85-6,86 log kob/g aralığında olup, normal şartlarda bu seviyede mikroorganizma yükü mikrobiyal kalite açısından düşük kalite bir et örneği sayılmaktadır. Sığır etinde TMAB seviyesinin ortalama 4-4,5 log kob/g olduğu düşünülecek olursa, bu çalışma sonuçlarına göre 300 MPa (-5 °C, 15 dk) ve 450 MPa (10 ve 15 dk) YHB ile mikrobiyal yükün önemli ölçüde azaltılabileceği anlaşılmaktadır. Ancak bu parametrelerde etin renk ve tekstür değişimlerinin ne yönde geliştiği ve patojen mikroorganizmaların elemine edilebileceği parametrelerin sistematik analiz edilmesi önemlidir.

#### **4.6. İnokule edilmemiş taze kıymada *Listeria spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli* inaktivasyon düzeyi**

İnokule edilmemiş taze kıymada YHB'nin *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* üzerine farklı sıcaklık, basınç ve süre etkileri incelenmiş olup, çalışmada taze kıymada olabilecek patojenlere basınç, sıcaklık ve sürenin etkisini değerlendirmek amaçlandığından zenginleştirme aşaması olmadan direkt seçici besiyerine ekim yapılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'te verilmiştir. Başlangıç mikroorganizma seviyeleri yaklaşık 1,5 log kob/g *Salmonella spp.*, 1 log kob/g *Listeria spp.* ve 2,2 log kob/g *E. coli* olan D- ve D+ kıyma örneklerinde YHB (350 MPa, 10 °C, 10 dk) sonrasında söz konusu mikroorganizmalar tespit edilememiştir. *E. coli* için 350 MPa (10 °C), 5 ve 15 dk'da sırasıyla 2,77, 2,85 log kob/g *E. coli* inaktive edilmiştir. *E. coli* için 300 MPa'da en düşük inaktivasyon 10 °C'de (1,17 log kob/g) sağlanmıştır. 300 MPa (0 °C, 15dk) ve 300 MPa'da -5 °C'de, 10, 15 dk'da yaklaşık 5 log kob/g *E. coli* tamamen inaktive olmuş ve 450 MPa (5 dk, 10 °C) YHB ile tespit limitinin (<10 log kob/g) altında kalmıştır. 350 MPa yeterli bir basınç değeri olarak değerlendirilebilir olup, üzerindeki basınç şiddetleri renk ve tekstür özelliklerindeki olumsuzlukları nedeniyle uygun değildir. Çizelge 4.13'e göre *E. coli*'de düşük basınçlarda dahi sıfırın altındaki sıcaklıklarda yüksek mikrobiyal azalma gerçekleşmiş olup ayrıca D+ örneklerde daha yüksek mikrobiyal azalma gerçekleştiği görülmüştür.

**Çizelge 4.13.** İnokule edilmemiş örneklerde YHB’ın patojen bakteriler üzerine etkisi

Sıcaklık °C	Basınç (Mpa)	Süre (dk)	<i>N<sub>0</sub> Salmonella</i>		<i>Salmonella</i> (Log azalma)		<i>N<sub>0</sub> Listeria</i>		<i>Listeria</i> (Log azalma)		<i>N<sub>0</sub>E. coli</i>		<i>E. coli</i> (Log azalma)		
			D-	D+	D-	D+	D-	D+	D-	D+	D-	D+	D-	D+	
0	300	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,48±0,85	5,10±0,25	1,97±0,27	2,76±0,75
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,48±0,85	5,10±0,25	1,93±0,10	-
		15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,48±0,85	5,10±0,25	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,92±0,92	4,91±0,75	3,16±0,50	3,58±0,76
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,15±0,71	4,91±0,75	-	-
		15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,15±0,71	5,10±0,25	-	-
10		5	-	-	-	-	-	-	-	-	5,48±0,70	5,10±0,58	1,17±0,28	1,67±0,49	
10	350	5	-	-	-	-	-	-	-	-	4,50±0,56	4,23±0,38	2,50±0,25	2,77±0,13	
		10	-	1,50±0,50	-	-	-	1,00±0,36	-	-	2,21±0,15	2,19±0,19	-	-	
		15	-	-	-	-	-	-	-	-	4,50±0,36	4,25±0,34	2,51±0,14	2,85±0,75	
	450	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	300		-	-	-	-	-	-	-	-	5,48±0,70	5,10±0,58	2,10±0,22	2,39±0,25	
	350	5	-	-	-	-	3,0±0,30	3,18±0,42	2,47±0,60	2,43±0,36	3,18±0,25	3,22±0,69	2,07±0,70	-	
	450		-	-	-	-	3,0±0,30	3,18±0,42	3,00±0,52	2,25±0,58	3,06±0,63	3,02±0,42	2,44±0,55	-	

N=6 (10 g) Sonuçlar, ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. (Zenginleştirme yapılmamıştır.Log kob/g)

## 4.7. Taze Kıymanın Renk Parametreleri Üzerine YHB'nin Etkisi

### 4.7.1. Sabit sıcaklıkta farklı basınç ve farklı sürelerde YHB'nin taze kıymanın renk parametrelerine etkisi

Sabit sıcaklıkta (10 °C) farklı basınçlarda (300 MPa'da 10 °C'de mikrobiyolojik sonuçlar optimum düzeyde elde edilmediğinden bu parametrede süre etkisi çalışılmamıştır) ve farklı sürelerde YHB'nin kıymanın renk parametrelerine etkisi ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.14 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. 350/450 MPa, 10 °C, 5, 10, 15 dk YHB ile elde edilen bulguların değerlendirildiği istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

L\*, a\*, b\* ve  $\Delta E$  değeri için basınç ve süre parametreleri yönünden farklılık tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ).  $R^2$  değerleri ise sırasıyla L\*, a\*, b\* ve  $\Delta E$  için 0,952, 0,988, 0,785 ve 0,874 bulunmuştur. L\* sonuçlarına göre basınç, durum, süre ve basınç\*durum, durum\*süre önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Süre değişkeni için 5 ve 10 dk sonuçları arasında ve 10 ile 15 dk sonuçları arasında farklılık tespit edilmemiştir ( $P > 0,05$ ). Bu sonuçlara göre çalışma parametrelerinde L\* değerini en fazla durum ( $\eta^2$  0,913) ve basınç\*durum ( $\eta^2$  0,854) faktörünün etkilediği saptanmıştır.

a\* değeri için ise basınç ( $\eta^2$  0,777), durum ( $\eta^2$  0,807), süre ( $\eta^2$  0,341), durum\*süre ( $\eta^2$  0,336), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,174), durum\*basınç\*süre ( $\eta^2$  0,445) önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). 5 dk sonuçları 10 dk ve 15 dk sonuçlarından farklı tespit edilmiş olmasına rağmen ( $P < 0,05$ ), 10 ve 15 dk sonuçları benzer bulunmuştur ( $P > 0,05$ ). Ayrıca 350 MPa'da a\* değerleri 450 MPa sonuçlarına kıyasla daha düşük tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ).

b\* değişkeni için basınç ( $\eta^2$  0,634), durum ( $\eta^2$  0,439) ve süre ( $\eta^2$  0,447) önemli faktör olarak bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). 10 dk sonuçları 5 dk ve 15 dk sonuçlarından farklı tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ).

$\Delta E$  üzerine basınç ( $\eta^2$  0,707), durum ( $\eta^2$  0,767), durum\*süre ( $\eta^2$  0,258) ve durum\*basınç ( $\eta^2$  0,385) önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P < 0,05$ ).

Kıyma örneklerinde basınç faktörü tüm bağımlı değişkenler (L\*, a\*, b\*,  $\Delta E$ ) üzerinde etkili tespit edilirken, durum faktörü en fazla L\* ve a\* değişkenini etkilemiştir. 350 MPa'da örneklerin L\* değerleri kontrol örneklerine kıyasla 6-8 birimlik artma göstermişken, 450 MPa'da 12 birimlik artış oluşmuştur (Şekil 4.9). İki basınç değeri arasındaki ortalama L\* değeri farkı D- örneklerde 4-6 birim tespit edilmiştir. Ancak D+ örneklerde bu fark kaybolmuştur.

**Çizelge 4.14.** Taze kıymada 350 MPa, 450 MPa (10 °C, 5, 10, 15 dk) YHB sonucunda elde edilen L\*, a\*, b\*, ΔE sonuçları

İşlem			L*		a*		b*		ΔE	
Sıcaklık (°C)	Basınç (MPa)	Süre (dk)	D-	D+	D-	D+	D-	D+	D-	D+
*Kontrol			39,05±0,15	39,61±0,10	14,71±0,08	14,08±0,50	15,04±0,25	15,64±0,07		
350	10	5	47,16±0,83	46,16±1,35	9,43±0,50	11,36±0,81	15,26±0,22	15,76±0,54	10,02±1,09	7,21±1,49
		10	47,65±0,76	45,89±1,33	8,88±0,28	10,56±0,66	15,44±0,06	16,39±0,92	10,4±0,61	7,27±1,40
		15	48,07±0,14	47,45±1,15	8,34±0,10	11,10±0,20	15,27±0,15	16,15±0,25	9,02±0,12	7,83±1,16
*Kontrol			38,82±1,59	36,62±0,52	13,03±1,31	11,88±0,48	13,97±1,20	13,95±0,36		
450	10	5	52,17±0,89	44,58±0,49	8,81±0,71	8,98±0,25	14,15±0,70	14,57±0,12	14,05±2,04	8,5±0,19
		10	54,42±0,48	44,72±0,41	6,69±0,14	9,73±0,07	15,27±0,13	15,74±0,01	17,08±0,88	8,58±0,55
		15	51,97±0,65	46,55±0,02	7,57±1,05	8,64±0,14	14,46±0,50	14,78±0,31	14,33±2,61	10,47±0,56
*Kontrol			38,56±0,18	39,95±0,68	12,96±0,22	11,24±0,01	15,64±0,41	15,79±0,12		
350	20		48,98±3,04	47,63±2,90	12,96±1,41	9,48±0,76	15,74±1,25	15,6±0,95	11,27±4,81	9,49±4,94
	10		47,16±0,83	46,16±1,35	9,43±0,50	11,36±0,81	15,26±0,22	15,76±0,54	10,02±1,09	7,29±1,49
*Kontrol		5	36,01±0,58	36,17±1,27	13,12±0,19	11,11±0,18	13,75±0,32	13,89±0,07		
450	20		51,04±1,10	49,73±1,64	10,28±0,58	9,10±0,41	16,19±0,61	15,96±0,67	13,3±3,21	11,3±3,22
	10		52,17±0,89	44,58±0,49	8,81±0,71	8,73±0,25	14,15±0,70	14,57±0,12	14,05±2,04	8,5±0,19
*Kontrol			43,05±0,50	43,49±0,61	14,42±0,11	11,51±0,60	18,06±0,05	17,06±0,19		
300	-10		49,87±0,33	45,74±0,05	14,71±0,06	12,03±0,05	19,80±0,05	16,05±0,04	7,05±0,33	2,67±0,45
	-5		49,46±0,65	46,60±0,30	14,10±0,07	10,44±0,09	18,65±0,11	17,34±0,07	6,78±0,57	3,33±0,34
	0	5	49,21±0,12	48,94±0,16	13,30±0,42	9,86±0,22	18,32±0,10	17,39±0,25	6,28±0,48	5,93±0,45
	10		49,12±0,37	48,49±0,36	14,36±0,15	9,93±0,24	19,28±0,33	17,66±0,14	6,20±0,69	5,10±0,32
	20		49,25±0,27	49,21±0,26	14,93±0,55	10,7±0,62	19,40±0,45	17,63±0,60	6,38±0,37	5,66±0,16

N=3 Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.\*Değerler kontrol örneklerinin renk parametrelerine ait değerler olup her iki basınçlama işleminde ayrı parti et örnekleri kullanılmıştır.\*Düşük (300 MPa) basınçta 10,20 C'de mikrobiyal azalma düşük olduğundan ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda sadece sıcaklığın sabit basınçta etkisi araştırıldığından ve oda sıcaklığında (20 °C) renk değerleri değişimi yüksek olduğundan bu parametrelerde süre etkisi çalışılmamıştır.



Taze ette renk kriterleri YHB parametrelerine bağlı olmakla birlikte 0 °C'nin üzerinde yapılan YHB uygulamalarında etin renginde kırmızılaşmada ( $a^*$ ) azalma yahut açılmada ( $L^*$ ) artma olabilmektedir (Montero ve Gomez 2005, Vaudagna ve ark. 2012, Marcos ve ark. 2010). YHB ile renk açılması ile ilgili çalışma sonuçları bu çalışma sonuçları ile benzer bulunmuştur. Montero ve Gomez (2005),  $L^*$  değerinde artışın ve  $a^*$  değerinde azalışın süreden daha çok kritik basınç eşik değerine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada örneklerin dondurulması basınç değişimi etkilerine karşı ette  $L^*$  değeri üzerine tazelik özelliklerinin korunmasına katkıda bulunmuştur. Oysa D- örneklerde 450 MPa (10 °C, 10-15 dk) basınç işleminde et renginde önemli sayılabilecek renk farklılığı oluşmuştur. Benzer şekilde Vaudagna ve ark. (2012) donmuş sığır carpaccioda (400 ve 650 MPa) donmamış örneklere kıyasla daha düşük beyazlaşma belirtmişlerdir.

Çizelge 4.14 sonuçlarına göre kırmızılık için basınç süresine nazaran basınç şiddeti ve durum daha etkili parametreler olmuştur. Bu yönüyle Jung ve ark. (2003)' nın sonuçları ile de uyumlu tespit edilmiştir. Jung ve ark. (2003), 350-600 MPa (10 °C, 20-300 sn)'da yaptığı çalışmada 300 MPa'dan daha yüksek basınçların ette renk parametrelerinde değişikliğe neden olduğunu,  $\Delta E$  (10 birim) değişiminde sadece basıncın etkisinin anlamlı olduğu sonucuna varmışlardır. Renk parametreleri ve metmyoglobin içeriği üzerinde basıncın şiddetinin, tutma süresinden daha önemli olduğu bildirilmiştir. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi kıymanın  $a^*$  değerleri basınç şiddetinin artmasıyla azalmış, ancak D+ örneklerde  $a^*$  ve  $\Delta E$  değerleri D- örneklere göre nispeten daha yüksek tespit edilmiştir. Benzer şekilde Carlez ve ark. (1995) kıyılmış ette, 500-300 MPa aralığında  $a^*$  değerlerinde azalmada basınç ve bekleme süresinin etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca Mussa (1999), domuz pirzolasında 350 MPa (10-20 dk, 25 °C) işlemden sonra kırmızılıkta azalma bildirmişlerdir. Bu azalmanın metmyoglobinde ( $Fe^{3+}$ ) artmaya bağlı olarak etin kahverengi renge dönmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Taze ette YHB'nin olumsuz etkisi henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Genel olarak, YHB ile renk kaynaklı değişiklikler, özellikle kırmızı ette miyoglobin içeriğine bağlı olup, istenmeyen değişiklikler YHB proses parametreleri optimize edilerek sınırlandırılabilir (Bajovic ve ark. 2012).

Çizelge 4.14 sonuçlarına göre  $b^*$  değerleri 350 MPa'da 450 MPa' sonuçlarına kıyasla yüksek olsada kontrol örneklerinin değerlerine göre her iki basınç değerinde de minimum ve eşit artış olmuştur. Ayrıca süre ve basınç etkisi kıymanın  $b^*$ (sarılık) değeri için önemli bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Oysa Vaudagna ve ark. (2012) 400 MPa'da 1 ile 5 dk aralığında ve 400-650 Mpa aralığında  $b^*$  değerlerinde önemli artış bildirmişlerdir.

#### 4.7.2. Sabit sürede, farklı sıcaklıklarda YHB'nin taze kıymanın renk parametrelerine etkisi

Düşük ve oda sıcaklığında (10 °C ve 20 °C ),sabit sürede (5 dk) ve 300, 350, 450 MPa'daYHB'nin kıymanın renk parametrelerine etkisi ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.14 ve Şekil 4.10'da verilmiş olup bu sonuçların istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

L\*, a\*, b\*, ΔE değeri farklılık içermekte olup (P<0,05), L\*, a\*, b\*, ΔE için sırasıyla R<sup>2</sup> değerleri 0,644, 0,934, 0,907 ve 0,622 elde edilmiştir. L\* için basınç (η<sup>2</sup> 0,242), durum (η<sup>2</sup> 0,317), sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,178) ve basınç\*durum (η<sup>2</sup> 0,270) önemli bulunmuştur (P<0,05). 350 MPa sonuçları 300 ve 450 MPa sonuçları ile farklı olup (P<0,05), 300 ve 450 MPa sonuçları benzer tespit edilmiştir (P>0,05).

a\* değeri için Çizelge 4.15'de belirtilmiş olan değerlerin istatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre basınç (η<sup>2</sup> 0,855), durum (η<sup>2</sup> 0,755), sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,346), basınç\*durum (η<sup>2</sup> 0,709), durum\*sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,483) ve basınç\*durum\*sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,545) önemli bulunmuştur (P<0,05). Basınç ve durum en etkili faktör olmuştur. Tüm basınç seviyeleri arasında farklılık tespit edilmiştir (P<0,05).

b\* değeri üzerine Çizelge 4.14'de belirtilmiş olan değerlerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre basınç (η<sup>2</sup> 0,887), durum (η<sup>2</sup> 0,164), sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,267), basınç\*durum (η<sup>2</sup> 0,415) ve basınç\*sıcaklık (η<sup>2</sup>0,355) önemli faktörler olarak bulunmuştur (P<0,05).350 ve 450 MPa YHB ile elde edilen sonuçlar benzer bulunmuştur (P>0,05).

ΔE değeri için ise basınç (η<sup>2</sup> 0,546) ve durum (η<sup>2</sup> 0,266) etkili faktör olarak bulunmuştur. 350-450 MPa sonuçları benzer bulunmuştur (P>0,05). 300 MPa sonuçları 350 ve 450 MPa sonuçları arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (P<0,05)

Çizelge 4.14'de verilmiş olan (10, 20 °C, 300, 350, 450 Mpa ve 5 dk) YHB sonuçlarına göre 300-450 MPa aralığında kontrol örneklerine kıyasla L\* değerleri artmış olmakla birlikte 300 MPa'da, en düşük değeri almıştır (sadece 6 birim fark oluşmuştur). Basınç şiddeti arttıkça dondurmanın beyazlaşma (L\*) üzerine etkisi artmıştır. L\*'nin tüm basınç değerlerinde örneklerin dondurulması ile daha stabil kaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte tüm örneklerde 10 °C'de 20 °C'ye kıyasla düşük bulunmuştur (Şekil 4.10).

Araştırmacılar ette YHB ile renk açılmasını miyofibriler ve sarkoplazmik proteinlerin koagülasyonuna, globülin denatürasyonuna ve hema grubunun yer değiştirmesine ya da serbest kalmasına bağlamışlardır (Carlez ve ark. 1994,1995). Bununla birlikte Xiong (2000) ette renk ve doku bozulmasının protein oksidasyonu ile ilgili olduğunu bildirmiştir. Bunun yanında Cheah ve Ledward (1997) sığır kıymasında beyazlaşmanın 200 MPa'dan sonra

artmakta ve 300-400 MPa aralığında stabilize olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kim ve ark. (2007) sığır ve domuz etinde, 100-500 MPa (15°C, 5 dk) aralığında YHB ile 300 MPa'a kadar artış bildirmişlerdir. L\* değerlerinde artış aktif pigment kaybına veya protein koagülasyonuna atfedmişlerdir. Basınç arttıkça açıklık artışının azalmış (350-450 MPa aralığında) olması yönüyle, çalışmanın sonuçları Cheah ve Ledward (1997) ile uyum içindedir. Ayrıca 300 MPa üzerindeki basınçlarda (350 ve 450 MPa'da 10 ve 20 °C'de) etin L\* değerleri D+ örneklerde D- örneklere kıyasla düşük tespit edilmiştir (Çizelge 4.14). Benzeri bir durum araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Realini ve ark. (2011) 400 MPa ve 600 MPa'da (-15 ve -35 °C) YHB öncesi dondurulmuş domuz carpoccioda düşük sıcaklıkta dondurulmuş örneklerde daha az beyazlaşma ve daha iyi görünüm tespit etmişlerdir. Ancak -15 °C'de dondurulan örneklerde kontrol örneğinden farklı olarak açılma olduğunu bildirmişlerdir.

#### **4.7.3. Sabit basınç ve sürede sıfırın altında ve üzerindeki sıcaklıklarda YHB'ın taze kıymanın renk parametrelerine etkisi**

Araştırmanın mikrobiyal analiz kısmında ön denemelerde 300 MPa'da düşük sıcaklıklarda (sıfırın üzerinde) sürenin etkisi düşük tespit edildiğinden bu çalışmada sabit basınçta (300 MPa), sabit sürede (5 dk) sıfırın altında ve sıfırın üzerindeki sıcaklıklarda (-10 °C, -5 °C, 0 °C, 10 °C, 20 °C ) çalışılmış olup, YHB'ın kıymanın renk parametrelerine üzerine sadece sıcaklığın etkisinin değerlendirilmesi amaçlandığından 300 MPa'da farklı sürelerde araştırma bulguları verilmemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.14 ve Şekil 4.11'de verilmiş olup, bu verilerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

L\*, a\*, b\*, ΔE değeri farklılık içermekte olup (P<0,05), L\*, a\*, b\*, ΔE için sırasıyla R<sup>2</sup> değerleri 0,982, 0,971, 0,774 ve 0,961 elde edilmiştir. L\* için basınç (η<sup>2</sup> 0,980), sıcaklık\*durum (η<sup>2</sup> 0,900), durum (η<sup>2</sup> 0,364), sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,364), basınç\*durum (η<sup>2</sup> 0,642), basınç\*sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,364) ve basınç\*sıcaklık\*durum (η<sup>2</sup> 0,531) önemli faktörler olarak bulunmuştur (P<0,05). L\* değeri için -10 °C sonuçları 0 °C ve 20 °C sonuçları ile farklı (P<0,05) -5 °C ve 10 °C sonuçları ile benzer tespit edilmiştir (P>0,05). L\* değeri -5 °C sonuçları sadece 20 °C sonuçları ile ve 0 °C sonuçları ile de sadece -10 °C sonuçları farklı elde edilmiştir (P<0,05). 10 °C sonuçları ise tüm sıcaklık sonuçları ile benzer tespit edilmiştir (P>0,05).

a\* değeri üzerine basınç (η<sup>2</sup> 0,529), durum (η<sup>2</sup> 0,968), sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,332), basınç\*durum (η<sup>2</sup> 0,408) ve durum\*sıcaklık (η<sup>2</sup> 0,332) etkili faktörler olarak bulunmuştur

( $P<0,05$ ).  $a^*$  değeri,  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları 0, 20,  $-5$  ve  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Çalışma parametrelerinde  $a^*$  değişkenini en fazla durum faktörünün etkilediği gözlenmiştir.

$b^*$  değeri için basınç ( $\eta^2$  0,725), durum ( $\eta^2$  0,940), durum\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,645) basınç\*durum\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,645), sıcaklık ( $\eta^2$  0,365), durum\*basınç ( $\eta^2$  0,593) ve basınç\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,365) önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $b^*$  değeri için  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları 0 ve  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer tespit edilmişken ( $P>0,05$ ).  $10$  ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı saptanmıştır ( $P<0,05$ ).  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları  $-10$  ve  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer bulunmuşken ( $P>0,05$ ),  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları  $10$  ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı ( $P<0,05$ ),  $10$  ile  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları benzer ( $P>0,05$ ) bulunmuştur.

$\Delta E$  değeri üzerine isedurum ( $\eta^2$  0,884), sıcaklık ( $\eta^2$  0,659), durum\*sıcaklık ( $\eta^2$  0,832) önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Ayrıca  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer,  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları,  $-10$  ve  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer ( $P>0,05$ ), diğer sıcaklık sonuçları ile farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile benzer ( $P>0,05$ ),  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ).  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları sadece  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonuçları ile farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

300 Mpa (20, 10, 0,  $-5$ ,  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 dk) YHB ve düşük ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda yapılan çalışmada sıcaklık ve durum için sırasıyla  $\eta^2$  değeri 0,364, 0,364 iken, durum\*sıcaklık etkileşimi etki değeri 0,900 tespit edilmiştir. Bu sonuca göre YHB ile renk değerlerinin korunmasının ancak YHB öncesinde örneklerin dondurulması ile mümkün olduğu söylenilir. Çalışmada en düşük  $L^*$  değerinin sırasıyla  $-10$  ve  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de olduğu görülmüştür (Şekil 4.11). YHB ile 0, 10,  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de elde edilen sonuçlar birbirine yakın tespit edilmiştir. Çalışmanın bütününde D+ örneklerde ve sıfırın altında çalışılan sıcaklıklarda, YHB sonrasında etin  $L^*$  değeri korunmuştur. Örneklerin dondurulması  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$  değerlerine sıcaklık faktörüne göre daha fazla etki etmiştir.

Düşük sıcaklıkta YHB'nin ette renk değişikliğini azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Fernandez 2007, Marcos ve ark. 2010, Vaudagna 2012, Bulut 2014b). Benzer şekilde Bulut (2014b) sığır kıymasında 300 MPa'da düşük ve sıfırın altında sıcaklıklarda yaptığı çalışmada  $L^*$  ile ilgili olarak durum ve sıcaklık\*durum etkileşiminin etkili faktör olduklarını, basınçlandırma sıcaklığına bakılmaksızın, YHB'dan sonra donmamış örneklerin sonuçlarının, kontrol örneklerinin sonuçlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ette  $L^*$  değerindeki basınç kaynaklı değişim bu çalışma sonuçları ile benzer tespit edilmiştir. Benzer şekilde Lowder ve ark. (2014),  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş ve 550 MPa (4 dk,  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) YHB

uygulanmış çiğ sığır etinde 4 °C'de L\* değerindeki artışın -30 °C'de kontrol örnekleri ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları sıfırın üstündeki sıcaklıklarda D- örneklerde L\* değerindeki artış ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda dondurulmuş örneklerde rengin korunması yönüyle yukarıda belirtilen çalışma sonuçları ile uyum içersindedir.

Kırmızılık (a\*) özellikle 450 MPa (10-20 °C, 5 dk) çalışmasında (Çizelge 4.14) düşme göstermişken 300 MPa'da basınç kaynaklı a\* değeri değişmemiştir. Aynı zamanda 300 MPa YHB'ta a\* değeri için sıcaklık etkisiz olup, 350 ve 450 MPa'da 20 °C'de 10 °C'ye kıyasla yüksek tespit edilmiştir. Basınçlanmış D- örneklerde -10 °C dışındaki sıcaklıklarda YHB kaynaklı kırmızılık azalması 1-2 birim tespit edilmişken, 300 MPa (-10 °C, 5 dk) YHB ile aksine minimum bir artma tespit edilmiştir. Ayrıca a\* değerinde -21 °C'de sadece gece boyunca dondurma ve sonrasında çözünmeden kaynaklı kontrol örneklerinde yaklaşık 4 birim düşüş olmuştur. Donmanın ardından çözülme ile a\* değerinin azalması daha önceki araştırmalarda da bildirilmiştir (Fernández ark. 2007, Jeong ve ark. 2011). Bu durum donma sırasında buz kristallerinin oluşması, etin hücre yapısı ve ette çözünen maddelerin konsantrasyonunun artması ile birlikte, miyogloblin molekülünün globin kısmının denatürasyonu, donma sırasında bazı aşamalarda gerçekleşmekte, böylece miyogloblin oto-oksidasyonu ve renk kaybı oluşabilmektedir (Leygonie ark. 2012).

350-450 MPa aralığında, 10 °C YHB ile kırmızılıkta kayıplar oluşmuştur. Fakat 20 °C'de D- örneklerde neredeyse tüm basınç değerlerinde YHB kaynaklı değişim oluşmamışken, D+ örneklerde ise sadece dondurma nedeni ile düşme oluşmuştur. D+ örneklerde basınç kaynaklı değişim 1 ya da 2 birim tespit edilmiştir. 350 MPa'da kıyılmış etin kırmızılığı D+ örneklerde kontrol örnekleri ile benzer tespit edilmiştir. Ette a\*, b\* ve L\* basıncın şiddetine bağlı olup, YHB ile ette renkte kırmızılaşmada azalma veya artma olabilmektedir (Jung ve ark. 2003). Bununla ilgili olarak Ma ve Ledward (2013) miyogloblinin 400 MPa üzerinde denatüre olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Tanzi ve ark. (2004) dana kıymasında, vakum altında paketlenip, 250-350 MPa (10 °C ve 10 dk) YHB uygulamış, oluşan a\* değerindeki azalmanın basınç kaynaklı olduğunu bildirmiştir.

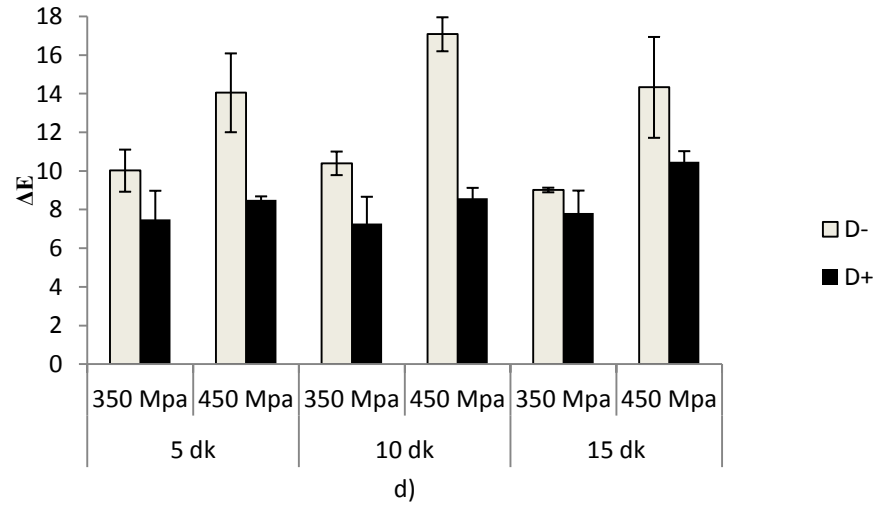
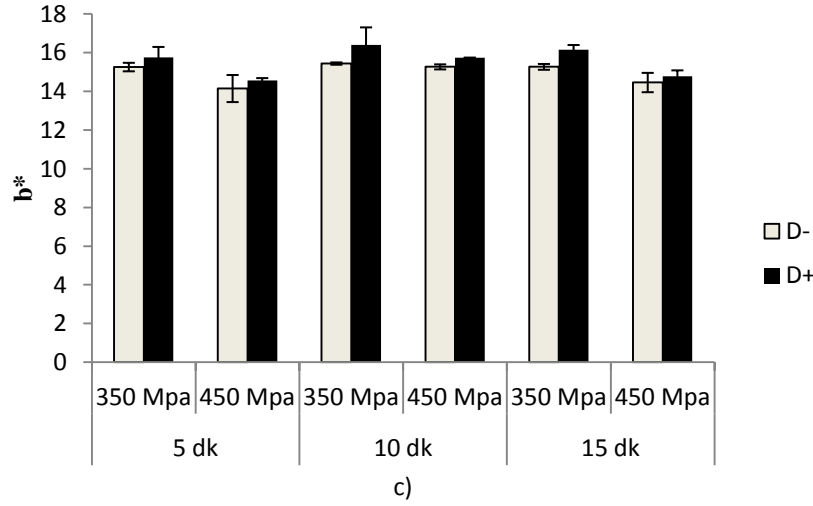
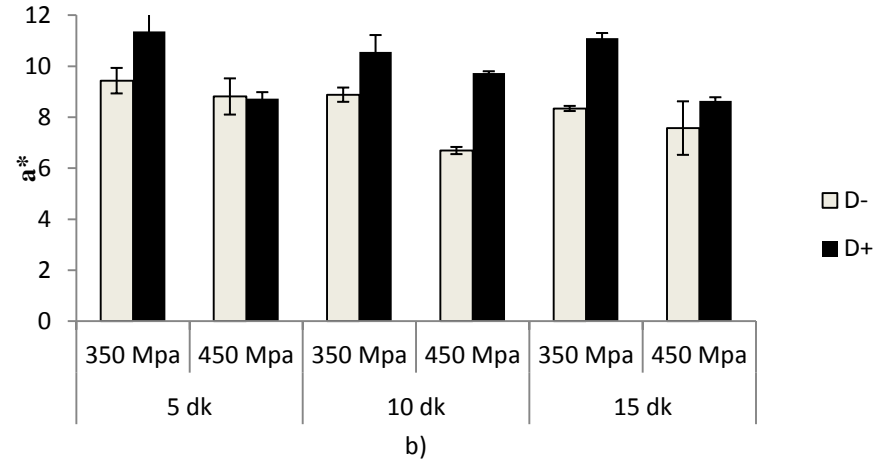
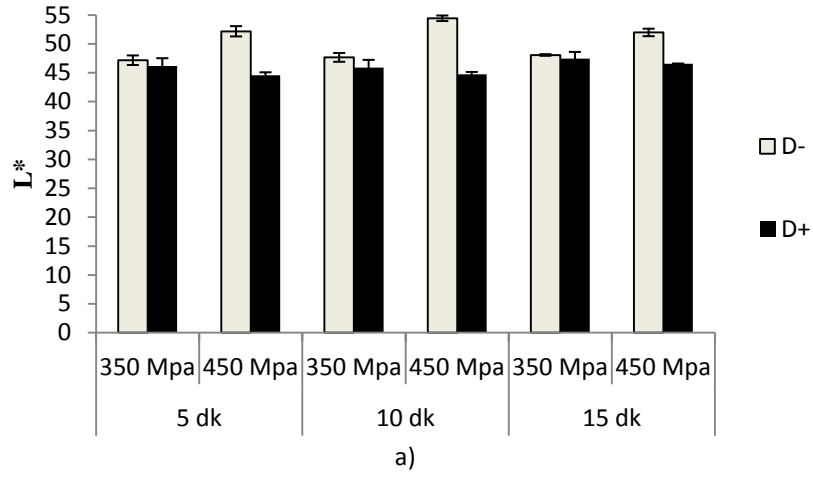
300 MPa (20, 10, 0, -5, -10 °C, 5 dk) sonuçlarında basınç\*sıcaklık etkileşimi önemli olup, etki değeri, düşük ( $\eta^2$  0,332) tespit edilmiştir. Bununla birlikte Fernandez ve ark. (2007), 650 MPa YHB ile işlem görmüş taze ette, renkte kızarıklık üzerine basınç ve sıcaklık arasında etkileşim tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Bulut (2014b), sığır kıymasında 300 MPa'da düşük ve sıfırın altında sıcaklıklarda yaptığı çalışmada a\* değerleri ile ilgili

olarak sadece durum faktörünü etkili olduğunu bildirmiştir. YHB sonrası a\* değerleri ortalaması Bulut (2014b)'un sonuçları ile benzer bulunmuştur.

b\* değerleri için 300, 350 ve 450 MPa (20, 10 °C, 5 dk) (Şekil 4.11) sonuçlarına göre 300 MPa sonuçları ile 350 ve 450 MPa sonuçları arasında farklılık elde edilmiştir (P<0,05). Tüm örneklerde 300, 350 ve 450 MPa'da etin b\* değerleri, kontrol örneklerinin değerlerine oranla değişmemiştir. D+ örneklerde sarılık (b\*) D- örneklere kıyasla nispeten düşük bulunmuştur. Ancak bu durum basınçlama sıcaklığından bağımsız oluşmuştur. b\* değerini en fazla etkileyen faktör durum tespit edilmiştir. Bulut (2014b) sığır kıymasında 300 MPa'da düşük ve sıfırın altında sıcaklıklarda yaptığı çalışmada b\* değerleri ile ilgili olarak kontrol ve basınçlanmış et örneklerinin sarılık değerleri arasında önemli bir fark olmayıp, örneğin durumunun etkili faktör olduğu yönünde görüş bildirmiştir. Benzer şekilde Fernandez ve ark. (2007)'nin çalışmalarında, YHB (650 MPa) ile işlem görmüş taze ette sarılık üzerine basınç ve sıcaklık etkili faktör olarak tespit edilmemiştir. Bununla birlikte Goutefongea ve ark. (1995), 30 dk, 600 MPa YHB ile taze kıyılmış sığır ve domuz etinde b\* değerinde artış gözlemişler ve et ürünlerinde sarılık değerlerindeki farklılıkların miyoglobinin kimyasal durumundaki değişikliklerle ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçları, Fernandez ve ark. (2007)'nin ve Bulut (2014b)'un sonuçları ile paralellik göstermiştir. Benzer şekilde Realini ve ark. (2011), kontrol örnekleri ile karşılaştırdıklarında 600 MPa YHB ile dondurma sıcaklığından bağımsız olarak (örnekler YHB öncesinde farklı sıcaklıklarda dondurulmuştur) ette daha sarı renk tespit etmişlerdir. Buna göre Çizelge 4.14'de verilmiş olan bulgulara göre 300-450 MPa YHB aralığının b\* değerlerinde değişiklik gözlemek için yeterli büyüklükte olmadığı düşünülmüştür. Aynı araştırmacılar YHB öncesi dondurulmuş domuz carpoccioda düşük sıcaklıkta dondurulmuş örneklerde a\* değerlerinde 600 MPa YHB ile önemli bir değişim tespit etmemişlerdir.

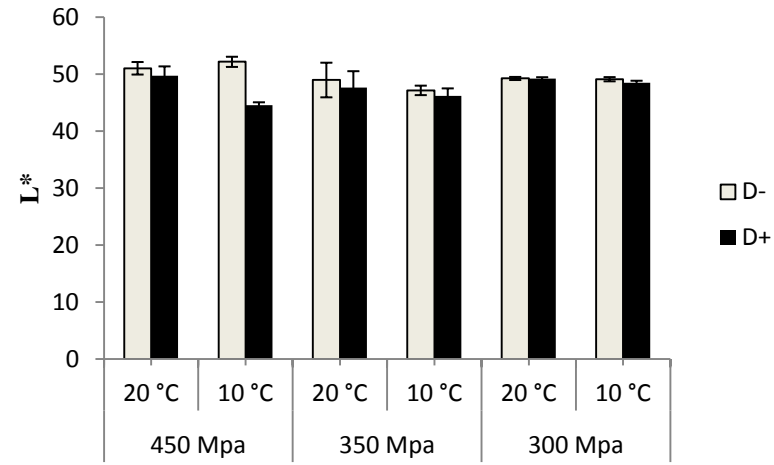
Cheftel ve Culioli (1997), ete pembe renk veren a\* değerinde 400-500 MPa aralığında ve domuz pirzolasında Mussa (1999), 350 MPa (10–20 dk, 25 °C) işleminden sonra kırmızılıkta azalma olduğunu ve bu azalmanın metmyoglobinde (Fe<sup>3+</sup>) artmaya bağlı olarak etin kahverengi renge dönmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi 300-350 MPa'dan sonra D- örneklerde a\* değerlerinde kısmi azalma tespit edilmiş olup, Mussa (1999)'nin, domuz pirzolosunda yaptığı çalışma sonuçları ile uyum içinde bulunmuştur. Çalışmada D+ örneklerde basınç kaynaklı önemli bir kırmızılık kaybı tespit edilmemiştir. Benzer sonuçlar sıfır altı sıcaklıkta YHB işlemi ile sığır etinde, Fernandez ve ark. (2007), dana carpacciada Vaudagna ve ark. (2012) tarafından da elde edilmiş olup, bu koruyucu etkiden sorumlu mekanizma YHB ile oluşmuş olan miyoglobin denatürasyonu ile

açıklanmıştır. Sıfırın altındaki sıcaklıkta basınçlı dondurulmuş sığır etinde basıncın etkisi muhtemelen daha hafif ve geri dönüşümlüdür. Bu durumda, çözülme ile miyoglobinin doğal konformasyonuna geri dönmüş olabilir ve buna bağlı olarak, taze ette normal renk geri elde edilebilir (De Alba ve ark. 2012b). Benzer şekilde 300 MPa deney sonuçlarına göre D+ örneklerde sırasıyla 10 ve 20 °C'de  $\Delta E$  5,10, 5,66 olup, oldukça düşük değerler almıştır. Ancak basınç şiddetinin artması ile birlikte Şekil 4.9'da görüldüğü gibi dondurma ve düşük sıcaklık (10 °C) etkisi ile renk daha iyi olsada 350 MPa'da 10 °C'de (D- örneklerde 10, D+ örneklerde 7,3) ve 450 MPa'da (D- örneklerde 14,05, D+ örneklerde 8,5 birim)  $\Delta E$  artmıştır. Sonuçlara göre oda sıcaklığında düşük basınçlarda da olsa belirgin renk değişimi oluşmuştur. Tüm basınç ve sıcaklıklarda örneklerin YHB öncesi dondurulması rengin korunmasına neden olmuştur. Bu çalışma sonuçlarına göre 300-350 MPa (10 °C ile 20 °C'de, 10 dk) (Şekil 4.10) YHB ile önemli renk farklılığı tespit edilmemiştir. Ayrıca 300 MPa'da tüm örneklerde 0 ve 20 °C aralığında renk değişimi kabul edilebilir sınırlarda olup, D- örneklerde sıcaklık  $\Delta E$ 'de etkili bulunmamıştır. D- ve D+ örnekler karşılaştırıldığında  $\Delta E$ 'da sıfırın altındaki sıcaklıklarda farklılığı istatistiksel anlamda önemli bulunmuşken sıfırın üzerindeki sıcaklıklarda  $\Delta E$ 'da D- ve D+ örnekleri arasında fark olsada önemli tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ). Dondurma ve basıncın kombine uygulanması durumunda, kıymanın rengi taze özelliklere daha yakın elde edilmiş olup, 300 MPa -10 °C'de YHB ile  $\Delta E$ 'nin sadece 2,67 birim olduğu görülmüştür.  $L^*$  değeri için eşik değerinin -10 ve -5 °C olduğu düşünülürse  $b^*$  ile  $\Delta E$  değerleri bütün olarak değerlendirildiğinde -10 °C'nin sınır sıcaklık değeri olduğu söylenilebilir. Bununla birlikte araştırmacılar 10 birimlik  $\Delta E$  değerini kayda değer renk kaybı olarak bildirmişlerdir (Jung ve ark. 2003). Jung ve ark. (2003), 300 MPa 10°C ve 20-300 s işlemle sığır eti kasında  $\Delta E$ 'da önemli etki gözlemlemişlerdir. Ayrıca denemelerde tüm D+ örneklerde 10 °C'de 300, 350 ve 450 MPa ile renk farklılığı sınır değerlerin altında kalmıştır.

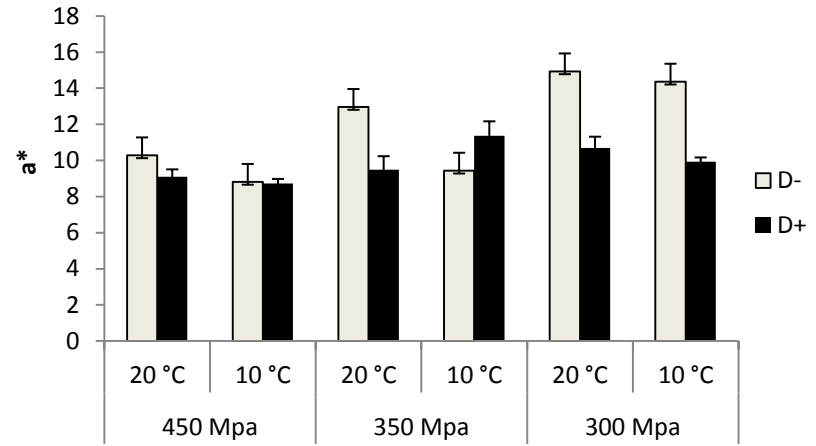


Şekil 4.9. Taze kıymada 10 °C YHB ile a) L\* b) a\* c) b\* d) ΔE parametrelerinin sonuçları

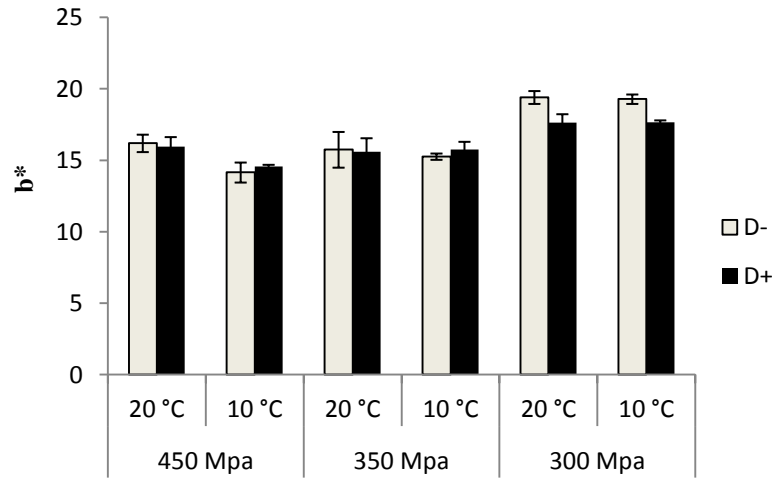




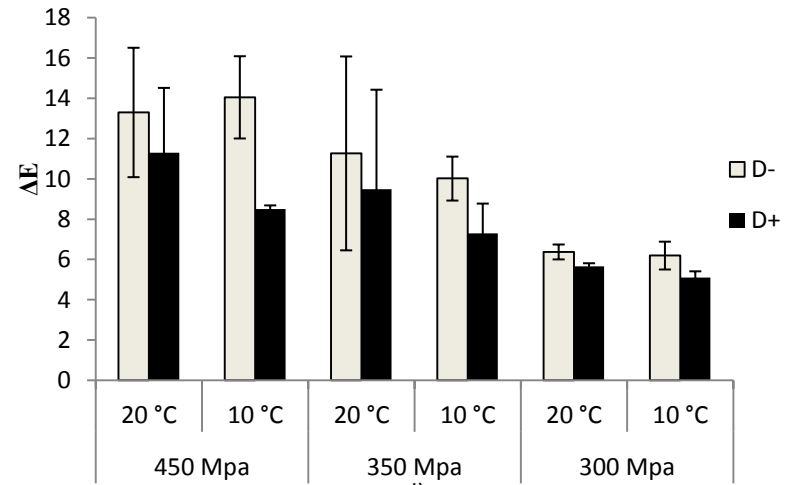
a)



b)

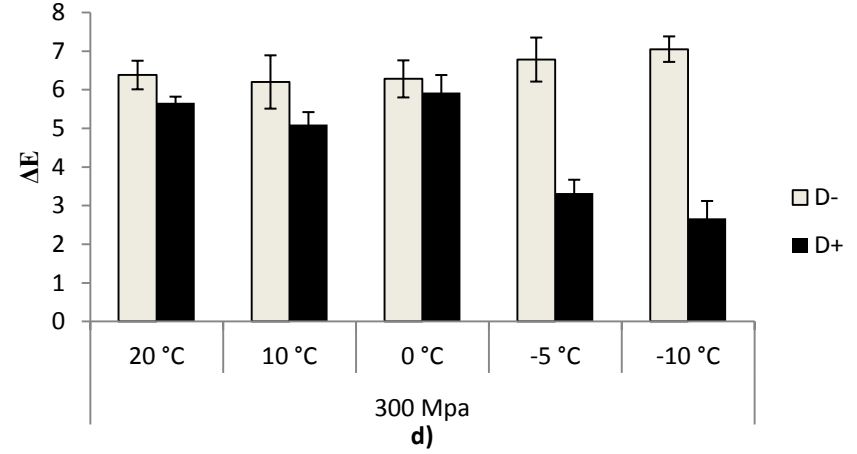
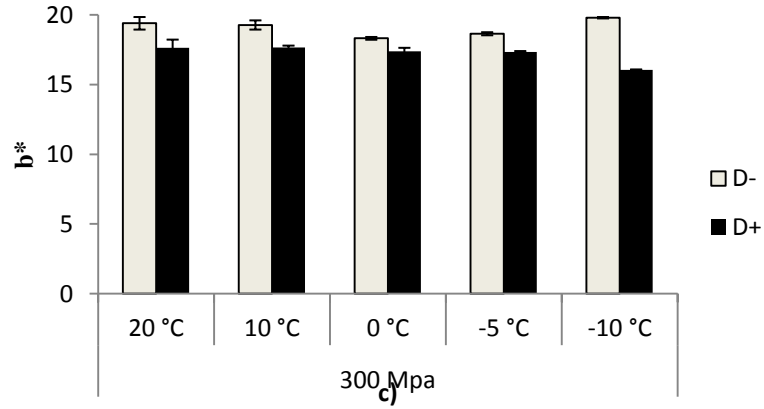
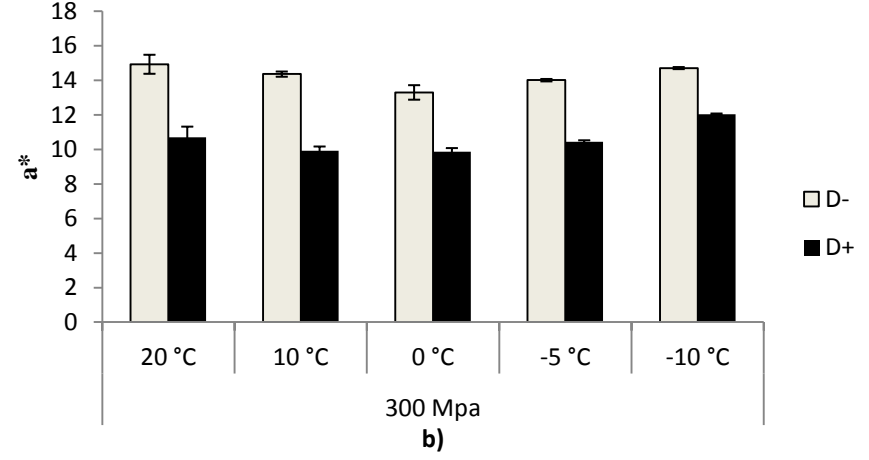
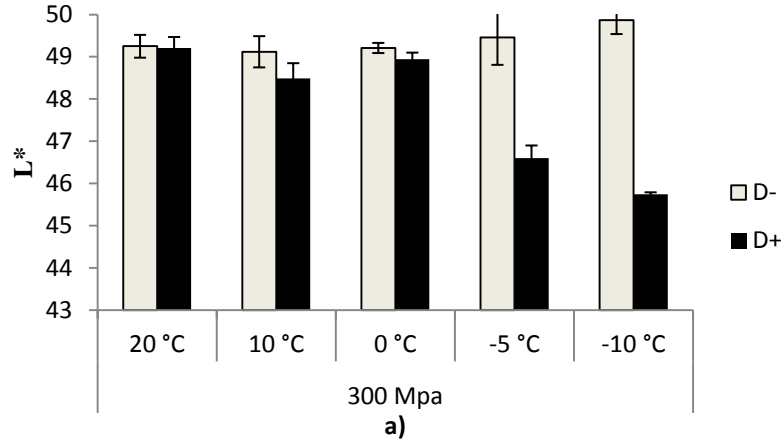


c)



d)

Şekil 4.10. Taze kıymada 300, 350, 450 MPa (10 °C, 20 °C, 5 dk) YHB ile elde edilen a) L\* b) a\* c) b\* d) ΔE parametrelerinin sonuçları



Şekil 4.11. Taze kıymada 300, 350, 450 MPa (20, 10, 0, -5, -10 °C, 5 dk) YHB ile elde edilen a) L\* b) a\* c) b\* d) ΔE parametrelerinin sonuçları

#### 4.8. Taze Kıymada YHB'ın Tekstür Parametreleri Üzerine Etkisi

Tekstür analiz cihazı kullanılarak yapılan ölçümlerde tek bir standart yöntem olmayıp, elde edilen sonuçlar sadece aynı şartlarda analizleri yapılan örneklerin birbiri arasında kıyaslanması için kullanıldığından, tekstür profili analiz sonuçları ile ilgili olarak elde ettiğimiz bulguların farklı araştırmacıların bulguları ile kıyaslanması anlamlı olmamaktadır. Bu nedenle literatürle kıyaslama yapılırken bulgu vermek yerine değerlendirme yapılmıştır. Basınç şiddeti, süresi ve farklı sıcaklıklar tekstürel özellikleri farklı şekilde etkileyebilmektedir. Bu çalışmada taze kıyma örneklerinde farklı basınç şiddetlerinin etkisi ve farklı basınç sürelerinin etin tekstürel özelliklerine etkisi ile ayrıca basınçlandıktan sonra kıyma örneklerine karıştırma (yeniden işleme) işlemi uygulaması sonrasında elde edilen sonuçlarla kontrol kıyma örneklerinin tekstürel özellikleri karşılaştırılmıştır.

##### 4.8.1. Sabit sıcaklıkta (10 °C) ve sabit sürede (10 dk) taze kıymada basıncın tekstür özelliklerine etkisi

350 Mpa ve 450 MPa'da (10 dk, 10 °C) tekstürel parametrelerin sonuçları Çizelge 4.15'de verilmiş olup, tekstürel parametrelere basınç artışının etkisinin değerlendirildiği istatistik analiz sonuçlarına göre;

Sertlik, sakızimsılık, çignenebilirlik, yapışkanlık elastikiyet ve bağlılık için  $P < 0,05$  elde edilmiş olup  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,980, 0,999, 0,999, 0,808, 0,931 ve 0,588 elde edilmiştir. Çizelge 4.15'e göre sertlik için durum ( $\eta^2$  0,820), basınç ( $\eta^2$  0,965) ve basınç\*durum ( $\eta^2$  0,941) önemli faktörler olarak bulunmuştur.

Sakızimsılık için ise durum ( $\eta^2$  0,998) basınç ( $\eta^2$  0,999) ve basınç\*durum ( $\eta^2$  0,999) etkileşimi önemli bulunmuştur. 350 MPa ve 450 MPa uygulamasında kontrol örnekleri arasında etin işlem öncesi dondurulması etin sakızimsılık değerlerini düşürmüştür ( $P < 0,05$ ). Çignenebilirlik değerlerinde durum ( $\eta^2$  0,994), basınç ( $\eta^2$  0,996), basınç\*durum ( $\eta^2$  0,998) önemli faktör olarak bulunmuştur. Yapışkanlık için ise Çizelge 4.15'e göre sadece basıncın ( $\eta^2$  0,784) önemli olduğu görülmektedir. 450 MPa'da yapışkanlık D- örneklerde kontrol örneklerine kıyasla değişmemiştir. 350 MPa ve 450 MPa'da kıymanın işlem öncesi dondurulması ile yapışkanlık değerleri (negatif yönde) düşmüştür. Elastikiyet için basınç ( $\eta^2$  0,913) ve basınç\*durum etkileşimi ( $\eta^2$  0,746) etkili bulunmuştur. 350 MPa YHB ile elastikiyet artışı 450 MPa YHB işleminden daha fazla olmuştur. Bağlılık değerlerinde ise Çizelge 4.15'e göre sadece basınç ( $\eta^2$  0,487) önemli tespit edilmiştir. 350 MPa basınçlama ile

oluşan bağıllık değeri 450 MPa'a kıyasla yüksektir. Kontrol örneklerine göre 450 MPa YHB ile bağıllık D- örneklerde değişmemiş, D+ örneklerde ise az oranda artmıştır. Fakat 350 MPa'da D+ örneklerde bağıllık D- örneklere göre daha yüksek tespit edilmiştir. Kıymanın esneklik sonuçları için basınç ve durum faktörü istatistiksel olarak önemli olmamıştır ( $P>0,05$ ).

Kıyma örneklerinin sertliği basıncın artması ile birlikte özellikle D- örneklerde artma gösterirken ( $P<0,05$ ), D+ örnekler basınç faktöründen çok daha az etkilenmiştir. Sertlik 350 ve 450 MPa YHB işleminde kontrol örnekleri arasındaki farklılığa dayalı olarak eşit büyüklükte artırmıştır. 350 MPa ve 450 MPa uygulamasında kontrol örnekleri arasında etin işlem öncesi dondurulması etin sertlik, değerlerini düşürmüştür ( $P<0,05$ ). Sertlik değişiminde her ne kadar basınç yüksek korelasyon etkisi gösterse de bu yüksekliğin nedeni yukarıda belirtilmiştir. Basınç değerinin 100 MPa artması çiğnenebilirlik ve esneklik dışındaki tüm değişkenleri etkilemiştir ( $P<0,05$ ). Durum faktörü sertlik ve sakızimsılık dışındaki diğer değişkenler için etkisiz tespit edilmiştir. Yapışkanlık ise basınç değişimi ile birlikte artmıştır. Çalışmada sadece KD+ örneklerinin sertlik ve çiğnenebilirlik sonuçları, basınçlanmış örneklerden farklı bulunmuştur. Bu durum kontrol örneklerinde dondurma çözünme sonucu yaşanan, tekstürel değerlerdeki düşüşten kaynaklanmıştır.

Fuentes ve ark. (2010), Clariana ve ark. (2011), 600 MPa YHB ile basınçlanmış jambonda sertlikte ve çiğnenebilirlikte artışlar bildirmişlerdir. Bu araştırmaların sonuçları yukarıdaki sonuçlarla uyum içersindedir. Bu değişikliklerin, kısmen kas proteinlerinin denatürasyonu ve protein oksidasyonunun bir sonucu olarak modifikasyon kökenli olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Fuentes ve ark. 2010). Ayrıca Jung ve ark. (2000a), sığır etinde 130 ve 520 MPa (10 °C, 260 sn) YHB ile taze etlerde artan sertlik bildirmişlerdir. Benzer şekilde Ma ve Ledward (2004) sığır kasında artan basınç (200 - 800 MPa) ile (40 °C ve 20 °C sıcaklıkta) yüksek oranda sertlik artışı bildirmişlerdir. Çizelge 4.15'de verilmiş olan sonuçlara göre ise sertlik ve sertlik değerlerine bağlı olan diğer tekstür parametrelerinde 350 MPa YHB ile artış tespit edilmişken, 450 MPa YHB ile oluşan artış seviyesi, 350 MPa sonuçlarına göre az veya benzer değerlerin elde edilmesini sağlamıştır. Bu durumun 450 MPa çalışmasının kontrol örneklerinde değerlerin yüksek olmasından kaynaklanmıştır.

Ohshima ve ark. (1993), YHB'in hacimde azalma ve sıkıştırma ile birlikte protein etkileşimlerini arttırarak bağ oluşumunda artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada tüm basınçlama işlemlerinde bağıllık (dış yapışkanlık) az oranda artma göstermiştir.

**Çizelge 4.15.** Taze kıymada farklı basınç parametrelerinde YHB ile elde edilen tekstürel özelliklere ait sonuçlar

			Sertlik (g)	Sakızimsılık (g)	Çiğnenebilirlik (g)	Yapışkanlık (g*s)	Elastikiyet (mm)	Bağlılık	Esneklik (%)	
*Kontrol			D-	1898,1±131,3	873,2±46,1	488,7±27,4	-80,9±3,80	0,56±0,02	0,46±0,04	0,25±0,02
			D+	1445,5±118,7	868,6±94,4	589,2±106,9	-69,1±49,1	0,68±0,06	0,60±0,01	0,28±0,02
300 Mpa	-5 °C	5 dk	D-	1598,6±39,8	959,1±151,7	623,03±29,26	-69,6±18,5	0,65±0,08	0,59±0,01	0,25±0,01
			D+	1465,6±123,3	895,7±154,7	609,8±60,1	-68,1±10,7	0,68±0,03	0,61±0,02	0,28±0,04
*Kontrol			D-	1612,3±41,2	1031,1±28,3	832,0±25,9	-137,7±66,9	0,81±0,02	0,64±0,02	0,24±0,05
			D+	1194,1±37,9	752,9±23,5	628,6±29,2	-66,0±12,1	0,83±0,01	0,63±0,01	0,21±0,05
350 Mpa	10 °C	10 dk	D-	2055,6±35,1	1367,1±49,7	1252,7±74,5	-156,9±36,1	0,92±0,02	0,67±0,02	0,34±0,01
			D+	2646,6±118,9	1904,8±71,2	1844,5±83,1	-146,9±20,9	0,97±0,01	0,72±0,05	0,34±0,03
*Kontrol			D-	2525,4±430,8	1868,6±367,5	1556,7±396,6	-97,4±61,2	0,83±0,05	0,74±0,03	0,23±0,03
			D+	1223,3±300,9	868,3±216,9	688,5±170,7	-60,6±28,7	0,79±0,06	0,71±0,05	0,24±0,01
		5 dk	D-	2449,7±402,0	1788,2±346,8	1663,6±304,7	-91,2±13,6	0,93±0,07	0,73±0,02	0,33±0,02
			D+	2527,3±559,8	1844,2±385,9	1641,2±469,9	-149,7±74,1	0,89±0,07	0,73±0,05	0,35±0,02
450 MPa	10 °C	10 dk	D-	2925,6±120,6	2152,3±252,4	1901,9±211,7	-62,5±17,4	0,88±0,02	0,74±0,06	0,32±0,01
			D+	2770,2±473,8	2077,5±220,3	1741,0±93,31	-100,3±1,53	0,84±0,01	0,75±0,06	0,34±0,08
		15 dk	D-	3037,8±430,6	2266,3±791,7	1948,8±211,0	-48,7±7,6	0,79±0,09	0,81±0,04	0,36±0,05
			D+	3028,3±81,1	2217,1±103,9	1929,8±129,3	-121,7±28,2	0,87±0,02	0,73±0,02	0,31±0,01

N=3 Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. D-: Soğutulmuş D+: Dondurulmuş

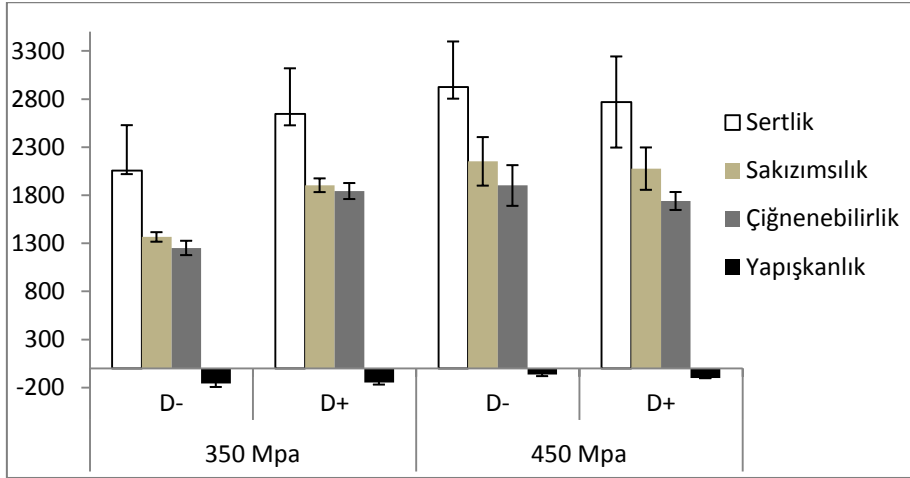
\*Değerler kontrol örneklerinin tekstür parametrelerine ait değerler olup basınçlama işlemlerinde ayrı parti et örnekleri kullanılmıştır.

#### 4.8.2. Sabit basınçta YHB'ın taze kıymanın tekstür özelliklerine sürenin etkisi

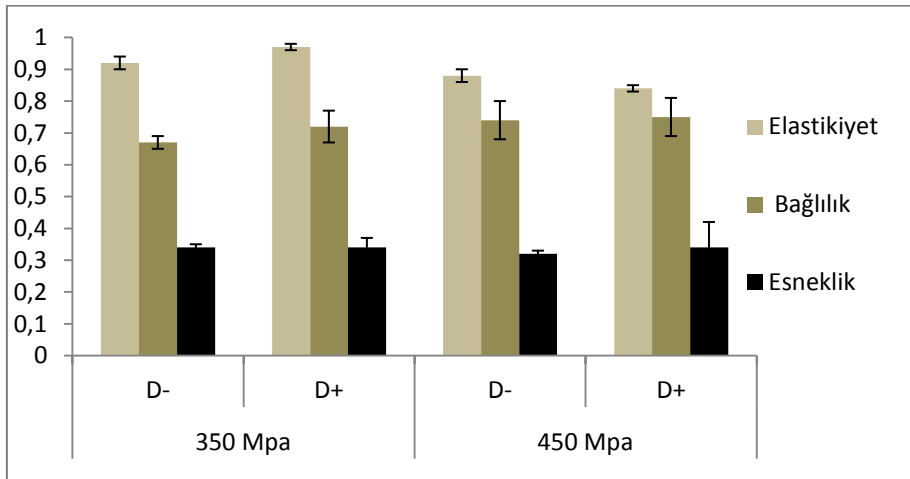
Bu çalışmada 450 MPa, 10 °C, 5, 10, 15 dk'da basınç süresinin tekstürel parametrelere etkisinin değerlendirilmiştir. Bulgular Çizelge 4.15'te verilmiş olup, bu verilerin istatistik analiz sonuçlarına göre;

Sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık ve bağlılık için  $P<0,05$  olup,  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,883, 0,999, 0,994 0,604 ve 0,973 elde edilmiştir. Sertlik için durum ( $\eta^2$  0,678), süre ( $\eta^2$  0,819) önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Sakızimsılık için durum ( $\eta^2$  0,986), süre ( $\eta^2$  0,998), süre\*durum ( $\eta^2$  0,987) önemli faktörler olarak bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Çiğnenebilirlik için ise durum ( $\eta^2$  0,995), süre ( $\eta^2$  0,985), süre\*durum ( $\eta^2$  0,958) önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Yapışkanlık için sadece durum faktörü ( $\eta^2$  0,994) önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Tüm basınçlama süresi sonuçları arasında farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Bağlılık için süre ( $\eta^2$  0,948) ve süre\*durum ( $\eta^2$  0,947) önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Sertlik, çiğnenebilirlik, sakızimsılık, bağlılık ve yapışkanlık için süre sonuçları arasında farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Esneklik ve elastikiyet değişkenleri için ise süre yönünden farklılık tespit edilememiş ( $P>0,05$ ) olup, elastikiyet, esneklik ve bağlılık değişkenleri üzerine bu parametrede durum faktörü yönünden farklılık tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ).

Sertlik ve sakızimsılık parametreleri 450 MPa (10 °C, 5, 10, 15 dk) YHB ile süre artışı ile birlikte minimumda olsa da artış göstermiştir. YHB ile et proteini, basınca sıcaklığa ve süresine bağlı olarak, et yumuşatılabilir veya sertleştirilebilir. YHB kaynaklı kas dokusu değişimi hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin kopmasına bağlıdır. Bu çalışma sonuçlarında çiğnenebilirlik artan basınç ve süre ile artmıştır. “Çiğnenebilirlik = Sertlik x Bağlılık x Elastikiyet” ile elde edilen bir tekstür parametresi olduğundan, süre ile nispeten artış gösterdiğinden çiğnenebilirlik özelliği de basınç süresinden etkilenmiştir. Diğer parametreler değişmemiştir. Elastikiyet bu çalışma sonuçlarına göre basınçlama süresinden etkilenmemiştir. Aksine, Angsupanich ve Ledward (1998) tarafından yapılan çalışmada YHB altında basınç süresinin artmasıyla elastikiyet değerleri artış göstermiştir. YHB sonrası aktin açılımı ile ilgili olarak etin elastik karakterinde bir artış görülmektedir.

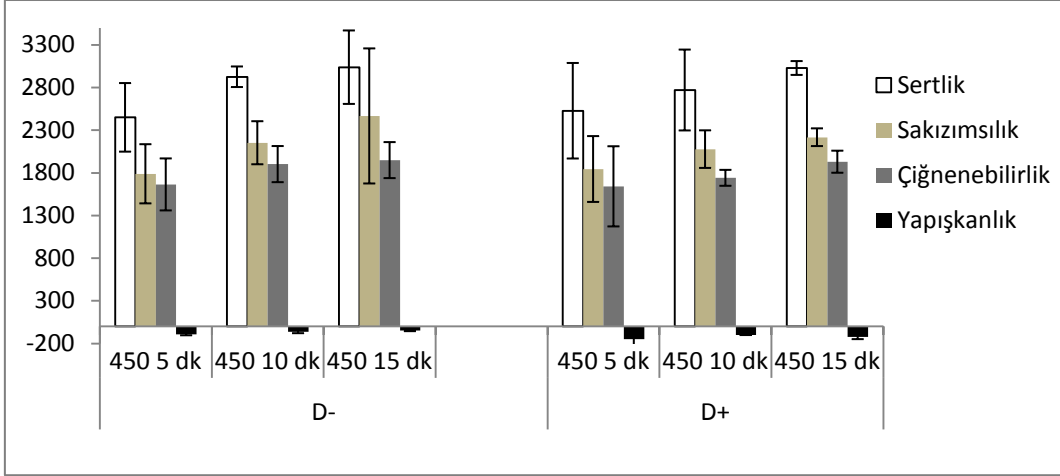


a)

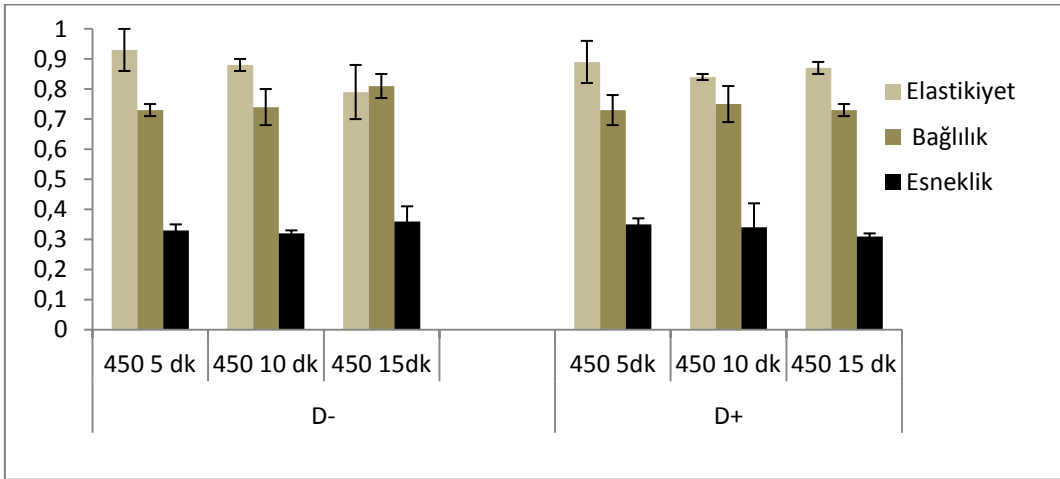


b)

**Şekil 4.12.** Taze kıymada 10 °C, 10 dk YHB ile elde edilen **a)** sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık **b)** elastikiyet, bağlılık, esneklik sonuçları



a)



b)

**Şekil 4.13.** Taze kıymada 10 °C YHB ile elde edilen **a)** sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık **b)** elastikiyet, bağlılık, esneklik sonuçları



Çizelge 4.15'in tüm bulguları birlikte değerlendirilecek olursa, hem D- hemde D+ grupta 300 MPa (-5 °C, 5 dk) YHB en düşük sertlik, sakızimsılık ve çignenebilirlik elde edilen parametre olmuştur (P<0,05). 350 MPa'dan itibaren sakızimsılık yükselmeye başlamış olup süre artışıyla birlikte sakızimsılık değerlerinin artmış olduğu tespit edilmiştir. En yüksek sertlik ve çignenebilirlik ise tüm gruplarda 450 MPa (10 °C, 15 dk) parametresinde elde edilmiştir. 450 Mpa da süre ile birlikte azda olsa artma göstermiştir. Yapışkanlık genel olarak D- grupta daha farklı iken, D+ örneklerinde bütün basınç parametrelerinde eşdeğer sonuçlar alınmıştır. Çizelge 4.15'de görüldüğü gibi D- grupta 350 MPa (10 °C 10 dk) ve D+ grupta 300 MPa (-5 °C, 5 dk) en düşük değerlerin elde edildiği basınç parametresi olarak tespit edilmiştir. D- ve D+ örneklerinde 300 MPa (-5 °C, 5 dk) tüm örneklerde elastikiyet değerlerinin en düşük, 350 MPa (10 °C, 10 dk) ise en yüksek elde edilen parametre olmuştur. Tüm basınç parametrelerinde 300 MPa (-5 °C, 5 dk) bağlılık ve esneklik değerlerinin en düşük, 450 MPa uygulaması en yüksek bağlılık değerlerinin elde edildiği parametre olmuştur.

Angsupanich ve Ledward (1998), raporlarında balık kasında benzer sonuçlar bildirmişlerdir. YHB kas proteinleri üzerinde geri dönüşümsüz değişikliklere neden olabilmektedir. Miyofibriler proteinler de dahil olmak üzere kas proteinlerinde 300 MPa basınca kadar açılma olmaktadır. Proteinlerde jel oluşumu ve yığınlaşma, artmış denaturasyon 300 MPa basınç üzerinde oluşmakta (Sun ve Holley 2010) olup, daha yüksek basınçlarda normalde geri dönüşüzdür. 100 ile 300 MPa basınç aralığında, değişiklikler, geri dönüşlü olmaktadır (Rastogi ve ark. 2007). Çalışma sonuçlarına göre, örneklerin dondurulduktan sonra basınç uygulaması tüm parametrelerde sertlik değerlerini etkilememiştir. Ancak 300 MPa üzerinde gerçekleşen YHB işlemlerinde basınçlanan örneklerde sertlik yükselmiştir. Ayrıca Fernandez ve ark. (2007) sığır etinde 650 MPa (20 °C, 10 dk) YHB ile basınçlı ile basınçsız et örneklerinin sertliğinde farklılık bildirmişlerdir. Ayrıca hava ile dondurulmuş örneklerin 650 MPa (-35 °C, 10 dk) basınç altında gerçekleşen hacim azalmasına bağlı faz geçişi, sığır eti dokusu üzerinde anlamlı bir etkiye neden olmamıştır. Konvansiyonel dondurma ve yüksek basınç düşük sıcaklık tedavisi ile ilgili olarak, et dokusu üzerindeki etkisi hakkında daha önce yapılmış çok az çalışma bulunmaktadır. Vaudagna ve ark. (2012), carpaccionun – 30 °C'de önce dondurulması ve sonrasında YHB işleminin kesme kuvvetindeğişimi üzerinde etkili olmadığını belirtmişlerdir.

Bunun yanında Realini ve ark. (2011), dondurulmuş ve basınç uygulanmış carpoccioda düşük donma sıcaklığında (-35°C), et kalitesinde daha iyi bir etki elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ancak, dondurulmuş domuz etinde (400 ve 600 MPa, -15 ve -35 °C, 6 dk) YHB ile kesme kuvvetinde artış bildirmişlerdir (P<0,05). Kontrol örnekleri ile

karşılaştırdıklarında -15 °C'de muamele edilmiş örnekler -35 °C'de muamele edilmiş örneklere kıyasla daha yüksek kesme kuvveti ile sonuçlanmış ve düşük sıcaklıkta YHB'nin kaslar üzerinde koruma etkisinin daha avantajlı olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kıymanın sertlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik özellikleri için en uygun YHB parametresi 300 MPa YHB ile elde edilmiş olup, esneklik özelliğinin basınç ve süre ile değişmediği gözlenmiştir. Çizelge 4.15'in sonuçlarına göre 350-450 MPa'da tüm değişkenler için süre farkı göz önünde tutulacak olursa çok ciddi bir fark bulunmadığı, oluşan minimum farklılıkların ise basınç farklılığından olduğu, sürenin daha önemsiz olduğu, tespit edilmiştir.

Isı ve basınç altında yapışkanlık azalması, miyozin ve kolajen denatürasyonunun artmış olduğunu göstermektedir (Angsupanich ve Ledward 1998). 300 MPa'da -5 °C'de yapılan çalışma sonuçları dışında elde edilen tüm sonuçlarda yapışkanlık değerleri basınçlama ile birlikte azalma göstermektedir.

Konuyla ilgili çalışmaların çoğu, ısıyla muamele yapıldığında miyofibriller yapının yüksek basınçla uyarılmış modifikasyonlarının sonucu olarak artmış et hassasiyetini göstermektedir. Oysa ortam sıcaklığında YHB ile, ana doku olan kollajen hidrojen bağı ile stabilize edildiği için bağ dokusunda çok az değişiklik meydana gelmektedir (Gekko ve Koga, 1983). Bununla birlikte, Jung ve ark. (2000a), tarafından yapılan 130 ve 520 MPa (260 s ve 10 °C'de) YHB çalışma sonuçlarında ise ters etki bildirilmektedir. Bu durum araştırmacılar tarafından düşük sıcaklıklarda, miyofibrillerin daha fazla bütünleşmesinden kaynaklanabileceği, dolayısıyla YHB ısı uygulamasının yokluğunda sertlik artışı ve/veya hassasiyet üzerindeki etkisini nötralize edebilir şeklinde açıklanmıştır.

Macfarlane (1985) ve Suzuki ve ark. (2006), basınç işleminin, et ve balık eti parçalarının birbirine yapışmasını geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise sonuçlar benzer elde edilmiştir.

Bu çalışma sonuçlarına göre elastikiyette YHB ile birlikte artış tespit edilmiş olup, sıfırın altındaki sıcaklıkta D+ örneklerde elastikiyet artışı D- örneklerine göre düşük tespit edilmiştir. En yüksek elastikiyet 350 MPa ve en düşük elastikiyet 300 MPa'da elde edilmiştir. Elastikiyet sıcaklıkla ilgili olup, düşük sıcaklıklarda daha az elastik ürünler elde edilebilmektedir. Yüksek sıcaklıkta daha elastik jeller üretilirken <10 °C sıcaklıkta yüksek basınç altında yapılan jellerin çok sert, daha deforme olabilir ve daha da birleşmiş olduğu belirtilmiştir (Fernandez ve ark. 1998).

Yapılan çalışmalarda, gıdaların tekstürü ve besin içeriği üzerine basınç yardımıyla dondurma ve basınç destekli çözünmenin etkisi gözden geçirilmiştir (Cheftel ve ark. 2000, 2002, 2003, Le Bail ve ark. 2002). Atmosferik basınçta konveksiyonel dondurma ile

karşılaştırıldığında PSF gıdaların tekstürünün daha iyi korunmasına yol açabilmektedir. Buda PSF (basınç değişimi ile donma) ile hızlı çekirdeklenmenin olmasından daha küçük buz kristelleri oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Picart ve ark. 2004). Bununla birlikte, aynı anda mevcut bazı veriler, PSF ve PAT' (basınç yardımıyla çözünme)'nin kırmızı et ve balık etinde, sertliği arttırdığını göstermektedir (Zhu ve ark. 2004). Basınçla indüklenen proteinlerin denatürasyonu ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda dondurulmadan sıcaklıktaki değişimler hakkında sadece kısmi veriler mevcuttur (Fernandez ve ark. 2000).

Malinowska ve ark. (2013) 60-193 MPa aralığındasfır altında sıcaklıktaki YHB'nın çiğ veya pişmiş etin sertliğini, muamele edilmemiş örneklere kıyasla arttırmadığını bildirmişlerdir. Angsupanich ve Ledward (1998,1999), Iwasaki ve ark. (2006) ise YHB uygulandığında etin yumuşatılabilir olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak düşük sıcaklıklarda postrigor et üzerinde ölçülebilir bir yararlı etkisi olmadığı bildirilmiştir. Aslında, bazı sonuçlar YHB uygulamasının tek başına et sertleşmesine neden olduğunu göstermiştir (Yuste ve ark. 1998, Sun ve Holley 2010). Basınç seviyesinin artmasıyla bazı dokusal özelliklerin azaltıldığı da gösterilmiştir (Yuste ve ark. 1999, Crehan ve ark. 2000, Mor-Mur ve Yuste 2003). Cheftel ve Culioli (1997), dokusal değişikliklerin, protein işlevselliğinin, özellikle de miyozin ağır zincirlerinin, yüksek basınç ile indüklenen parçalanmanın sonucunda oluştuğunu, sonuç olarak dokusal değişikliğe neden olduğunu belirtmişlerdir. YHB'nın 0 °C'nin üstünde doku üzerindeki etkileri hakkında araştırmacılar arasında bazı tutarsız görüşler bulunmaktadır (Jung ve ark. 2000a, Ma ve Ledward 2004). Bu farklı düşünceler hem tekstür analiz yöntemleri hem de işlem koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir.

Ancak Ashie ve Simpson (1996) oda sıcaklığında 200 MPa ve 300 MPa'da mavi balık etinde ve Souza ve ark. (2011) 215 MPa'da domuz etinde sertlikte azalma bildirilmişler ve bu durumu daha fazla basınç uygulayarak, doku içindeki kohezif kuvvetlerin bozularak doku gücündeki düşüşe atfetmişlerdir. Buna rağmen Angsupanich ve Ledward (1998), Yagız ve ark. (2009), 200 MPa'da morina etinin sertliğinde önemli değişiklikler gözlememişlerdir. Genel olarak <150 MPa seviyelerinde bağlanma mukavemeti ve doku parametrelerinin iyileştirildiği bildirilmiştir (Macfarlane ve ark. 1984, Crehan ve ark. 2000). Buna karşın Suzuki ve ark. (1992)'na göre 150 MPa üzerindeki soğuk basınçlandırmada sığır hassasiyeti üzerinde net bir etkiye sahip olup, araştırmacılar miyofibrilde parçalanmada açık bir şekilde artış, boşluk filaman bütünlüğünde azalma ve ultrastrüktürün önemli ölçüde modifiye olduğunu belirtmişlerdir.

Angsupanich ve Ledward (1997), 100 MPa'dan 400 MPa'a kadar olan basınç uygulamasının, morina örneklerin sertlik ve yaylılığını arttırdığını bildirmişlerdir. Bu

değişikliklerin muhtemelen aktin ve sarkoplazmik proteinlerin açılmasından ve yeni hidrojen bağlarının oluşumundan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Jung ve ark. (2000a)'nın sonuçları, 130 - 520 MPa (10 °C, 260 s), YHB'ın sığır etinin sertliğini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Bu sonuç, önceki araştırmacıların sonuçları ile çelişmektedir ve basınçlama koşullarındaki farklılık ile açıklanabilir. YHB'ın hassasiyet üzerindeki etkisinin post-progam etindeki miyofibriler ve bağ dokusu proteinleri arasındaki etkileşimlerden etkilenip etkilenmediği hala net değildir (Jung ve ark. 2000b).

Sikes ve ark. (2010), sığır sosislerinde 400 MPa (10 °C, 2 dk) YHB ile dokunun iyileştiğini bildirmişlerdir. Yazarlar bu iyileşmeyi YHB'nin proteinlerde artan çözünürlük ve jelleşmiş yapının, arttırılmış bağlanmaya katkıda bulunduğu gerçeği ile açıklamışlardır.

Elde edilen verilerin tutarsızlıkları farklı araştırmacılar tarafından, et dokusunun tayininde kullanılan farklı testlerden de kaynaklanıyor olabildiği yönündedir. Bununla birlikte enstrümental TPA (tekstür profil analizi) testinde kullanılan deneysel prosedürler ve şartlar standart olmadığı için farklı araştırmacılar tarafından elde edilen TPA verilerinin karşılaştırılması zor olmuştur.

#### **4.8.3. Taze kıymada YHB uygulaması sonrası yeniden şekillendirmenin tekstürel özelliklere etkisi**

Kıyma örnekleri basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilerek (BYŞ) basınç sonrası ek bir uygulama yapılmıştır. Basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilen kıyma örneklerinin tekstürel özellikleri, kontrol kıyma örnekleri ve basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilmiş kıyma örneklerine ait tekstürel özellikler üç farklı basınç parametresinde karşılaştırılmış ve sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir.

*Sertlik:* BD- örneklerde 300 MPa, -5 °C'de sertlik, istatistiksel olarak önemli olmasa da basınçla düşmüş, BD+ örneklerde ise değişmemiştir ( $P>0,05$ ). Şekil 4.14a'da görüldüğü gibi basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilen (BYŞ) kıyma örneklerinde ise sertlik basınçlı ve kontrol örneklerden düşük bulunmuştur ( $P>0,05$ ). 350 MPa (10 dk, 10 °C) YHB ile sertlik kontrol örneklerine kıyasla basınçlı örneklerde yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.14b). BYŞ kıyma örneklerinde D- örneklerinin sonuçları KD+ örnekleri ile benzer ( $P>0,05$ ), KD- örneklerinden farklı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). BYŞ kıyma örneklerinin sertliği sadece basınçlanmış örneklere kıyasla kontrol grubuna daha yakın olduğu gözlenmiştir. 450 Mpa 10 dk YHB ile BD- örneklerinin sertliği nispeten artsa da ( $P>0,05$ ), (Bu denemede KD- örneklerde sertlik diğer kontrol örneklerinin sertliğinden yüksekti) BD+ örneklerde YHB

sonrası kıymanın sertliği KD+ örneklere kıyasla istatistiksel olarak artış elde edilmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.14c).

*Sakızimsılık:* Sakızimsılık 300 MPa (-5 °C, 5 dk) YHB ile kontrol örneklerine oranla artış göstereceği istatistiksel olarak önemli tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ). Halbuki Şekil 4.14b’de görüldüğü gibi 350 ve 450 Mpa (10 °C, 10 dk) YHB ile sakızimsılık BD+ örneklerde kontrol örneklerine göre yüksek bulunmuşken ( $P<0,05$ ), BD- örnekler ile benzer bulunmuştur ( $P>0,05$ ). “Sakızimsılık = Sertlik x Bağlılık” ile elde edilen ikincil bir tekstür parametresi olduğundan donma çözünme sonrası sertlik değerlerinin düşmesi KD+ örneklerinde sakızimsılık değerlerinin düşmesine neden olmuştur ( $P<0,05$ ). Yeniden şekillendirme ile kıymanın sakızimsılık değerler basınçlanmış örneklere kıyasla düşmüş ve tüm basınçlama parametrelerinde kontrol örneklerine daha yakın olduğu gözlenmiştir.

*Çiğnenebilirlik:* 300 MPa (-5 °C, 5dk) YHB sonrasında kıymanın çiğnenebilirlik özelliği kontrol örneklerine oranla artış gösterse de anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Fakat çiğnenebilirlik 350 MPa (10 dk, 10 °C) ile basınçlanmış kıyma örneklerinde kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Bu yükseliş D+ örneklerde daha belirgin olarak gözlenmiştir. Bununla birlikte 450 MPa YHB ile D- örneklerde çiğnenebilirlik sonuçları KD- örnekleri sonuçlarına kıyasla değişmemişken ( $P>0,05$ ), BD+ örneklerinde 10 dk YHB ile KD+ örneklerine kıyasla artmıştır ( $P<0,05$ ). Bu artış “Çiğnenebilirlik = Sertlik x Bağlılık x Elastikiyet” ile elde edilen bir tekstür parametresi olduğundan, donma çözünme sonrası kontrol örneklerinde sertlik değerlerinin düşmesi aynı zamanda KD+ örneklerinde çiğnenebilirlik değerlerinin düşmesi ( $P<0,05$ ) nedeniyle oluşmuştur. BD- örneklerinde ise YHB ile sonuçlar KD- örneklerinin sonuçları ile benzer tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). 450 MPa basınç uygulaması sonrasında yeniden şekillendirilmiş kıymanın çiğnenebilirliği basınçlanmış örneklerden daha düşük olduğu gözlenmiştir. 350 ve 450 YHB ile basınçlanmış örneklerin yeniden şekillendirilmesi ile birlikte kontrol örnekleri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir ( $P>0,05$ ) (Şekil 14b,c).

*İç Yapışkanlık:* 300 MPa, 350 MPa ve 450 MPa’da basınçlanmış örnekler kontrol örnekleri ile benzer tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Sadece 350 MPa (10 dk, 10 °C) YHB işleminde KD+ örneklerinde büyük oranda yapışkanlıkta düşme görülmesi (negatif) basınçlanmış örneklerde farklılık elde edilmesine neden olmuştur (Şekil 4.14b).

*Esneklik:* YHB sonrası (300 MPa -5 °C, 5 dk), kıymanın esneklik özelliği kontrol örnekleri ile benzer tespit edilmişken ( $P>0,05$ ), Şekil 4.14b,c’de görüldüğü gibi 350 ve 450 Mpa YHB işleminde kontrol örneklerine kıyasla artmıştır ( $P<0,05$ ). 300 Mpa YHB ile basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilen örnekler kontrol ve sadece basınçlanmış örnekler ile benzer

bulunmuştur ( $P>0,05$ ). 350 ve 450 Mpa YHB ile BYŞ örnekleri kontrol örneklerine daha yakın elde edilmiştir (Şekil 4.14b,c).

*Bağlılık:* 300 MPa (-5 °C, 5 dk) ve 450 Mpa (10 °C, 10 dk) YHB ile kıymanın bağlılık özelliğinde farklılık gözlenmemiştir. Ancak 350 Mpa YHB ile BD- ve BD+ örneklerinin sonuçları KD- örneklerinin sonuçlarından farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). BYŞD+ örnekleri KD- ve KD+ örneklerinden farklı tespit edilmişken ( $P<0,05$ ), 350 MPa ile BYŞD- örnekleri KD- örnekleri ile benzer ( $P>0,05$ ), KD+ örnekleri ile farklı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

*Elastikiyet:* Kıymanın elastikiyet özelliği kontrol örneklerine kıyasla 300 MPa (-5 °C, 5 dk) ve 450 Mpa (10 °C, 10 dk)'da basınçlanan örneklerle benzer tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Bununla birlikte 350 MPa YHB ile BD- ve BD+ örneklerinin sonuçları kontrol kıyım örneklerinden farklı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). 300 MPa YHB ile BYŞ örnekler kontrol ve sadece basınçlanmış örnekler ile benzer bulunmuştur ( $P>0,05$ ). 350 MPa'da BYŞD- örneklerinin elastikiyeti, KD+ örnekleri ile benzer ( $P>0,05$ ), KD- örnekleri ile farklı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). 450 MPa (10 dk) YHB'dan sonra yeniden şekillendirilen örneklerde elastikiyet düşmüştür ( $P<0,05$ ) (Çizelge 4.16).

Bu sonuçlara göre D- örneklerde YHB ile belirgin sertlik oluşmadığı görülmektedir. Sun ve Holley (2010)'in çalışmalarında proteinlerdeki değişikliklerin genellikle 300 MPa'ın altında geri döndürülebilir olup, 300 MPa'ın üzerinde geri döndürülemez olduğu ve etin yumuşamasının sıklıkla, protein çözünürlüğündeki artışlarla ilişkili olup, YHB ile proteinlerin basınç altında depolimerizasyonu sonucunda artan protein çözünürlüğü sayesinde tenderizasyonu uyardığı belirtilmiştir. Ayrıca düşük sıcaklıklarda proteinlerin denatüre edildiği basıncın ılımlı aralıktan daha düşük olabileceği bildirilmiştir (Lullien-Pellerin ve Balny2002).

Diğer bir çalışmada taze pirzolanın doku profili analizinde, bağlama mukavemeti basınçlanmış (215 MPa) ile kontroller arasında farklı olup ( $P<0,05$ ), kontrol örneğini kırmak için neredeyse 2 kg ilave kuvvet gerektirmiştir. Bu, YHB'ın etkilerinin protein bağında bir azalmaya neden olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca basınçlı örneklerde kontrol örneklerine göre kohezyon, yapışkanlık ve çiğnenebilirlikte artış bildirmiştir. YHB'ın, sertlik, yaylanma ve direnç açısından taze pirzola dokusu özelliklerine etkisinin ise olmadığını ( $P>0,05$ ), tüm dokusal parametreler arasında tutarlı olmasa da, YHB'nin doku profilini değiştirdiği bildirilmiştir (Souza 2010).

Buna karşılık, oda sıcaklığında ılımlı basınç bile proteinlerin doğal formunu dengeleyebilmekte ve sonuç olarak ısı denatürasyonda bir artışa neden olmaktadır (Hawley

1971). Dolayısıyla bu deneysel çalışmada maksimum basıncın 450 MPa olması ve düşük sıcaklık değerlerinde çalışılmış olmasından kaynaklanmış olabilir.

Ayrıca YHB sonrası BYŞ kıyma örnekleri sadece basınçlanmış örneklerin sertlik değerinden daha düşük kontrol örnekleri ile daha yakın elde edilmiştir.

YHB ile sertlik, çiğnenebilirlik, sakızimsılık, yapışkanlık, esneklik, elastikiyet artmıştır. Benzer şekilde 100-800 MPa aralığında yapılan çalışmada Cheftel ve Culioli (1997), ette çiğnenebilirliğin YHB ile arttığını, bununla birlikte YHB'nin bağ dokusu dayanıklılığı üzerinde çok az bir etkiye neden olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar çiğnenebilirliğin iç bağların gücüyle orantılı olduğunu; İç bağ gücünün artması ile çiğnenebilirliğin ve elastikiyetin de artma gösterdiğini bildirmişlerdir. Basınçlandıktan sonra özellikle sertlik ve çiğnenebilirlikte meydana gelen artış örneklerin yeniden şekillendirmesi ile birlikte düşme göstermiş ve kontrol örneklerine yakın sonuçlar saptanmıştır. Bu durum ‘proteinler YHB altında ayrılırlar ve basınç kaldırıldığında, ısı uygulanmamış olması koşuluyla proteinler yeniden ilişkilendirilebilir, ancak, YHB sırasında ısı uygulanırsa, proteinler katlanmadan/ayrıştıkça geri dönüşsüz şekilde denature edilir’ gerçeği ile açıklanabilmektedir (Sikes ve Warner 2016).

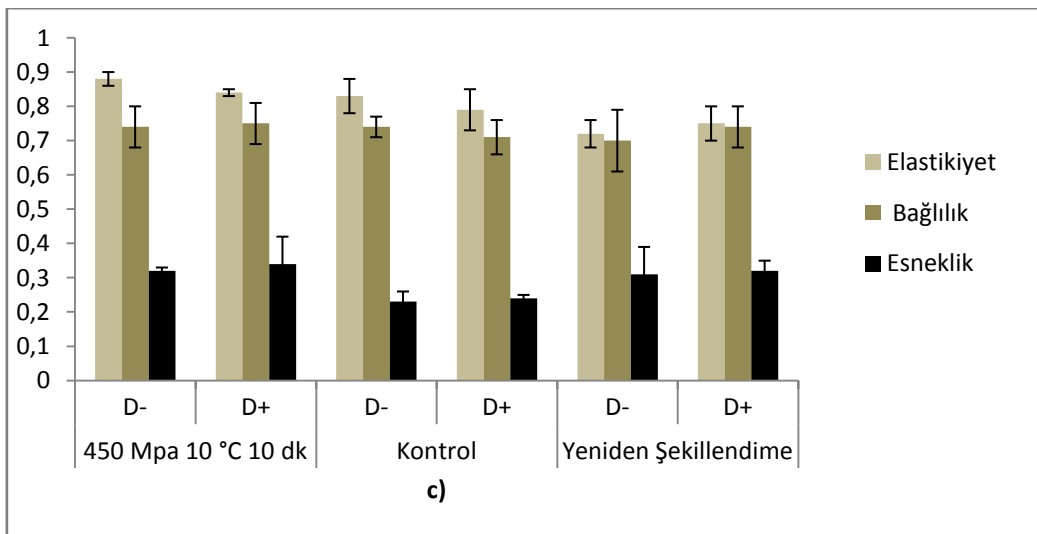
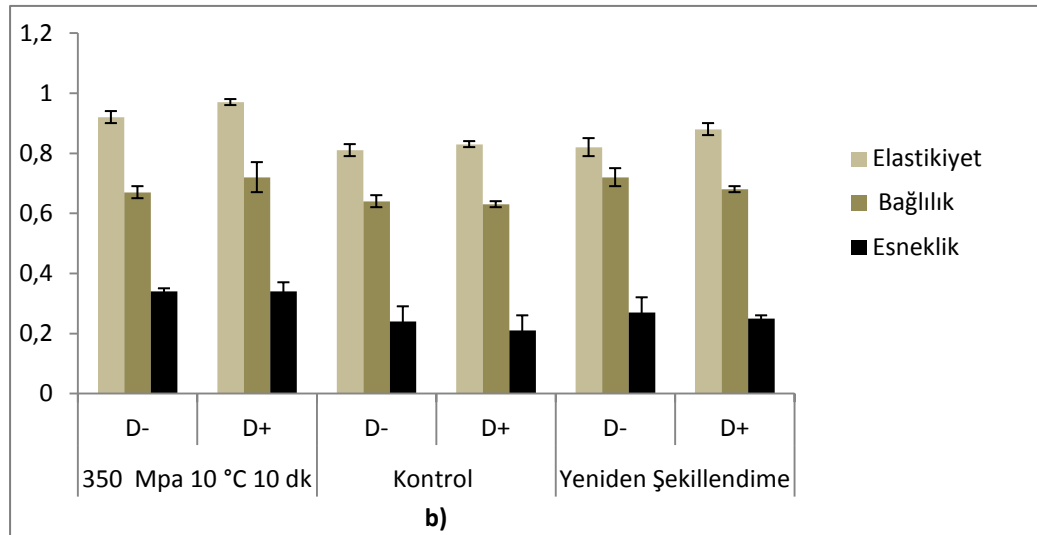
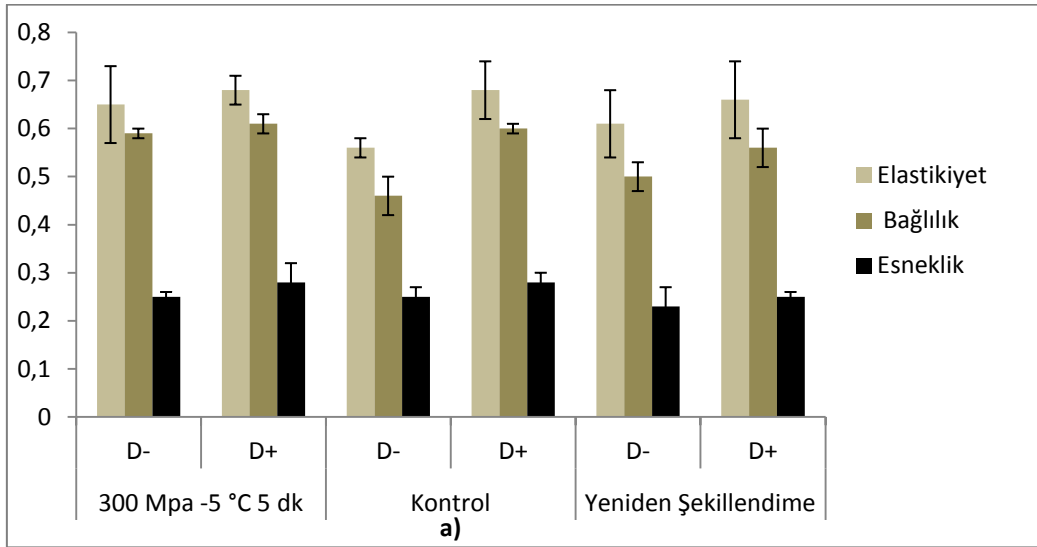
Herrero ve ark. (2007), kuru fermente edilmiş sosiste basınçlanmış örneklerin bağlanma mukavemetinde, kontrol örneklere göre düşüş tespit etmişler ve bu sonucu YHB'nin proteinlerin bağlılığında azalmaya neden olduğu sonucuna bağlamışlardır. Tüm tekstürel parametreler arasında tutarsız olmasına rağmen, YHB prosesinin tekstür profilini değiştirdiğini ifade etmişlerdir.

**Çizelge 4.16.**Taze kıymada farklı YHB parametrelerinde elde edilen tekstürel özelliklerin ve basınçlı kıymanın yeniden işlenmesi ile elde edilen tekstürel özellikler ile karşılaştırılması

		Sertlik(g)	Sakızimsılık(g)	Çiğnenebilirlik(g)	Yapışkanlık(g*s)	Elastikiyet(mm)	Bağlılık	Esneklik(%)
Kontrol	D-	1898,1±131,3a	873,2±46,1a	488,73±27,4a	-80,96±3,80a	0,56±0,02a	0,46±0,04b	0,25±0,02a
	D+	1445,5±118,7ab	868,6±94,4a	589,17±106,9a	-69,14±49,10a	0,68±0,06a	0,60±0,01a	0,28±0,02a
300 Mpa, -5 °C, 5 dk	D-	1598,6±39,8ab	959,1±151,68a	623,03±29,26a	-69,56±18,52a	0,65±0,08a	0,59±0,01a	0,25±0,01a
	D+	1465,6±123,3ab	895,7±154,73a	609,8±60,1a	-68,1±10,73a	0,68±0,03a	0,61±0,02a	0,28±0,04a
Yeniden Şekillendirme	D-	1210,2±427,5ab	606,5±236,4a	369,4±199,5a	-35,4±21,2a	0,61±0,07a	0,50±0,03ab	0,23±0,04a
	D+	1425,6±148,2ab	795,4±121,4a	525,7±90,6a	-22,5±3,56a	0,66±0,08a	0,56±0,04ab	0,25±0,01a
Kontrol	D-	1612,25±41,2c	1031,14±28,3c	832,00±25,9c	-137,73±66,9a	0,81±0,02bc	0,64±0,02b	0,24±0,05b
	D+	1194,05±37,9d	752,93±23,5d	628,58±29,2d	-66,00±12,1b	0,83±0,01b	0,63±0,01b	0,21±0,05d
350 MPa, 10 °C, 10 dk	D-	2055,56±35,1b	1367,12±49,7b	1252,65±74,5b	-156,90±36,1a	0,92±0,02b	0,67±0,02b	0,34±0,01a
	D+	2646,63±118,89a	1904,78±71,2a	1844,45±83,1a	-146,93±20,9a	0,97±0,01a	0,72±0,05a	0,34±0,03a
Yeniden Şekillendirme	D-	1157,78±32,20d	838,89 ±36,3d	688,31 ±24,5d	-102,09± 7,44b	0,82± 0,03b	0,72 ± 0,01a	0,27 ± 0,05b
	D+	1657,10 ±59,8c	1128,10±52,9c	992,27 ± 22,11c	-159,67 ± 10,0a	0,88 ± 0,02b	0,68 ± 0,06b	0,25 ± 0,01c
Kontrol	D-	2525,4±430,8a	1868,59±367,5a	1556,75±396,6ab	-97,37±61,2a	0,83±0,05ab	0,74±0,03a	0,23±0,03c
	D+	1223,3±300,9b	868,34±216,9c	688,55±170,7c	-60,62±28,7a	0,79±0,06bc	0,71±0,05a	0,24±0,01c
450 Mpa, 10 °C, 10 dk	D-	2925,67±120,62a	2152,29±252,44a	1901,97±211,70a	-62,53±17,46a	0,88±0,02a	0,74±0,06a	0,32±0,01ab
	D+	2770,2±473,83a	2077,46±220,28a	1741,03±93,31ab	-100,3±1,53a	0,84±0,01ab	0,75±0,06a	0,34±0,08a
Yeniden Şekillendirme	D-	2159,9±237,4a	1522,0±141,3b	1080,3±104,5bc	-23,5 ±7,39a	0,72±0,04c	0,70±0,09a	0,31±0,08ab
	D+	2390,0±148,2a	1758,1±158,4ab	1325,2±207,4ab	-63,6 ±34,12a	0,75±0,05cb	0,74±0,06a	0,32±0,03ab

N=3 a, b, c ...f (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05) D-: Soğutucu, D+ Dondurucu Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir





Şekil 4.14.a) 300MPa (-5 °C, 5 dk) b) 350 MPa (10 °C, 10 dk) c) 450MPa (10 °C, 10 dk)  
YHB ile elastikiyet, bağlılık ve esneklik özelliklerinin karşılaştırılması

#### 4.9. YHB'ın Taze kıymanın Raf Ömrüne Etkisi

Kontrol ve basınçlanmış kıyma örneklerinde 45 gün depolama boyunca patojen mikroorganizma inokule edilmiş ve inokule edilmemiş gruplarda TMAB ve patojen düzeyinin değişimi incelenmiştir. Aynı zamanda vakum ambalajlanmış sığır kıymasında 45 gün boyunca KD+ örnekler  $-21,0 \text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5'$ de KD-,BD- ve BD+ örnekler  $+4,0 \text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2'$ de depolanarak kontrol ve basınçlanmış örneklerin pH, TBA, , renk ve tekstürel parametrelerin değişimi, araştırılmıştır. Raf ömrü değerlendirmeleri çalışma parametresi *E. coli* 25922, *S. typhimurium* ve *L. innocua* için elde edilmiş yüksek inaktivasyon ve kıymada minimum renk ile tekstür değişimi elde edilen sonuçlar dikkate alınarak belirlenmiş olup, çalışma sonuçlarına göre 350 MPa (10 °C) YHB, TMAB ve patojen için inaktivasyon düzeyi ile renk ve doku profili sonuçları değerlendirildiğinde, taze et için güvenilirliği, tazelik niteliği optimum düzeyde elde edilen parametre olup, raf ömrü çalışmaları bu parametrede yürütülmüştür.

##### 4.9.1. pH

**Çizelge 4.17.** Basınçlanmış (350 MPa, 10 °C, 10 dk) ve kontrol kıyma örneklerinin depolama boyunca pH sonuçları

Örnek	Depolama süresi(Gün)					
	1	3	7	15	30	45
K D-	5,89±0,02aA	5,80±0,10bA	5,43±0,03bC	5,51±0,04aC	5,56 ±0,01aB	5,64±0,01aB
KD+	5,90±0,09aB	5,91±0,05aB	5,99±0,03aB	5,96±0,02bB	6,00±0,02bB	6,23±0,06bA
B D-	5,97±0,02aB	6,01±0,01aB	6,01±0,02aB	6,05±0,05aA	5,96 ±0,03aB	5,86±0,01aC
B D+	5,98±0,03aB	6,02±0,01aB	5,97±0,01aB	6,05±0,03aA	5,85±0,03aB	5,73±0,22aC

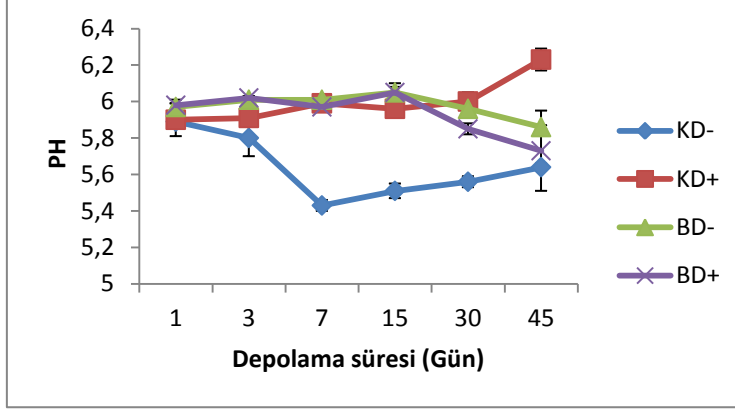
N=3 A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0,05$ )

a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ( $P \leq 0,05$ )

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınc+Soğutucu BD+:Basınc+Dondurucu

Bu çalışmada Çizelge 4.17'de görüldüğü gibi YHB'tan hemen sonra örneklerde kontrol gurubuna göre pH'da yaklaşık 0,07-0,08 birim artış meydana gelmiştir. YHB sırasında kas proteinine bağlı su hacminin azalması nedeniyle etin pH'sında 0,2-0,5 birim azalma olabileceği bildirilmiştir (Cheftel ve Culioli 1997). Bununla birlikte, basıncın serbest bırakılması ile protein denatürasyonu oluşurken, asit gruplarının kaybı ile çiğ sığır etlerinin başlangıç pH'sında yaklaşık 0,1- 0,2 birim artış bildirilmiştir (Angsupanich ve Ledward 1998, Ma ve Ledward 2004, Ardle ve ark. 2010, Ruth ve ark. 2011). Kontrol örneklerinde pH raf ömrü boyunca artış gösterirken BD- örneklerde 30. günde, BD+ örneklerde 45. günde düşme göstermiştir (Şekil 4.15). pH düşüşünün laktik asit bakterilerinin sayısının artması ile ilgili olduğu düşünülebilir. pH'nın düşüşünün basınçla sağlanan bakteri inaktivasyonundan

kaynaklanabildiği belirtilmiştir (Erkan ve ark. 2013). Depolama boyunca pH, K ve B gruplarda farklı mikroorganizma seviyeleri ve YHB nedeniyle farklı seyretmiştir. Sekar ve ark.(2006), Gökoğlu ve ark. (2011) ve Çiçek ve ark. (2014)'nın ve bu çalışmanın kontrol örneklerinin sonuçları benzer bulunmuştur. Sekar ve ark. (2006)'nın çalışmasında 1 hafta sonra vakum paketlenmiş ette pHdeğerinin düştüğü tespit edilmiştir.



**Şekil 4.15.** Depolamada taze kıymanın pH'sına YHB'nin etkisi

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç+Soğutucu BD+:Basınç+Dondurucu

#### 4.9.2. Tiyobarbutirik asit

**Çizelge 4.18.** Basınçlanmış (350 MPa, 10 °C, 10 dk) ve kontrol kıyma örneklerinin depolamaboyunca TBA seviyesi(mgMA/kg)

	Depolama süresi (Gün)					
	1	3	7	15	30	45
K D-	0,83±0,10aB	0,73±0,02bB	0,69±0,01bB	2,01±0,05aA	0,88±0,03aB	0,70±0,04aB
KD+	0,62±0,03bB	0,55±0,05cB	0,57±0,02cB	0,83±0,01cA	0,66±0,02bAB	0,38±0,02cC
B D-	0,80±0,03aB	0,67±0,02bC	0,67±0,03bC	0,85±0,03cA	0,66±0,01bC	0,46±0,03bD
B D+	0,56±0,02bB	0,91±0,02aA	0,89±0,01aA	1,01 ±0,02bA	0,59±0,03cB	0,26±0,03dC

N=3 A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç+Soğutucu, BD+:Basınç+Dondurucu

Çizelge 4.18'de gösterilmiş olduğu gibi tüm örneklerde TBA (Tiyobarbutirik asit) değerleri raf ömrünün başlangıcı için beklenen değerlerden yüksek bulunmuştur. YHB işlemi öncesi etin kıyma haline gelene kadar 2 defa kıyma makinasından geçirilmesi ve sonrasında 10 dk laboratuarda mutfak robotu ile karıştırma yapılmış olması, TBA değerlerinin beklenilenden yüksek olmasının nedeni olarak değerlendirilmiştir. Bu durum, ette YHBöncesi mekanik işlemenin (dilimleme veya kıyma), güçlü prooksidan etkiye sahip olması görüşü ile açıklanmıştır (Beltran ve ark 2003, Fuentes ve ark. 2010). TBA değerleri 1. günde basınçlı

olmasına bakılmaksızın D+ örneklerde D- örneklerden farklı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Bu sonuçlara göre YHB'tan hemen sonra basınç kaynaklı bir oksidasyon oluşmamıştır. Raf ömrünün başlangıcında örneklerin dondurulması oksidasyonu engellemiştir. 1. gün TBA sonuçları için; KD- örnekleri KD+ örneklere göre 48 saat, basınçlanmış örnekler için ise 24 saat daha fazla ve KD+ örneklerine göre 48 saat daha fazla +4 °C'de bekletilmiştir (YHB öncesinde soğutucuda bekleme ve YHB sonrası analiz gününe kadar bekleme süreci). D-grubu örneklerinin TBA değerlerinin D+ grubu örneklerinin TBA değerlerine göre yüksek olmasının nedeninin 48 saat daha fazla bekletmeden kaynaklanmış olabilir. Çeşitli çalışmalarda, oksitlenme YHB'tan hemen sonra artmamış, ancak basınçlanmış ette daha sonra depolama sırasında yağ oksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Orlien ve ark. 2000, Beltran ve ark. 2003, 2004, Cava ve ark. 2009). Bu yazarlar basınç şiddeti ve süresinden daha çok depolama süresinin etken olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışma sonuçlarımız yukarıdaki literatür bilgisi ile uyum içinde tespit edilmiştir. Depolamanın 3. gününde, TBA BD+ örneklerinde yükselirken ( $P<0,05$ ), BD- örneklerde düşmüştür ( $P<0,05$ ). Örneklerin vakum ambalajlı olmasından dolayı oksijen seviyesinin düşmesi ile TBA düzeyinde düşüş oluşmuş olabilir. BD+ örneklerde 3.günde diğer örneklerin aksine TBA'nın yükselmesinin BD- örneklerinde tespit edilen düşmeden dolayı YHB kaynaklı olmadığı gözlenmiştir. BD+ örneklerinde 3. günde daha yüksek TBA değeri Sikorski (1978) tarafından şöyle açıklanmıştır: Dondurma işlemi ile çözünür madde konsantrasyonu artış göstermekte ve bu da oksidatif reaksiyonların katalizlenmesine, hücre membranlarının dehidrasyonuna, membran fosfolipidlerinin oksidasyona maruz kalmasına neden olmaktadır. İnorganik iyonların artması spesifik etkiler gösterebilmekte ve yakın peptid zincirleri arasında çapraz bağlanma köprüleri kurabilmektedir. Bu iyonlar, lipit-protein komplekslerinin oluşmasına yardımcı olmakla birlikte, lipit oksidasyonunu hızlandırabilmektedir. TBA BD+ örneklerde 7. günde en yüksek değerini almıştır. Fakat değer sınır değerler açısından kabul edilebilir sınırların üzerinde olmamıştır. Depolamanın 15. gününde tüm örneklerde TBA artmış olup 15. günde en yüksek TBA KD- örneklerinde tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Bu sonuca göre KD+ ve BD- örnekleri aynı seviyede oksidasyona maruz kalmıştır denilebilir. Çalışmada 30. günden itibaren tüm örneklerin TBA değerleri düşmüş olup bu düşüş 45. gününde de devam etmiştir (Şekil 4.16).

Cheah ve Ledward (1996,1997) 400-800 MPa aralığında (20 dk, 19 °C) YHB ile domuz kıymasında depolamanın 6. gününde TBA'da artış belirtilmiştir. Ancak 300 MPa basınçta artış önemli tespit edilmemiştir. Genellikle, 300 MPa altında YHB'ın lipit oksidasyonu üzerinde çok az etkisi olduğunu ama daha yüksek basınçlarda önemli bir etkiye sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

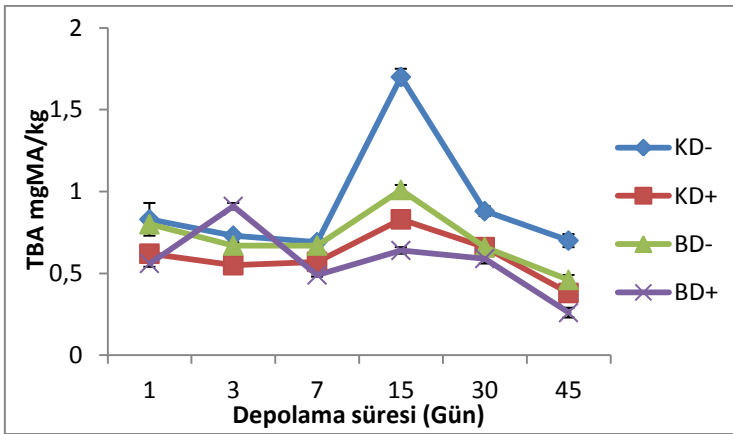
Schindler ve ark. (2010), 400-600 MPa (5 °C, 15 dk)YHB ile, sığır etinin, tavuk etine göre lipid oksidasyonunun daha kararlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonucu tavuk etine kıyasla sığır etinde doymamış yağlı asitlerin daha az oranda bulunmasına bağlamıştır. YHB sonrası lipid oksidasyonunun artması hemoproteinlerin konformasyonel değişikliklerinden kaynaklanmakta ve buda katalitik heme grubunun doymamış yağ asitlerine daha fazla maruz kalmasına neden olmaktadır (Bou ve ark. 2008).

Domuz etinde Cheah ve Ledward (1995, 1996, 1997), sığır etinde Ma ve ark. (2007), Ardle ve ark. (2010) ve Orlie ve ark. (2000), Tuboly ve ark. (2003), Beltran ve ark.(2004), Kruk ve ark. (2011), kümes hayvanlarının etlerinde YHB'nın lipid oksidasyonu üzerindeki etkisini bildirmişler ve YHB'ın etin lipid bileşeninin moleküler oksijen tarafından saldırıya duyarlı hale gelmesine ve lipid oksidasyonuna neden olmakla birlikte etin yağ asidi bileşiminin değişmesine neden olabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar basınçlanmış balık etinde 30 ve 45 gün aralığında TBA'nın düştüğünü ve raf ömrü sonunda önemli oranda azaldığını tespit etmişlerdir. Bu azalmanın üçüncül monaldehit parçalanmasından kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Munoz 2001, Erkan ve ark. 2013). Bu sonuçlar ve TBA düşme nedeni, paket içindeki mevcut kalmış oksijenin tükenmesi nedeniyle de olabilmektedir. Bu sonuçları destekleyen çalışmalar mevcuttur. Beltran ve ark. (2004), vakum ambalajlı çiğ tavuk kıymasında 500 MPa YHB'ın (4 °C'de 9 gün depolamada) oksidasyonu engellediğini tespit etmişlerdir. Yazarların aynı çalışmasında oksidasyon, örnekler hava ile temas halinde depolandıklarında 6. günde önemli artış göstermiştir. Benzer şekilde Nam ve ark. (2003), vakum ambalaj kullanılmış çalışmalarında gecikmeli oksidasyon bildirmişlerdir. Aynı çalışmada depolanan köftede, ekşime eşik değerini, minimum aşmıştır. Tarladgis ve ark. (1960), sınır değerlere sırasıyla aerobik ve vakum ambalaj halinde soğutucuda 28 gün içinde, donmuş depolamada aerobik ambalajında 60 gün ve vakumlu ambalajda 100 günde ulaştığını belirtmişlerdir. Yine Sinhamahapatra ve ark. (2013), tavuk köftesinibuzdolabında sırasıyla aerobik ve vakum ambalajda 14. ve 21. güne kadar TBA değeri açısından kabul edilebilir ve 40. ve 80. güne kadar, sırasıyla dondurucuda aerobik ve vakum ambalajlı olarak tüketilebilir durumda tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada sığır eti doymamış yağ asitleri açısından oksidasyona yatkın olmayan et tipi olması nedeni ile depolamanın 15. günü et örnekleri tüm gruplar için tüketilebilir durumda tespit edilmiştir. Witte ve ark. (1970), et ürünlerinde tüketilebilir TBA değerinin 1-2 mg MA/kg olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, raf ömrü sonundaki en yüksek TBA düzeyi, KD- örneklerinde görülmüştür. Tüm örneklerde TBA seviyeleri başlangıç düzeylerinden düşük bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Çizelge 4.18).

Zhu ve ark. (2005) ve Andr'es ve ark. (2006), hammadde kalitesi, kesim sonrası tarih ve ürün çeşidinin, YHB sonrası lipid oksidasyonu gelişimi üzerinde farklı etkileri olabildiğini belirtmişlerdir.

Ohshima ve ark. (1993), 610-200 MPa aralığında YHB ile balık kasında kontrol örneklerine göre, basınçlı kaslarda oto-oksidasyon oluşumu ile ilgili olarak daha stabil değerler tespit etmişlerdir. Halbuki Ruth ve ark. (2011), sığır etinde 600 MPa işleminin lipid oksidasyonunun oluşumunda en çok zarar veren basınç değeri olduğunu bildirmişlerdir. Bununla ilgili olarak çalışmada kullanılan 350 MPa (10 dk, 10 °C) YHB parametresi kıyılmış sığır etinde oksidasyon oluşumu için yeterli büyüklükte bir basınç değeri olmadığı için ve sığır etinde lipid oksidasyonu oluşumu tavuk etine veya balık etine göre doymamış yağ asitlerini daha az içermesi nedeniyle TBA seviyesi daha stabil olmuş olabilir. Çalışmada basınçlanmış örneklerde neredeyse tüm günlerde TBA değerlerinin daha düşük olduğu gözlenmiş ayrıca depolama boyunca tüm örneklerde TBA'nın düşüş göstermesi ile ilgili olarak örneklerin vakum ambalajlı olmasının etkili olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.16. Depolamada etin TBA sonuçlarına YHB'in etkisi

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç+Soğutucu BD+: Basınç+Dondurucu

### 4.9.3. L\*, a\*, b\*, ΔE

**Çizelge 4.19.** Basınçlanmış (350 MPa, 10 °C, 10 dk) ve taze kıymada depolama boyunca L\*, a\*, b\*, ΔE sonuçları

	Durum	L <sub>0</sub> *	a <sub>0</sub> *	b <sub>0</sub> *		
Kontrol (0.gün)	D-	39,05±0,15b	14,71±0,08a	15,04±0,25b		
	D+	39,61±0,10a	14,08±0,50b	15,64±0,07a		
Depolama Süresi ( Gün)						
		1	3	7	15	30
L*	KD-	39,14±0,17bA	38,27±1,06bA	40,01±0,05bA	39,34±0,88cA	39,23±0,59cA
	KD+	39,37±0,42bA	37,43±0,55baB	37,81±0,21cB	37,76±0,15dB	37,05±0,23cB
	BD-	47,68±0,76aB	47,81±0,27aB	48,10±0,15aAB	49,34±0,12aA	49,36±0,89aA
	BD+	46,22±1,34aA	46,95±1,44aA	47,52±0,75aA	46,66±0,28bA	46,26±0,82bA
a*	KD-	14,68±0,17aA	12,18±0,65bB	13,45±0,06bA	12,65±0,57aB	12,23±0,11aB
	KD+	14,05±0,10aAB	13,53±0,13aB	15,68±0,16aA	13,89±0,14aB	12,27±0,28aC
	BD-	8,92 ±0,27cAB	8,52 ±0,45dAB	9,56 ±0,61dA	8,03 ±0,36cAB	7,06 ±0,69cB
	BD+	10,87±0,45bA	9,91 ±0,15cA	10,79±0,20cA	9,55 ±0,83bB	9,77 ±0,48bA
b*	KD-	15,06±0,25bB	15,80±0,42abAB	16,43±0,05aA	15,72±0,59aAB	15,14±0,70bB
	KD+	15,72±0,17bAB	13,74±0,16bB	15,97±0,97aAB	13,98±0,53bB	14,03±0,61cB
	BD-	15,44±0,60bA	15,32±0,04bAB	15,37±0,10aAB	15,41±0,42aA	14,82±0,85bB
	BD+	16,86±0,27aA	16,46±0,63aA	16,11±1,21aA	15,53±0,28aB	15,77±0,43aB
ΔE	KD-	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
	KD+	1,04±0,08cB	2,84 ±0,74bA	3,28±0,12cA	2,78±0,32bA	2,46 ±0,45cA
	B D-	10,4±0,70aA	10,24±0,73aA	9,05±0,25bB	11,03±0,79aA	11,37±1,36aA
	BD+	7,66±1,70bAB	10,56±1,73aAB	10,9±0,81aAB	11,07±0,67aA	9,52 ±0,75bB

N=3 A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç+Soğutucu, BD+:Basınç+Dondurucu, Sonuçlar ±standart sapma olarak verilmiştir.

#### L\*

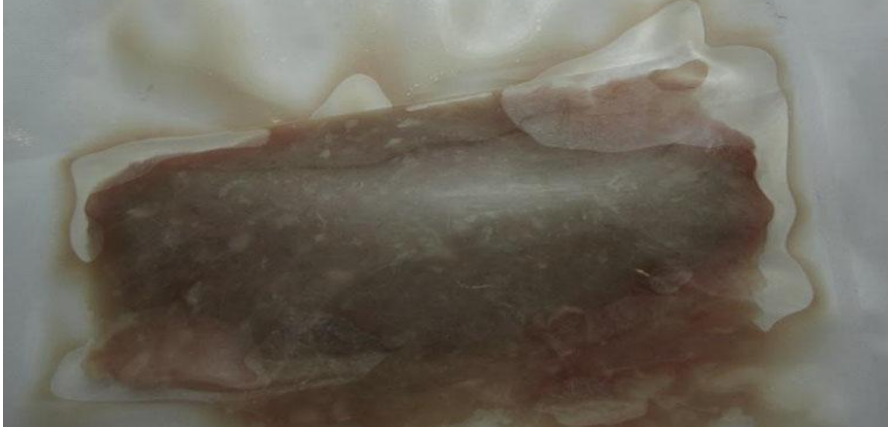
Basınçlanmış örneklerin L\* değerleri artmış (P<0,05) ve raf ömrü boyunca kontrol örneklerinden yüksek bulunmuştur (P<0,05). KD- ve BD+ örneklerinde 30 gün süresince L\* değerleri stabil kalmıştır (P>0,05). Bu sonuçlar Çiçek ve ark. (2013)'nin vakum ette yaptıkları çalışma sonuçları ile uyum içinde tespit edilmiş olup L\* değerlerinde değişim görülmemesi ortamda oksijen bulunmamasından kaynaklanmıştır. Raf ömrünün 15. ve 30. gününde BD- örneklerinin L\* değerleri BD+ örneklere göre daha yüksek bulunmuştur (P<0,05).

YHB nedeniyle L\* değerlerinde artışlar benzer çalışmalarda da rapor edilmiştir (Carlez ve ark. 1995, Jung ve ark. 2003, Marcos ve ark. 2010). Goutefongea ve ark.(1995) sığır etinde

YHB'ın 0°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda uygulandığı zaman sığır etinin L\* değerlerinde artışlar bildirmişlerdir. Benzer şekilde De Alba ve ark. (2012a), YHB'tan sonra, L\* değerlerini işlenmemiş örneklerle kıyasla basınçlı carpacciada daha yüksek bulmuşlar ( $P<0,05$ ) ve YHB sonrasında, L\* değerlerinin depolama sırasında azalma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Ardle ve ark. (2011), basınçlanmış sığır eti örneklerinde dondurucuda 30 gün boyunca L\* değerlerinin istikrarlı kaldığını, kontrol örneklerinin depolama boyunca işlenmiş örneklerle karşılaştırıldığında L\* değerlerinin düşük olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonuçları yukarıda verilen literatür sonuçları uyum içinde tespit edilmiştir. Bu çalışmada, KD- grup örnekleri L\* değerleri Çiçek ve ark. (2013)'ün araştırma sonuçları ile benzer bulunmuştur. Ruth ve ark. (2011) kontrol örnekleri sonuçlarına göre ise yüksek elde edilmiştir. L\* değerlerindeki farklılık etin özelliği ile değişebilmektedir.

a\*

Kırmızılık, tüm günlerde BD+ örneklerinde BD- örneklerine göre yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.20). Basınçlama ve öncesinde dondurma işlemi et örneklerinin kırmızılık değerlerini depolama süresinde korumasına neden olmuştur. Molekül taşınması dondurulmuş örneklerde YHB işleminde daha az hareket edeceğinden ete renk veren protein moleküllerinin hareketi de engelleneceğinden a\* değerleri daha iyi korunuyor olabilmektedir.



**Şekil 4.17.** 350 Mpa YHB sonrası vakum ambalajda et örneği

Ayrıca basınç altında düşük sıcaklıklarda rengin geri dönüşümlü olması nedeniyle basınçlama öncesi örneklerin dondurulması önerilmektedir. Dondurma sonrasında basınç uygulanan örnekler içinde geri dönüşümlü olabilmektedir. Ayrıca protein açılımında suyun önemi olup, kuru halde protein gruplar daha kararlı olmaktadır (Smeller, 2002).

a\* değerleri KD- örneklerinde 3. günde BD- örneklerinde ise 30. günde düşmüştür ( $P<0,05$ ). BD+ örneklerinde depolama boyunca değişim saptanmamıştır. Taze ette depolama



süresince meydana gelen düzensiz  $a^*$  değerindeki yükselişler depolamanın özellikle 7. ve 15. gününde et örneklerinde gelişen mikrobiyal gelişmeden kaynaklanmış olabilir. Vakum pakette ette olması beklenen fakultatif aneorob (*Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* ve *Hafnia*) bakteri türlerinin gelişmesi sonucunda metabolik faaliyetler çoğalarak, amin ve amonyak oluşması, dolayısıyla etin pH'sını alkaliye yaklaşması, bunun sonucundada et renginin pempeden kırmızıya dönüşebileceği belirtilmiştir (Erkmen 2010).

Depolama boyunca basınçlanmış grupların  $a^*$  değerleri kontrol grubundan düşük tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Benzer şekilde Kim ve ark. (2007), kontrol örneğine kıyasla 500 ve 600 MPa (15 °C, 5 dk) YHB ile sığır etinde  $a^*$  değerlerinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bajovic ve ark. (2012), çalışmalarında 300 MPa YHB ile önemli ölçüde daha az kırmızılık bildirmişlerdir. YHB'ya bağlı olarak  $a^*$  değerlerinde gözlenen azalma, araştırmacılar tarafından azaltılmış miyogloblin içeriğine ve metmyogloblin oluşumuna atfedilmiştir (Carlez ve ark. 1995). Carlez ve ark. (1995)  $a^*$  değerlerinde basınçlanmış carpaccioda 1 gün sonra kontrol örneklerle karşılaştırıldığında azalma tespit etmişlerdir. En düşük değerler buzdolabında saklama sonunda elde edilmiştir. Kıyma örneklerinin, 450 MPa'da (15 dk)  $a^*$  değerlerinin azalması, 400 MPa üzerinde myogloblin molekülünde oluşan değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde kurutulmuş jambonda YHB sonrası  $a^*$  değerlerinin depolama sırasında azalma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (De Alba ve ark. 2012a).

BD+ örneklerinde ise  $a^*$  değerleri depolama boyunca stabil tespit edilmişken, diğer örneklerde minimum değişimler gözlenmiştir. Sonuçlar, Berruga ve ark. (2005)'nin sonuçları ile uyum içinde bulunmuştur. Benzer şekilde Cava ve ark. (2009), Clariana ve ark. (2012), 400 MPa uygulama sonrasında buzdolabında saklandıktan sonra  $a^*$  değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Kontrol örneklerinin  $a_0^*$  (D- 14,68, D+ 14,05) değerleri Ardle ve ark. (2011) bulduğu kontrol örnekleri değerlerine göre düşük, Çiçek ve ark. (2013)'nin sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu farklılık ette myogloblin içeriği ve etin işlem süresine kadarki olan süreçte kesim sonrası şartlar ve mikrobiyal durum gibi etkenlerden kaynaklanmıştır. BD- örneklerde 30. güne kadar, BD+ örneklerde ise neredeyse 30 gün boyunca rakamsal değer olarak büyük bir değişiklik tespit edilmemiştir.

b\*

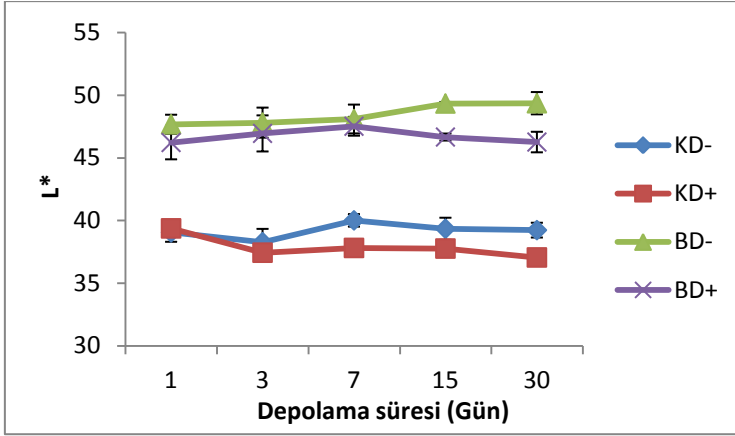
Basınçlanmış örneklerde depolama boyunca b\* değerleri değişiklik göstermemiş (P>0,05) olup, kontrol örneklerinde 7. günde artma görülmüştür (P<0,05).

Carlez ve ark. (1993), b\* değerlerinde basınçlanmış ve kontrol et örnekleri arasında önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Araştırma sonuçları bu çalışma sonuçları ile uyum içersinde tespit edilmiştir. Çalışmada, BD- örneklerinin sonuçları kontrol örnekleri ile benzer bulunmuşken (P>0,05), BD+ örneklerinde sarılık diğer gruplara kıyasla belirli günlerde yüksek bulunmuştur. Literatürde basınca bağlı b\* (sarılık) artışı ve a\* değerlerindeki azalma, metmyoglobin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Carlez ve ark. 1995). İstatiksel olarak önemli bulunmasa da, BD+ grup örneklerde 30 gün süresince b\* değerlerinde düşüş tespit edilmiştir. Bununla birlikte Ardle ve ark. (2011), basınçlı (500 MPa) kıyılmış bifteğin depolama boyunca b\* değerlerinin sabit kaldığını, kontrol örneklerinde ise 5 °C'de 12 gün depolandıktan sonra düştüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada tüm basınçlanmış gruplarda b\* değerleri depolama boyunca daha stabil bulunmuştur (Şekil 4.18c).

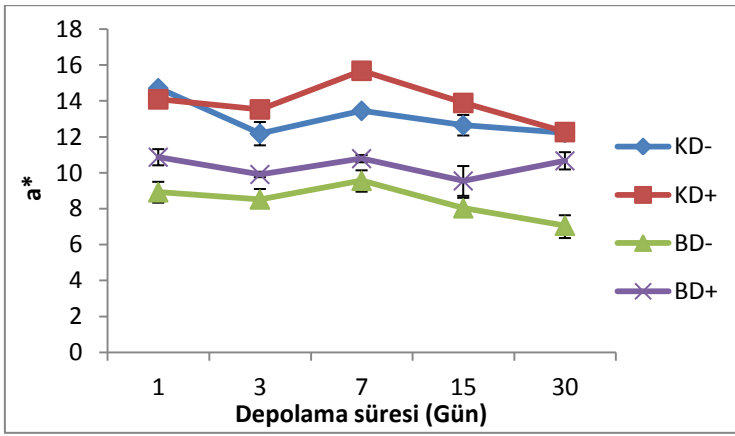
ΔE

KD+ ve basınçlı örneklerde, 30 gün boyunca ΔE değerlerinde belirgin değişim tespit edilmemişken (Çizelge 4.19), basınçlanmış örneklerin ΔE değerleri depolama süresince kontrol örneklerine göre farklı bulunmuştur (P<0,05). BD+ örneklerde 1. gün ΔE 7,6, BD- örneklerde 10,4 elde edilmiştir. Ortalama 10 birim ΔE literatürde renk değişimi açısından kaydadeğer değişim olarak bildirilmiş (Jung ve ark. 2003) olup, 3. günde ΔE basınçlı örneklerde 10 birim sınırına ulaşmıştır. YHB öncesi örneklerin dondurulması raf ömrünün başlangıcında rengin daha iyi korunmasına neden olsada, 30. gün sonunda da BD+ örneklerde ΔE, BD- örneklerinden düşük bulunmuştur (P<0,05).

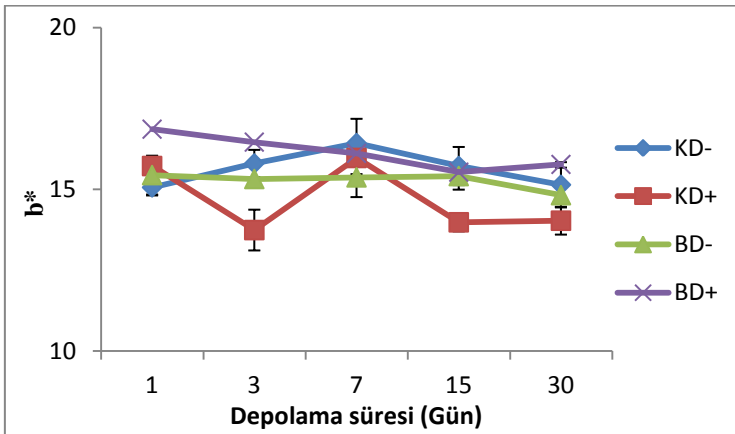
Fernandez ve ark. (2007) basınç öncesi dondurulmuş örneklerde 600 MPa (20 °C ve -35 °C) YHB ile basınçlanmış sığır eti örneklerinde 45 gün -18 °C depolamada hunter renk değerleri depolama boyunca değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar basınçlama öncesi dondurulmuş sığır eti örneklerinde ve düşük sıcaklıkta YHB ile renkte depolama boyunca geri dönüşümsüz olarak koruma sağladığını belirtmişlerdir. 45 gün sonrasındaki değerler limitlerin altında kaldığı bildirilmiştir (Fakat aynı çalışmada 8 °C'de depolamada et rengi belirgin bir şekilde etkilenmiştir (P<0,05).



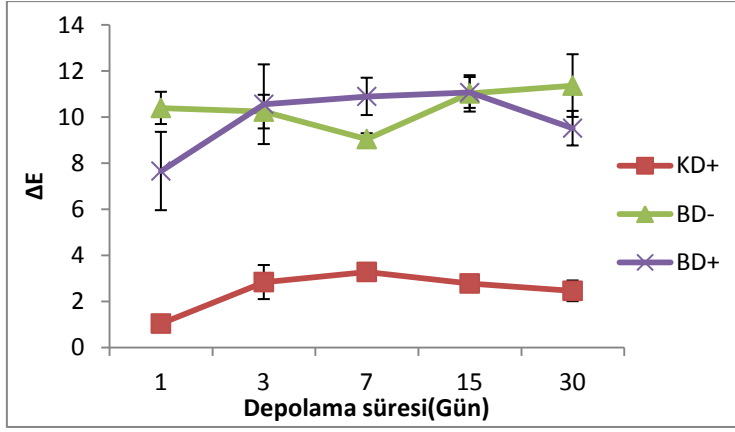
a)



b)



c)



d)

Şekil 4.18. Depolamada taze kıymanına) L\*, b) a\*, c) b\*, d)  $\Delta E$  parametrelerine YHB'ın etkisi

KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç+Soğutucu BD+: Basınç+Dondurucu

#### 4.9.4. Tekstür

**Çizelge 4.20.** Depolama boyunca basınçlanmış (350 MPa, 10 °C, 10 dk) ve taze kıymanın tekstürel özellikleri

		Depolama Süresi(Gün)				
		1	3	7	15	30
Sertlik(g)	KD-	1646,8±108,1bA	1122,5±124,4bB	1198,1±29,9bB	1129,6±71,2cB	1076,2±48,9bB
	KD+	1181,6±72,82c A	1050,3±150,8bA	967,4±109,4bA	1155,2±169,2cA	983,3±293,6bA
	BD-	2087,0±95,2bA	2061,3±96,6aA	2280,8±29,9aA	1633,2±132,1bB	2148,2±130,3aA
	BD+	2724,3±402,4aA	2414,7±311,4aA	2625,7±109,4aA	2225,5±172,0aA	1992,3±17,5aB
Sakızimsılık (g)	KD-	1084,5±53,8bA	720,1±68,6bB	814,2±8,2bB	1183,8±81,9bA	1108,5±12,3bA
	KD+	729,1±244,3bA	934,2±85,1bA	660,8±37,9bA	819,6±43,5cA	832,1±52,8cA
	BD-	1460,8±95,40aB	1477,8±81,8aB	1712,8±104,1aA	1251,0±228,7bB	1549,4±184,2aB
	BD+	1959,5±96,2aA	1794,6±180,4aA	1641,2±121,0aA	1623,9±70,0aB	1460,0±101,6aB
Çiğnenebilirlik (g)	KD-	904,5±47,6cA	510,4±30,5dD	610,6±44,41cC	765,04±62,1cB	746,2±45,5bB
	KD+	679,5±46,3dAB	850,9±98,1cA	554,2±44,68cB	626,82±82,6cB	640,0±101,9bB
	BD-	1360,8±105,1bA	1272,4±64,4bA	1248,5±120,80bA	1059,10±78,8bB	1065,5±98,0aB
	BD+	1907,6±54,9aA	1634,3±44,5aB	1514,8±50,10aB	1372,7±96,9aAB	1357,0±96,6aB
Yapışkanlık (g*s)	KD-	-144,2±4,8bA	-81,3±9,5cC	-105,3±8,7bB	-154,1±8,1bA	-161,2±9,50bA
	KD+	-66,9±4,5cB	-143,8±41,8bA	-116,5±10,0bA	-134,4±10,1bA	-140,1±5,06bA
	BD-	-178,6±12,7aB	-149,5±6,3bB	-156,1±22,6aB	-181,3±19,8aB	-313,1±21,8aA
	BD+	-152,7±9,6bB	-187,9±8,2aA	-135,7±8,5aB	-189,9±24,5aA	-226,0±10,6aA
Elastikiyet (mm)	KD-	0,82±0,04bA	0,69±0,07bA	0,74±0,10bA	0,64±0,11bA	0,64±0,13bA
	KD+	0,82±0,04bA	0,84±0,05aA	0,77±0,09bA	0,77±0,12aA	0,75±0,10bA
	BD-	0,92±0,07aA	0,86±0,03aA	0,82±0,03aA	0,80±0,05aA	0,93±0,06aA
	BD+	0,95±0,02aA	0,94±0,04aA	0,94±0,03aA	0,83±0,05aB	0,91±0,05aA
Bağlılık	KD-	0,66±0,02aA	0,65±0,02aA	0,66±0,05aA	0,64±0,04bA	0,62±0,04bA
	KD+	0,64±0,06aA	0,64±0,02aA	0,69±0,04aA	0,70±0,04aA	0,71±0,06aA
	BD-	0,69±0,06aA	0,70±0,04aA	0,71±0,06aA	0,78±0,06aA	0,71±0,04aA
	BD+	0,72±0,05aA	0,71±0,06aA	0,73±0,07aA	0,71±0,02aA	0,73±0,02aA
Esneklik (%)	KD-	0,23±0,03bA	0,21±0,03bA	0,25±0,02bA	0,26±0,01bA	0,26±0,02bA
	KD+	0,22±0,01bA	0,22±0,01bA	0,24±0,01bA	0,23±0,02bA	0,22±0,02bA
	BD-	0,33±0,01aAB	0,33±0,02aAB	0,37±0,02aA	0,36±0,03aA	0,29±0,02aB
	BD+	0,34±0,05aA	0,32±0,02aA	0,34±0,04aA	0,32±0,03aA	0,28±0,01aA

N=3 A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05) Değerler±standart sapma şeklinde verilmiştir. KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç+Soğutucu, BD+:Basınç+Dondurucu

## Sertlik

Çizelge 4.20’de belirtildiği gibi sertlik, depolama boyunca basınçlanmış örneklerde kontrol örneklerine kıyasla yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.19a). YHB et proteininde, sıcaklık, basınç ve süreye bağlı olarak yumuşama veya sertleşmeye neden olabildiği ve buna protein denatürasyonu, agregasyon veya jelleşmenin neden olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden işlem koşullarının dikkatli bir şekilde et kasında yumuşatma etkisini artırmak için kontrol edilmesi gerektiği önerilmiştir (Cheftel ve Culioli 1997, Torres ve Velazquez 2005). BD+ örneklerinin raf ömrü boyuncasertlik değerleri düşme göstermiştir. Bununla ilgili olarak Zare (2004), depolamada basınçlı örneklerin doku sertliğindeki azalmanın, depolama sırasındaki tamamlanmamış inaktivasyon veya proteaz enzim aktivitelerinin yeniden aktifleştirilmesinden kaynaklanabilir olduğunu belirtmiştir.

BD+ örneklerinin sertliği BD- örneklerinin sertliğinden daha yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Şekil 4.19a’da görüldüğü gibi depolamada basınçlanmış örneklerde sertlikte oluşmuş olan artışlar, etteki proteaz inaktivasyonundan kaynaklanmış olabilir. Diğer bir olasılık YHB sonrası miyofibrillerde kısmen su tutma kapasitesindeki artışın depolama sırasında tutulan suyun atılmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Su tutma kapasitesi ile ilgili bilgi 4.12 pişirme kayıpları bölümünde anlatılmıştır). KD+ örneklerde depolama boyunca sertlik değerleri değişmemişken ( $P>0,05$ ), KD- örneklerinde depolamanın 3. gününden itibaren sertlik düşmüştür ( $P<0,05$ ). Bu durum, mikroorganizma seviyesinin yükselmesi ve enzimlerin faaliyeti sonucunda ette miyofibrillerin parçalanmaya başlaması ile birlikte et yüzeyinden başlayarak sertlik kaybı oluşmuş olabileceği söylenilebilir.

## Sakızımsılık

Sakızımsılık depolama boyunca basınçlanmış örneklerde kontrol örneklerinden yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Çizelge 4.20). Basınçlı örneklerde 15 günden sonra sakızımsılık düşme göstermiştir ( $P<0,05$ ). KD- örneklerinde 3. günde sakızımsılık en düşük değer alırken 3. günden sonra yükselmiştir. Sakızımsılık basınçlanmış örneklerde kontrol örneklerine kıyasla artmış ve depolama süresince kontrol örneklerinden yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.19b).

## Çiğnenebilirlik

Depolama boyunca basınçlanmış örneklerin çiğnenebilirliği, kontrol örneklerine kıyasla ve BD+ örneklerin değerleri BD- örneklerinin değerlerine kıyasla yüksek bulunmuştur

( $P<0,05$ ) (Şekil 4.19c). Basınçlı örneklerde çiğnenebilirlik 7. günden sonra düşmüşken ( $P<0,05$ ), KD- örneklerinde 1. günden sonra düşme görülmüştür ( $P<0,05$ ).

Cheftel ve Culioli (1997), Torres ve Velazquez (2005), ette çiğnenebilirliğin YHB uygulaması ile artma gösterdiğini, bununla birlikte, YHB'nin bağ dokusu dayanıklılığı üzerinde çok az bir etkiye sahip olduğunu ve çiğnenebilirlik değerlerinin iç bağların gücüyle orantılı olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da çiğnenebilirlik değerleri basınçla artma göstermiştir. Bununla birlikte raf ömrü süresince BD+, BD-, KD- gruplarda çiğnenebilirliğin azalması, ette gerçekleşen biyokimyasal ve fizikokimyasal değişimler sonucu oluşan iç bağlarda zayıflamadan kaynaklanıyor olabilir.

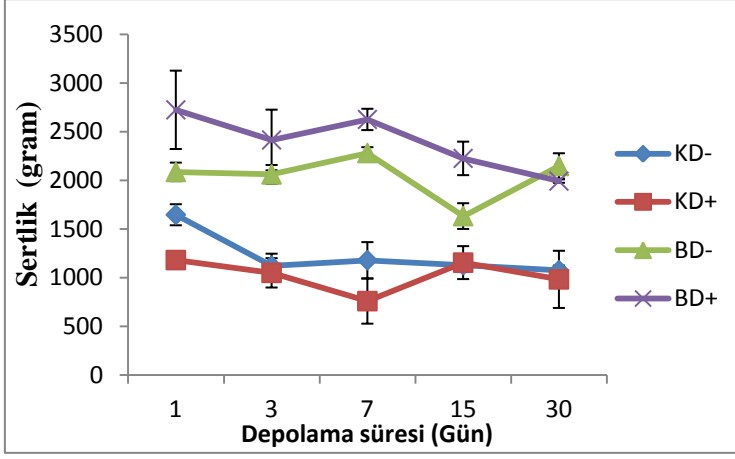
### Yapışkanlık

Çizelge 4.20'de görüldüğü gibi tüm günlerde yapışkanlık basınçlı örneklerde kontrol örneklerine kıyasla yüksek tespit edilmiştir. Raf ömrünün 1. gününde BD- örneklerde yapışkanlık düzeyi diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.19d). Basınçlı örneklerde 30. günde önemli oranda artış olmuştur ( $P<0,05$ ). Yapışkanlık oluşumu ve depolama boyunca yapışkanlığın artması, gelişen laktik asit bakterileri ve diğer bakteri gruplarının aminoasitleri parçalaması sonucunda su oluşumu ve yapışkanlığa neden olması şeklinde yorumlanmıştır.

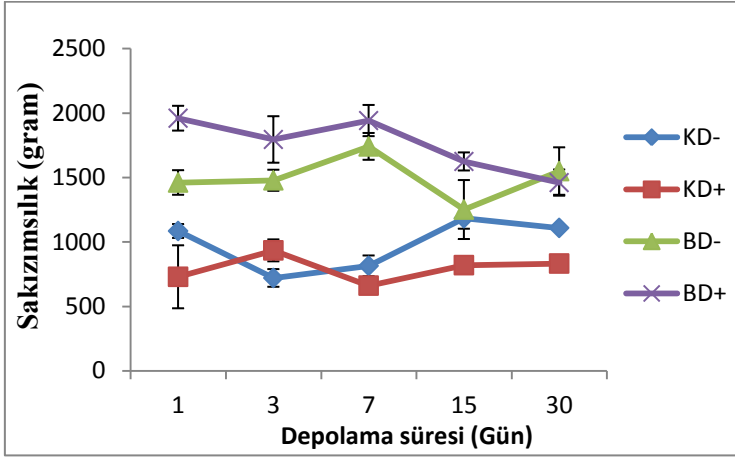
### Esneklik

Esneklik tüm günlerde basınçlanmış örneklerde kontrol örneklerine kıyasla yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.19g). Basınç uygulaması ile esneklik artmış olup, BD- ve BD+ örneklerinin sonuçları raf ömrü boyunca benzer bulunmuştur ( $P>0,05$ ). Basınçlı örneklerde 15 ve 30. günde düşmüştür. Basınçlama ile et örneklerinin iç bağlanma düzeyinde artmadan kaynaklanan esneklik artışı beklenen bir durum olup, araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Cheftel ve Culioli 1997, Torres ve Velazquez 2005).

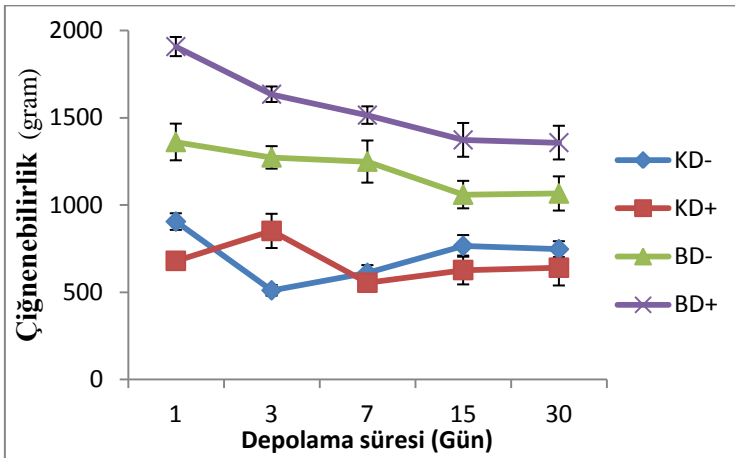
Elastikiyet ve bağlılık (iç yapışkanlık) değerleri tüm gruplarda raf ömrü süresince değişmemiştir ( $P>0,05$ ) (Şekil 4.19ef). Tüm günlerde elastikiyet basınçlı örneklerde kontrol örneklere göre yüksek tespit edilmiş ( $P<0,05$ ) olup, bağlılık ise benzer bulunmuştur ( $P>0,05$ ). Basıncın bağlılık üzerine etkisi önemli olmasada artma göstermiştir.



a)

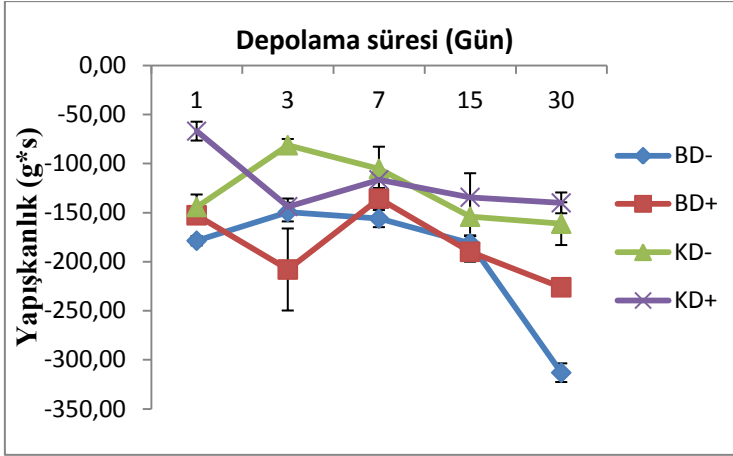


b)

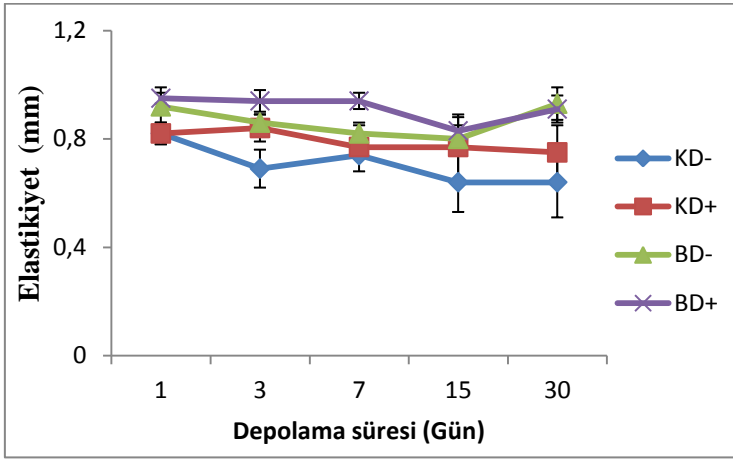


c)

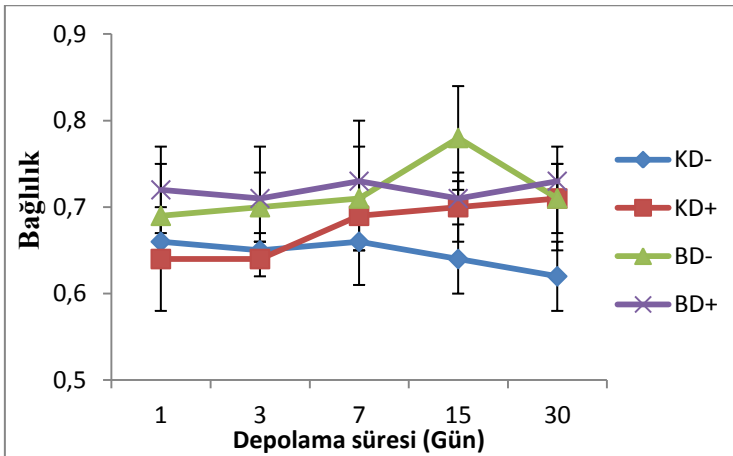




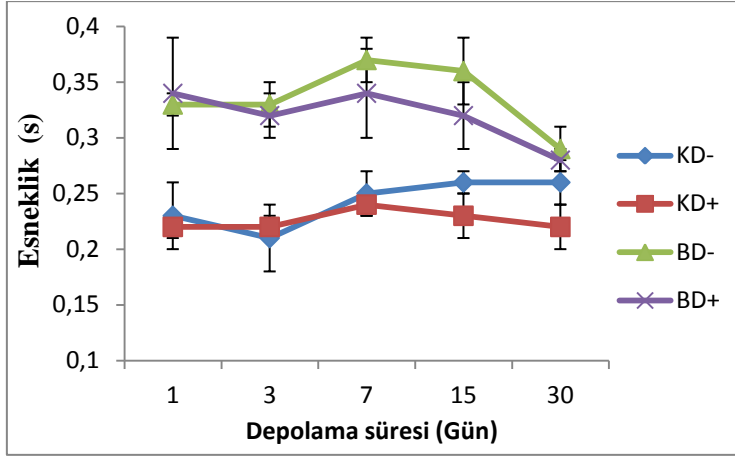
d)



e)



f)



g)

**Şekil 4.19.** Depolamada kıymanın tekstür parametrelerine YHB'nin etkisi **a)** Sertlik **b)** Sakızımsılık **c)** Çiğnenebilirlik **d)** Yapışkanlık **e)** Elastikiyet **f)** Bağlılık (iç yapışkanlık) **g)** Esneklik

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç+Soğutucu, BD+: Basınç+Dondurucu

#### 4.9.5. Taze kıymada inokulasyon yapılmayan örneklerde YHB'nin raf ömrü boyunca mikrobiyal yüke etkisi

##### 4.9.5.1. Taze kıymada inokulasyon yapılmayan örneklerde YHB'nin raf ömrü boyunca Toplam Mezofilik Aerobik bakteri sayısına etkisi

Taze kıymada var olan mevcut bakterilerin 350 Mpa YHB sonrasında 45 gün soğutucuda depolama sürecinde mikrobiyal stabilitesi ve taze ete kıyasla YHB'nin raf ömrünü uzatma etkisi incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.21'de ve Şekil 4.20'de verilmiştir.

**Çizelge 4.21.** İnokule edilmemiş örneklerde depolama boyunca toplam mezofilik aerobik bakteri sayısına YHB'nin (350 MPa, 10 °C, 10 dk) etkisi

	Depolama Süresi (Gün)					
	1	3	7	15	30	45
KD-	6,62±0,28aB	7,80±0,15aA	7,03±0,78aAB	8,23±0,16aA	7,6±0,62aB	7,65±0,19aB
KD+	5,48±0,42aB	5,87±0,43bB	6,13±0,06aA	6,19±0,06bA	5,62±0,24bB	5,56±0,22bB
BD-	2,76±0,21bCD	2,44±0,46cD	3,36±0,07bBC	4,73±0,59cB	5,02±0,11cB	5,67±0,72bA
BD+	2,07±0,89bC	1,84±0,10cC	3,19±0,05bB	4,16±0,50cA	4,19±0,40dA	4,17±0,56cA

N=3 Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

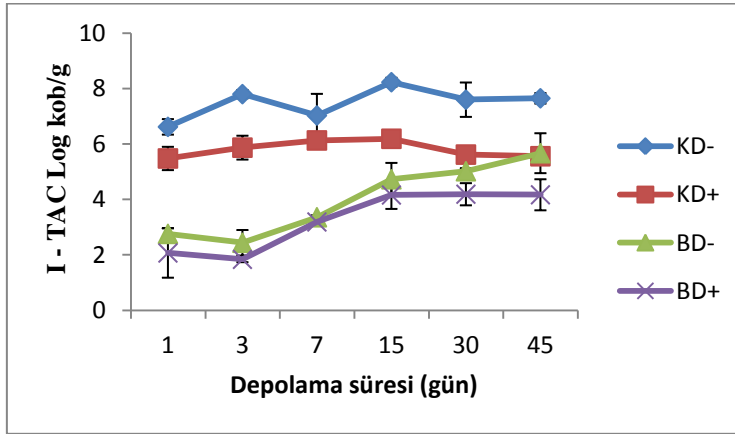
A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05) (log kob/g)

a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç+Soğutucu, BD+: Basınç+Dondurucu

Çalışmada etin başlangıç TMAB sayısı yaklaşık  $6,62 \pm 0,28$  log kob/g tespit edilmiştir. Etin başlangıç mikrobiyal kalitesi ve dayanma süresi arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Başlangıç mikroorganizma sayısı  $10^5$  adet/cm<sup>2</sup> aşan karkaslarda 5 °C depolamada) 6 gün içerisinde bozulma belirtileri tespit edilmektedir (Çon ve Gökalp 1998).

Çizelge 4.21’de belirtildiği gibi basınçlanmış örneklerde TMAB sayısı 45 gün süresince yasal sınırların altında kalmıştır. TMAB sayısında 1. gündeki azalma YHB kaynaklı olup, basınçlanmış örneklerde 3. günde paket içerisinde varolan oksijenin tükenmesiyle birlikte aerob hasarlı hücre ölümü gerçekleştiğinden sayı azalmış olabilir. Depolamanın sonraki günlerinde basınç nedeniyle hasar görmüş fakat kendini onarabilen (oksijen yokluğu, CO<sub>2</sub> varlığı, soğuk depolama gibi etkenlerin varlığında) mikroorganizma grubu varlığını sürdürebilmiş ve basınçlanmış örneklerin depolama boyunca oluşan mikrobiyal yük artışının hasar görmüş mikroorganizmaların iyileşmesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Sonuçlara göre BD+ örnekleri BD- örneklerine göre çok daha düşük oranda hasarlı mikroorganizma bulundurmıştır.



**Şekil 4.20.** İnokule edilmemiş örneklerde depolamada TMAB sayısına YHB’ın etkisi

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç+Soğutucu BD+: Basınç+Dondurucu

Depolama boyunca TMAB düzeyi basınçlanmış gruplarda kontrol gruplarına göre düşük bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). BD+ ve BD- örneklerde 3. günden itibaren TMAB sayısında artış tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). KD- örneklerinde 3-7 gün aralığında mikrobiyal artış oluşmadığından bu artış basınç ile hasar gören mikroorganizmaların onarımı sonucu oluşmuş olabilir. 1. günde KD- grubu ile BD+ grubu örnekleri TMAB düzeyi farkı 4,55 log kob/g bulunmuştur. 45. günün sonunda BD+ örneklerinde BD- örneklerine göre 1,5 log kob/g daha

az TMAB düzeyi saptanmıştır. KD- ve BD+ örnekleri arasında TMAB farkı 45. günde 3,5 log kob/g'dır. KD- örneklerinde 1. günde ortalama TMAB seviyesi  $6,6 \pm 0,28$  log kob/g olup, depolama boyunca ortalama  $8,2 \pm 0,16$  log kob/g düzeyinde değişim göstermişken en yüksek bakteri düzeyine 15. günde ulaşılmıştır ( $P < 0,05$ ). Çiçek ve ark. (2013)'nin çalışmasında et örnekleri TMAB sayısı 7. günde  $8,3 \pm 0,64$  log kob/g'a ulaşmıştır ( $N_0 = 5,6$  log kob/g). Bunda kullanılan etin başlangıç mikroorganizma yükünün, deneysel çalışmada kısılmış etin başlangıç mikroorganizma yükünün yüksek olması etkili olmuştur. Bakteri düzeyinin 15. günden sonra KD- örneklerde düşme gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Bilindiği gibi vakum paketli etlerde paket içerisindeki oksijeni mevcut mikroorganizmaların tüketmesi ile birlikte 7-15 gün aralığında KD- örneklerindeki mikroorganizma artışı gelişme gösteren laktik asit bakteri grubundan kaynaklanmış olabilir. Depolamanın sonuna doğru oluşan metabolitlerin artması ile birlikte mikroorganizma seviyesinde azalma olmuştur. KD+ örneklerinde 15. günden itibaren dondurma kaynaklı olabileceği düşünülen hasar nedeni ile mikroorganizma seviyesinde düşmüş, ayrıca BD- örneklerde özellikle 15. günde oluşan mikrobiyal yük artışının da etkisi ile 45 gün sonunda KD+ ve BD- örneklerinin eşit seviyede mikrobiyal yük içerdiği görülmüştür. Bu durum basınçlanmış örneklerde depolama sürecinde hasar almış ve depolamanın başlangıcında tespit edilemeyen hasarlı mikrobiyal hücrelerin özellikle 15. günde kendini onarması ile mümkün olmuştur.

Şekil 4.20'de görüldüğü gibi YHB öncesi dondurulmuş örneklerde mikrobiyal hücrelerin YHB ile ölüm derecesinde yaralandığı ve depolama sürecinde BD- örneklerindeki mikrobiyal gelişmeye oranla düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, TMAB'da basınç kaynaklı elde edilen logaritmik azalma D- ve D+ örneklerde sırasıyla 3,96, 3,41 log kob/g'dır. D+ örneklerde yaklaşık 0,5 log kob/g daha az azalma sağlanmış gözüküyor olsa da, bu sonuç KD+ örneklerinin 48 saat  $-21$  °C'de bekletilmesi sonucunda TMAB sayısında 1,14 log kob/g azalma olmasından kaynaklanmıştır. KD-örneği başlangıç bakteri düzeyi olarak referans alınırsa 4,55 log kob/g bakteri düzeyinde azalma sağlanmıştır. Dondurma nedeniyle etteki mikroorganizmaların nispeten yüksek oranda azalması, örneklerin  $-21$ °C'de yavaş dondurulmasıyla ve dondurma öncesi oda sıcaklığında yaklaşık 4 saat boyunca tutulan ette yeni üreyen mikroorganizmaların henüz logaritmik fazda bulunmaları dolayısıyla donmaya hassas olmalarından kaynaklanmış olabilir.

Garriga ve ark. (2004), 600 MPa YHB'ın 120 gün soğuk depolamada, ekşi tat ve kötü lezzetleri önlemeye yardımcı olduğunu, aynı koşullarda vakum paketlenmiş marine edilmiş sığır etinde 30. gün kontrol örneklerindeki toplam aerobik canlı sayısı 8,10 log kob/g'a ulaşmışken, basınçlı örneklerde  $< 2$  log kob/g seviyesinde olduğu bildirilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi'nde verilen çiğ etler için mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre, Çizelge 4.21'in sonuçlarına göre basınçlanmış örneklerdeki TMAB sayısı, raf ömrü süresince  $5 \times 10^6$  kob/g sınır değerinin altında kalmıştır. Kontrol örneklerinin TMAB düzeyi ise depolamanın başlangıcında sınır değerlerde iken depolama süresi sonunda yaklaşık 7,5 log kob/g olup depolama sürecinde 8 log kob/g seviyesini aşmıştır.

Barrea ve ark. (2007), Ergeldi (2010), Çiçek ve ark. (2013)'nin sonuçları incelendiğinde, başlangıç mikroorganizma yüklerinin bu çalışmada yüksek olduğu, ancak depolama esnasında tespit edilen TMAB artışlarının bu çalışmada elde edilen artışlar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Carlez ve ark. (1994), kıyılmış sığır etinde toplam mikroflora inaktivasyonunu 450 MPa (20 °C, 20 dk) YHB ile 3 °C'de 10 gün depolamanın sonunda 4 log kob/g'ın üzerinde tespit etmişlerken, Ardle ve ark. (2011), sığır etinde soğuk depolamada, kontrol örnekleri için bozulma düzeylerine 4 °C'de, 5 gün ve basınçlanmış örnekler için ise, 28 gün depolamadan sonra ulaşıldığını bildirmişlerdir. Ayrıca Malinowska ve ark. (2013)'nin çalışmasında domuz ve sığır etinin 193 MPa (-20°C) YHB'tan sonra 4 °C'de depolanmada bakteri gelişiminde gecikme gözlenmiştir. 6 gün sonra, basınçlı sığır etindeki TMAB, kontrol grubundan 3,3 log kob/g daha düşük tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ise 7. günde basınçlı örneklerdeki TMAB kontrol grubundan yaklaşık 3 log kob/g daha düşük saptanmıştır.

#### **4.9.5.2. Taze kıymada inakulasyon yapılmayan örneklerde YHB'ın depolama boyunca *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* varlığına etkisi**

İnokule edilmemiş kıyma örneklerinde basınçlama öncesi ve sonrası patojenlerin varlığı tespit edilmiş ve 350 MPa (10 °C, 10 dk) YHB işlemi sonucunda ve depolama boyunca *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*'nin varlığını bildiren sonuçlar Çizelge 4.22'de verilmiştir.

**Çizelge 4.22.** İnokule edilmemiş örneklerde depolama boyunca *E. coli*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp. Varlığı (var/yok)

		Depolama süresi (Gün)																	
		<i>E.coli</i>						<i>Salmonella</i>						<i>Listeria</i>					
		1	3	7	15	30	45	1	3	7	15	30	45	1	3	7	15	30	45
KD-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
KD+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
BD-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BD+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N=3 KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç+Soğutucu BD+:Basınç+Dondurucu Aşılama yapılmamışYHB uygulanmış et örneklerindeYHB (350 MPa 10 °C 10 dk) sonrası ve 45 gün 4°C depolama sürecinde patojen varlığı <10 kob/25g

Kontrol örneklerinde 3. günde *E. coli* tespit edilmiş olup, sonraki günlerde tespit edilmemiştir. Bu durumun ortamdaki mikroorganizmaların artışı sonucunda substrat kaynağının azalması yada soğuk ve oksijen stresi ile ilişkili olabilir. KD+ örneklerinde 1. ve 3. günlerde *E. coli* tespit edilmişken diğer günlerde tespit edilememiştir. Bu durum *E. coli* hücrelerinin dondurucuda bekletildiği süre zarfında, metabolizma üzerinde strese bağlı hücre hasar görmesinden dolayı, üreme gösterememiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. 15. günde BD+ örneklerde *E. coli* tespit edilmiş olması, basınçla hasar gören mikroorganizmaların kendilerini geçen süre ile birlikte, buzdolabı sıcaklığında onarması ile açıklanmıştır. Ancak YHB sonrası +4 ±2 °C 'de depolamada, 30. ve 45. günlerde bakteri tespit edilmemiştir. Bu durum Bozoğlu ve ark. (2004) tarafından aşağıdaki şekilde açıklanmıştır.

“Metabolik hasar oluşturan yaralanmadan, yapısal hasar görmüş ve seçici olmayan agar üzerinde koloni oluşumu varken, seçici agar üzerinde koloni gelişimi olmayan yaralanma tipi onarımını takiben herhangi bir aktif hücre göstermez.” Basınçlanmış örneklerde 15. güne kadar *E. coli* tespit edilmemesi yine aynı araştırmacılar tarafından “hücrenin tamiratı tamamlandıktan sonra, aktif hücreye onarımı, bazı durumlarda yaralanmanın algılanmasını imkansız hale getiren çok kısa sürede meydana gelebilir.” şeklinde açıklanmıştır.

KD- örneklerinde tüm günlerde *Salmonella* spp. tespit edilmişken, KD+ örneklerinde ise depolamanın 30 gününden itibaren *Salmonella* spp. varlığı tespit edilememiştir. Değişen ortam koşullarında (soğuk ve oksijen stresi vb.), dondurma kaynaklı *Salmonella* spp. ölümü gerçekleşmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre, 350 MPa (10 dk) YHB prosesinin *Salmonella* ve *Listeria* inaktivasyonu için yeterli bir basınçlama parametresi olduğu söylenilebilir. YHB sonrası ve depolamada *Salmonella* ve *Listeria* tespit edilememiş olması, *Salmonella* ve *Listeria* hücrelerinin YHB sonrasında ölüm düzeyinde hasar gördüğünü ifade eder. Yaralanmış olan *Salmonella* var ise de soğutucuda 45 gün boyunca kendisini onaramamıştır. Büyük olasılıkla Bozoğlu ve ark. (2004) tarafından bildirildiği gibi sitoplazmik zar hasarının onarımı için RNA ve protein sentezine ihtiyacı gerçekleşemediğinden hücre tespit edilememiştir. Depolama sırasında hücreler hasarlı metabolizmalarını onarabilmekte ve daha sonra büyüebilmektedirler. Hasarı onarmak için gereken zamanın, suşun hassasiyetine ve uygulanan basıncın şiddetine bağlı olduğu bildirilmektedir (Malinowska ve ark. 2013).

#### **4.9.5.3. Taze kıymada inokulasyon yapılan örneklerde YHB'ın depolama boyunca *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 seviyesine etkisi**

*E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* 33090 inokule edilmiş dondurulmuş ve dondurulmamış kıyma örneklerinde 350 MPa (10 °C, 10 dk) YHB işlemi sonucunda ve depolama boyunca kontrol ve basınçlı örneklerde mikroorganizma seviyeleri, genel ve seçici besiyerinde Çizelge 4.23 Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.25'de verilmiştir.

Çizelge 4.23'de belirtildiği gibi depolama boyunca basınçlanmış örneklerde genel besiyerinde *E. coli* 25922 ortalamaları kontrol örneklerinden farklı bulunmuştur (P<0,05). YHB ile D- örneklerde 1. günde *E. coli* 25922 sayısında 2,16 log kob/g, D+ örneklerde 2,79 log kob/g, KD- mikroorganizma yükü referans alındığında 4,45 log kob/g azalma sağlanmıştır. Depolama boyunca BD- örnekleri seçici besiyerinde *E. coli* 25922'de 1. günden 7. güne kadar yaklaşık 2,35 log kob/g azalmışken 7. ile 15. gün arasında 1,75 log kob/g artmıştır. BD+ örneklerinde ise 1. günden 30. güne kadar 1,23 log kob/g azalmıştır. Hücre düzeyindeki düşüş YHB kaynaklı hasar gören hücrelerin diğer stres faktörleri ile (soğuk, oksijen) birleştiğinde başlangıçta tespit edilen hücrelerde ölüm gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır. BD- örneklerde 7. günde, BD+ örneklerinde ise 45. günde yükselme göstermiştir. Bu durum basınçla hasar gören hücrelerin kendisini onarmasıyla açıklanabilir.

**Çizelge 4.23.** İnokule edilmiş kıyma örneklerde depolama boyunca *E. coli* 25922 sayısına YHB'in (350 MPa, 10 °C, 10 dk) etkisi

Depolama süresi (Gün)

Örnek	1. Gün		3. Gün		7. Gün		15. Gün		30. Gün		45. Gün	
	G1	S1	G3	S3	G7	S7	G15	S15	G30	S30	G45	S45
KD-	9,13 ±0,30aA	9,40 ±0,11aA	8,64 ±0,04aBA	8,67 ±0,56aB	8,45 ±0,25aBA	8,14 ±0,50aC	8,91 ±0,03aAB	9,12 ±005aB	8,54 ±0,07aBA	8,57 ±0,07aB	8,54 ±0,14aBA	8,60 ±0,20aB
KD+	7,79 ±0,35bAB	7,84 ±0,40bA	7,94 ±0,50bA	7,45 ±0,85bA	7,69 ±0,14bAB	7,34 ±0,04bA	8,18 ±0,26bA	7,21 ±0,04bB	7,34 ±0,12bB	7,04 ±0,34bB	7,40 ±0,06bB	7,04 ±0,08bB
BD-	7,94 ±0,03bA	7,24 ±0,10cA	6,91 ±0,13cB	6,87 ±0,12cB	5,61 ±0,04cC	4,90 ±0,10cD	6,89 ±0,08cB	6,65 ±0,15cB	6,55 ±0,07cB	6,46 ±0,08cB	6,96 ±0,53bB	6,16 ±0,05cC
BD+	5,69 ±0,30cB	5,05 ±0,05dAB	5,70 ±0,19dB	5,26 ±0,14dA	5,62 ±0,30cB	4,90 ±0,10cAB	5,09 ±0,42dC	4,75 ±0,33dAB	7,40 ±0,10bA	3,82 ±0,11dC	7,47 ±0,04bA	4,48 ±0,38dB

N=3 Değerler ± standart sapma şeklinde verilmiştir. A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir ( $P \leq 0,05$ ) (log kob/g)

a, b, c f (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ( $P \leq 0,05$ )(log kob/g)

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç Soğutucu, BD+: Basınç Dondurucu, Genel Besiyerinde TMAB sayısı S; Seçici Besiyerinde patojen sayısı



Ancak YHB öncesinde dondurulan örneklerde hücre azalması 30 güne kadar devam etmiş olup, bu durum BD- örneklerine kıyasla BD+ örneklerinde dondurma ve YHB sinerjik etkisiyle hasar mekanizmasının düzeyinin daha yüksek olması ile ilgili olabilir. 45. günün sonunda Şekil 4.34b’de görüldüğü gibi BD+ örneklerde *E. coli* 25922 seviyesi BD- örneklere göre 1,68 log kob/g daha az bulunmuştur. Bu sonuç *E. coli* 25922 suşu üzerine dondurma ve YHB sinerjik etkisinin, BD- örneklere kıyasla hücre üzerinde verdiği hasarın büyüklüğünü göstermiştir.

Kontrol grubunda mikroorganizma seviyesinin azalması, vakum ambalajda olması nedeni ile oksijen yetersizliği, soğuk stresi kaynaklı ayrıca substrat azalması nedeniyle, basınçlanmış gruplarda mikroorganizma seviyesindeki düşüş ise, basınç kaynaklı hücresel hasar ve *E. coli* hücrelerinin seçici besiyerinde olduğu da düşünülecek olursa söz konusu günlerde bu hasarlı hücrelerin gelişmemesi ile ilgili olabilir.

Sonuç olarak depolamanın 1. gününde BD- örneklerde 0,97, BD+ örneklerde 0,69 log kob/g yaralanma gerçekleştiği görülmüştür (0. günde muhtelemen sonuçlar çok farklı değildi). Ancak depolamada genel ve seçici besiyerinde BD- örneklerinde sırasıyla (7. günde) yaklaşık 1 ve 2 log kob/g artış oluşmuştur. Halbuki kontrol örneklerinde depolamada artış belirgin oluşmamıştır. Depolamada basınçla hasar görmüş yaralı *E. coli* 25922 hücrelerinin kendini onarabildiği gözlenmiştir. Benzeri durum diğer araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Bulut ve ark. 2014c).

**Çizelge 4.24.** İnokule edilmiş taze kıymada depolama boyunca *S. typhimurium*14028 sayısına YHB'ın (350 MPa, 10 °C, 10 dk) etkisi

		Depolama süresi (Gün)											
		1. Gün		3.Gün		7. Gün		15. Gün		30. Gün		45. Gün	
Örnek		G1	S1	G3	S3	G7	S7	G15	S 15	G30	S30	G45	S45
<b>KD-</b>		9,51 ±0,13aA	9,58 ±0,40aA	8,32 ±0,14aC	8,13 ±0,12aC	8,03 ±0,15aD	7,43 ±0,13aD	8,81 ±0,2aB	9,12 ±0,54aA	9,58 ±0,20aA	9,29 ±0,14aA	8,6 ±0,16aB	8,71 ±0,25aB
<b>KD+</b>		7,71±0,31 bB	8,04 ±0,84bA	7,75 ±0,21bB	7,44 ±0,56aA	7,99 ±0,10aB	7,11 ±0,10bA	8,47 ±0,23aA	8,18 ±1,0aA	7,81 ±0,11bB	7,57 ±0,15bA	7,1 ±0,10bC	6,34 ±0,36bB
<b>BD-</b>		6,47 ±0,08cA	5,16 ±0,04cA	5,31 ±0,05cB	4,74 ±0,20bA	5,65 ±0,06bA	5,04 ±0,07cA	5,23 ±0,18bB	4,02 ±0,10cB	5,37 ±0,75cB	5,01 ±0,50cA	6,36 ±0,15cA	3,62 ±0,14cC
<b>BD+</b>		5,20 ±0,29dB	4,34 ±0,36cC	5,65±0,04 cA	5,13 ±0,14bAB	5,16 ±0,15cAB	4,75 ±0,12dBC	5,67 ±0,22bA	5,6 ±0,06bA	7,07 ±0,47bA	4,56 ±0,04cC	7,37 ±0,02bA	3,32 ±0,32cD

N=3 Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günlerarasındaki fark önemlidir (P <0,05) (log kob/g) a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)(log kob/g) KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç Soğutucu, BD+: Basınç Dondurucu, G; Genel Besiyerinde TMAB sayısı S; Seçici Besiyerinde patojen sayısı)

Depolama boyunca basınçlanmış örneklerdeki *S. typhimurium* 14028 sayısı kontrol örneklerinden düşük bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Basınçlama ile seçici besiyerinde 1. günde D- örneklerde 4,42 log kob/g, D+ örneklerde KD- mikroorganizma yükü referans alındığında, yaklaşık 5,24 log kob/g azalma olmuştur. BD- örneklerinde, *S. typhimurium*'da, 15. güne kadar yaklaşık 2,45 log kob/g azalma gözlenmişken, BD+ örneklerinde hücre sayısı 30. günde artmış ve 45. günde azalmıştır. Seçici besiyerinde 30 gün boyunca BD- örneklerinin sonuçları, BD+ örneklerinden yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.21b).

Çizelge 4.25'de belirtildiği şekilde depolamanın 1. gününde BD- örneklerde 1,38, BD+ örneklerde 1,19 log kob/g yaralanma gerçekleştiği görülmüştür (0. günde muhtelemen sonuçlar çok farklı değildi). Ancak depolamada genel ve seçici besiyerinde BD- ve BD+ örneklerinde (30. günde) yaklaşık 1 log kob/g, kontrol örneklerinde daha yüksek artış oluşmuştur. Bu durum basınçlı hücrelerdeki artışların mevcut mikroorganizma artışından kaynaklanmış olabileceğini ve hasarlı *S. typhimurium* 14028 hücrelerinde depolama süresince belirgin bir iyileşme oluşmadığını göstermiştir. Depolamanın sonunda (45. gün) BD- ve BD+ örneklerde seçici besiyerinde mikroorganizma seviyesinde oluşan düşüşün, basıncın mikrobiyal hücrelerde yarattığı hasardan kaynaklanmış olması muhtemeldir. *S. typhimurium* 14028 hücrelerinin seçici besiyerinde olduğu da göz önünde tutulursa söz konusu günlerde basınç kaynaklı hasar gören hücrelerin gelişemediği söylenilebilir.

Benzer şekilde De Alba ve ark. (2012b) YHB'ın depolama süresi boyunca *S. enteritidis* üzerinde önemli etkisini bildirmişlerdir. 450 (5, 10 ve 15 dk, 8°C) MPa YHB ile TMAB sayısı sırasıyla 2,54, 3,12 ve 3,43 log kob/g azaltılmıştır. 6,54 log kob/g *S. enteritidis* aşılansın dana carpacciada, YHB sonrası patojen kendisini onaramamıştır. 10 g örneklerde *S. enteritidis* varlığı kaydedilmiş olmasına rağmen, doğrudan sayımı ( $<1$  log kob/g) saptama sınırının altında bildirilmiştir.

Kruk ve ark. (2011), 300, 450 ve 600 MPa (5 dk, 15 °C) YHB ile tavuk göğüs etinde, 300 MPa'da, *E. coli* KCTC 1682 sayısında % 20, *S. typhimurium* KCTC 1925 sayısında % 10,4 ve *L. monocytogenes* KCTC 3569 sayısında % 43,8 oranında azalma bildirmişlerdir. 450 MPa YHB ile *E. coli* ve *Listeria* belirlenmemişken *Salmonella*' da, % 54,3'lük azalma saptanmıştır. Depolamada 14 gün boyunca 4 °C'de 300 MPa YHB sonrasında başlangıçta *Listeria* ve 7 günlük depolamadan sonra *E. coli*, depolamanın son günü ise *Salmonella* artma göstermiştir. Bu çalışmada ise, *S. Typhimurium* 14028 inhibasyonu BD- örneğinde seçici besiyerinde 350 MPa (10 °C, 10 dk YHB) üzerinde % 46 idi. Bu oranlar, Kruk ve ark. (2011) tarafından yürütülen 450 MPa YHB ile elde edilen *Salmonella*'nın inaktivasyon düzeyinden daha yüksek olup, De Alba ve ark. (2012b)'nin sonuçları ile uyumludur.

**Çizelge 4.25.** İnokule edilmiş taze kıymada depolama boyunca *L. innocua* 33090 sayısına YHB'nin (350 MPa, 10 °C, 10 dk) etkisi

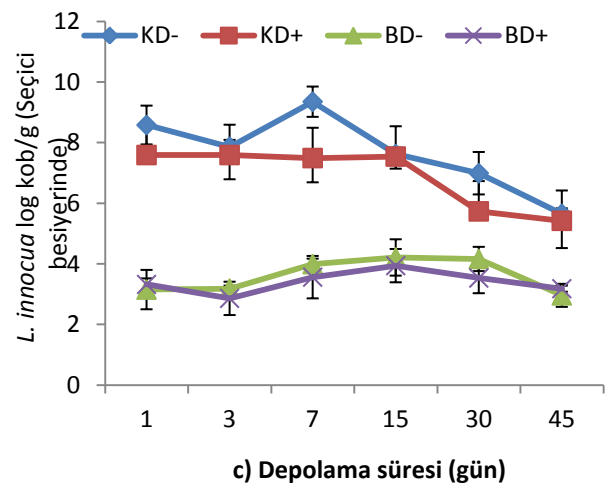
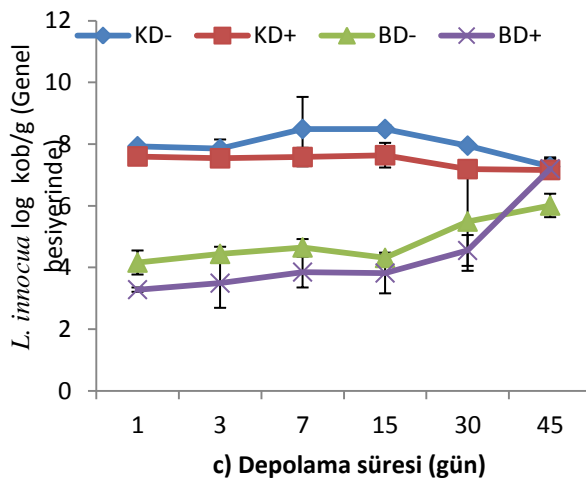
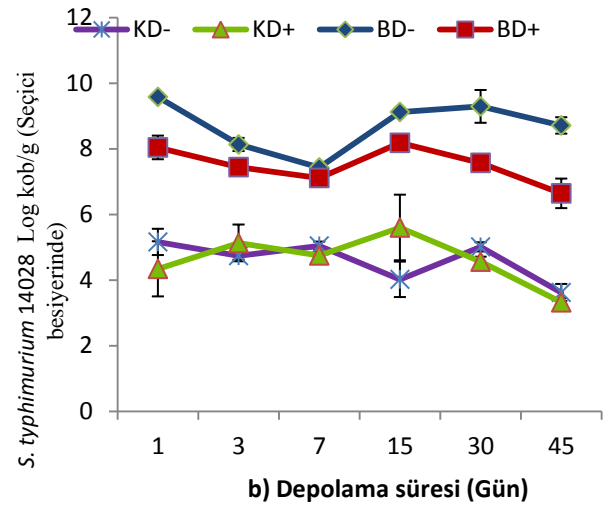
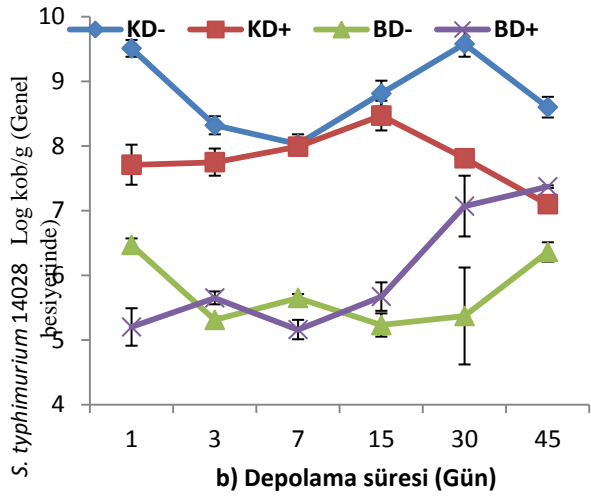
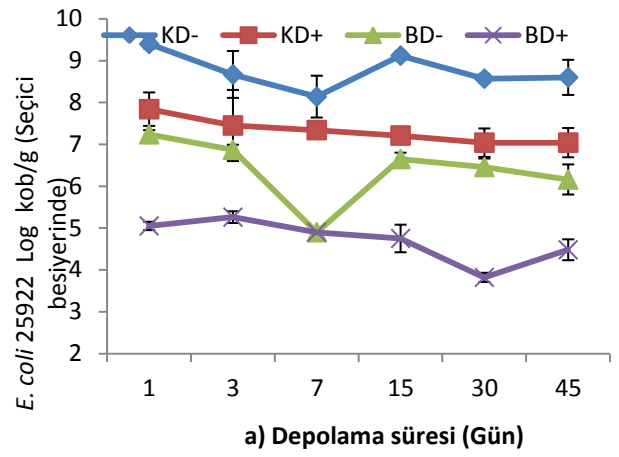
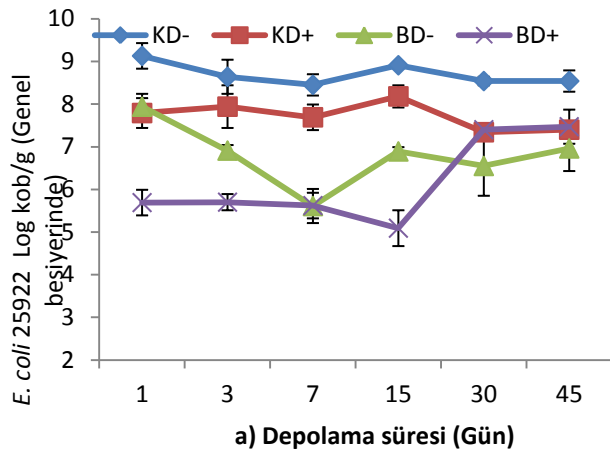
Depolama süresi (Gün)

Örnek	1. Gün		3. Gün		7. Gün		15. Gün		30. Gün		45. Gün	
	G1	S1	G3	S3	G7	S7	G15	S15	G30	S30	G45	S45
KD-	7,93 ±0,02aAB	8,58 ±0,64aB	7,85 ±0,30aAB	7,86 ±0,23aBC	8,49 ±1,04aA	9,35 ±0,50aA	8,49 ±0,13aA	7,62 ±0,21aC	7,95 ±0,12aAB	6,99 ±0,70aD	7,27 ±0,30aC	5,65 ±0,18aE
KD+	7,60 ±0,10aA	7,59 ±0,10aA	7,54 ±0,20aA	7,59 ±0,80aA	7,58 ±0,30aA	7,49 ±0,80bA	7,64 ±0,40aA	7,54 ±0,40aA	7,19 ±0,20aB	5,73 ±0,21bB	7,16 ±0,14aB	5,42 ±0,90aB
BD-	4,16 ±0,39bA	3,15 ±0,65bB	4,44 ±0,23bA	3,18 ±0,10bB	4,65 ±0,27bA	3,99 ±0,18cB	4,31 ±0,10bA	4,21 ±0,60bA	5,49 ±1,60bA	4,16 ±0,40cA	6,01 ±0,38bA	2,96 ±0,38bB
BD+	3,28 ±0,07bC	3,32 ±0,20bAB	3,49 ±0,80cC	2,86 ±0,55bB	3,85 ±0,50cAB	3,56 ±0,70dAB	3,82 ±0,66bAB	3,94 ±0,55bA	4,55 ±0,50bB	3,53 ±0,50dAB	7,20 ±0,32aA	3,18 ±0,10bAB

N=3 Değerler ortalama ±standart sapma şeklinde verilmiştir. A, B, C (→) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05) (log kob/g) a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)(log kob/g)KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç Soğutucu, BD+:Basınç Dondurucu, Genel Besiyerinde TMAB sayısı S; Seçici Besiyerinde patojen sayısı)

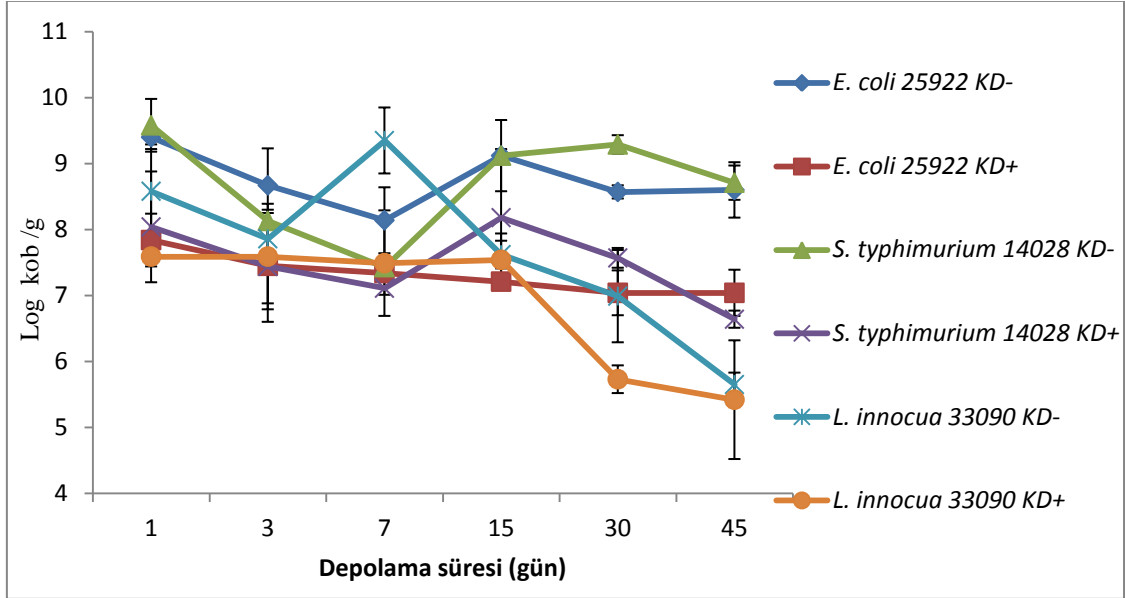
Çizelge 4.25’de gösterilmiş olduğu gibi depolama boyunca her iki besiyerinde de basınçlanmış örneklerdeki *L. innocua* 33090 sayısı kontrol örneklerinden düşük tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Seçici besiyerinde BD- örneklerde *L. innocua* 33090’da 5,43 log kob/g azalma sağlanırken, KD- başlangıç mikroorganizma yükü referans alındığında BD+ örneklerde yaklaşık 5,26 log kob/g azalma elde edilmiştir. Genel besiyerinde hücre sayısı aynı günlerde artış göstermezken seçici besiyerinde yükselmiştir ( $P<0,05$ ). 1. günde BD- örneklerinde 1,66 log kob/g yaralanma oluşmuşken, BD+ örneklerde yaralanma 1. günde tespit edilememiştir (muhtemelen 0. günde benzer yaralanma oluşmuştu). Ancak BD- örneklerinde depolamanın ileri günlerinde her iki besiyerinde de belirgin artış oluşmamışken BD+ örneklerinde 30 günden sonra genel besiyerinde 2 log kob/g’den fazla artış oluşmuştur. Bu durum seçici besiyerinin, hasar görmüş hücrelerin gelişimlerini bastırdıklarından mikrobiyal artışın oluşmamasından kaynaklanmış olabilir. Depolamanın başlangıcında tespit edilmemiş basınçla hasar görmüş hücreler depolamanın sonuna doğru gelişebilmiş ve mikrobiyal seviye başlangıç kontrol örneklerinin mikrobiyal seviyesine yaklaşmıştır (yaklaşık 7 log kob/g). Depolamanın 30. gününden itibaren genel besiyerinde BD+ örneklerde yaklaşık 2,5-3 log kob/g oluşan mikrobiyal artış ette başlangıçta mevcut olan fakat basınçla hasar gören diğer mikroorganizmaların gelişim göstermesi ile ilgili olabilir. Çünkü seçici besiyerinde benzer bir mikroorganizma gelişimi görülmemiş olup üç patojen içinde depolamanın sonlarına doğru genel besiyerinde mikrobiyal artış söz konusu iken, aynı günlerde seçici besiyerinde düşüş olduğu saptanmıştır (Şekil 4.21c).

Sığır etinde *L. innocua* ile ilgili olarak Carlez ve ark. (1993), dilimlenmiş pişmiş jambonda *L. monoctogenes* ve *Salmonella* ile ilgili olarak Aymerich ve ark. (2005) ve kanatlı etinde *L. innocua* ile ilgili olarak Yuste ve ark. (1999) tarafından, basınçlı gıdaların soğuk depolanmasında mikrobiyal hasarın önemi ve basınçtan sonra depolanma sırasında subletal yaralı hücrelerde iyileşme olabildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde Bulut ve ark. (2014c) *L. innocua* aşıladıkları kıyılmış tavuk etinde 400 MPa (0 °C, 10 dk) uygulamadan sonra, en az 5,8 log kob/g bir inaktivasyon tespit edilmiştir ( $1,7 \times 10^2$  kob/g minimum tespit seviyesi). Bununla birlikte, hayatta kalan *L. innocua* sayısı 21. günde ve 35. günde (3 °C’de) anlamlı olarak artmıştır. Depolamadan 21 gün sonra, TMAB sayımları 200, 300 ve 400 MPa ile başlangıç sayılarının üzerinde olmuştur. Bir basınç uygulamasından hemen sonra mikrobiyal gelişimin gözlenememesine rağmen, depolama esnasında mikroorganizmaların toparlanarak gelişmesinin YHB uygulanmış ürünlerde gıda güvenliği açısından önem taşıdığı vurgulanmıştır.



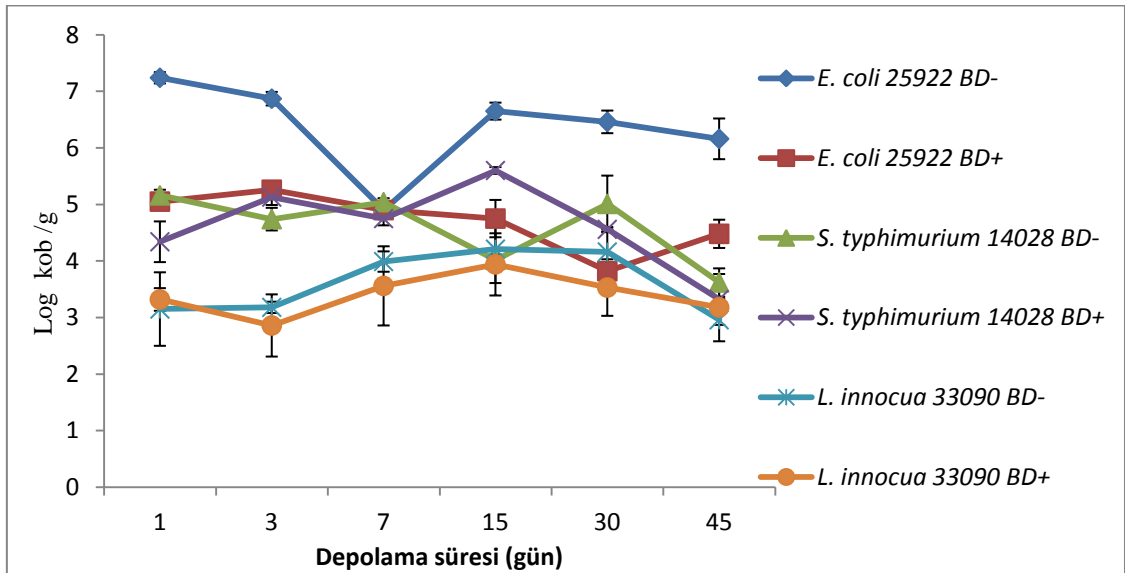
**Şekil 4.21.** İnokule edilmiş taze kıymadepolamada a) *E. coli* 25922 b) *S. typhimurium*14028 c) *L. innocua* 33090'na YHB'in etkisi KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç Soğutucu BD+:Basınç Dondurucu

Literatürde, basınçlı işlem görmüş gıda ürünlerinde mikroorganizmaların depolanma sırasındaki iyileşme düzeyi ve model gıda sistemlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Bununla birlikte, basınçlama parametrelerine, yiyecek tipine ve saklama sıcaklığına bağlı olarak iyileşme düzeyi değişmektedir.



**Şekil 4.22.**İnoküle edilmiş taze kıymada depolamada *E. coli* 25922/*S. typhimurium* 14028/*L. innocua* 33090 seviyesi

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu



**Şekil 4. 23.**İnoküle edilmiş basınçlı kıymada depolamada *E. coli*25922/*S. typhimurium* 14028/*L. innocua* 33090 seviyesi

BD-: Basınç Soğutucu BD+:Basınç Dondurucu

KD+ grubunda neredeyse üç patojenin sayısında da 15. gün sonra düşüş görülmüştür (Şekil 4.22). Kontrol test mikroorganizmalarının soğutucu ve dondurucuda gelişim eğrileri ile basınçlandıktan sonra depolamadaki gelişim eğrileri yukarıda görüldüğü gibi farklıdır. Bu durum mikroorganizmaların hücre yapılarındaki farklılıklar (hücre zarı yapısı, hücre zarı bileşimi vs) ile ilgili olarak hücresel yapıların basınçlama öncesi dondurma ve basıncın hücresel yapılar üzerinde farklı etkileri olabildiği düşünülmüştür. Şekil 4.23’de görüldüğü gibi basınçlanmış örneklerde durum faktörünün en fazla etkisi *E. coli* 25922’de gözlenmiştir. *E. coli* 25922 hücreleri BD+ örneklerinde BD- örneklerine kıyasla çok daha stabil durumda olduğu saptanmıştır. Muhtemelen basınçla oluşan hasarlı hücre oluşumu dondurulmuş örneklerde kendisini onaramamış ve ölüm düzeyinde hasar almıştır. *S. typhimurium* 14028 için YHB ile 1. günde dondurulmuş örneklerde daha fazla inaktivasyon olmuşsa da, depolamada her iki örnekte benzer seyir izlemiştir. *L. innocua* içinde benzer durum oluşmuştur. Her iki besiyerinde üç patojende depolama boyunca kontrol örneklerinden farklıdır. Elde edilen sonuçlar 350 MPa (10 °C, 10 dk) YHB’tan hemen sonra *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090’ da kayda değer inaktivasyon oranları elde edildiğini göstermiştir. YHB’a en dirençli bakteri *E. coli* 25922 olmuştur.

#### 4.10. Pişirilmiş Köfte Örneklerinin Duyusal Analizi

Bu çalışma YHB uygulaması sonucunda pişirilmiş köftenin tüketilebilirlik düzeyini tespit etmek üzere 10 panelist ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla düşük sıcaklıkta (10 °C) renk ve tekstür özelliklerinin optimum düzeyde korunabildiği basınç değeri olan 350 MPa 10 dk, 10 °C parametresi tercih edilmiştir. Duyusal analiz dondurulmuş ve dondurulmamış gruplarda kontrol ve basınçlı kıymadan elde edilmiş olup panelistlere sunulan pişirilmiş köfte örneklerin beğeni dereceleri ölçüt olarak alınmış, sonuçlar dokuz beğeni derecesi üzerinden iki skala ile değerlendirilmiştir. 1. Skala: Puanlama 0 ve 9 arasında yapılmıştır. Duyusal analizlerde sertlik, acılık, koku, ekşilik ve genel kanı olarak puanlama yapılmıştır. Sertlik açısından 0 elastik değil, 9 elastik; acılık, koku ve ekşilik açısından 0 hissedilmez 1-5 hissedilir, 5-9 fazla hissedilir, genel kanı olarak 0 beğenmedim, 9 beğendim, olarak dikkate alınmıştır (Amsa, 1978, IFT, 1985). 2. Skala: Puanlama 0 ve 9 arasında yapılmıştır. Duyusal analizlerde sıklık (9 oldukça sıkı, 1 oldukça sıkı değil), aroma yoğunluğu (9 oldukça güçlü, 1 oldukça zayıf (hoş değil), sululuk (9 oldukça sulu, 1 oldukça kuru) ve genel lezzet olarak (9 oldukça lezzetli, 1



oldukça lezzetsiz) puanlama yoluna gidilmiştir (Amsa,1978, IFT, 1985). Sonuçlar Çizelge 4.26’da verilmiştir.

**Çizelge 4.26.**Panelist değerlendirme sonuçları

Örnek	Sertlik	Acılık	Koku	Ekşilik	Genel Kanı	Sıklık	Aroma Yoğunluğu	Sululuk	Genel Lezzet
KD-	6,20 ±2,12a	1,10 ±1,4a	6,60 ±1,20a	1,50 ±1,20a	6,00 ±1,50a	7,30 ±0,90a	5,2 ±1,60a	4,1 ±2,5a	6,4 ±1,50a
KD+	6,40 ±2,16a	1,20 ±1,6a	6,10 ±1,40a	1,80 ±1,40a	5,9 ±1,50a	7,1 ±0,90a	5,7 ±1,40a	4,1 ±2,20a	6,5 ±1,30a
BD-	5,00 ±1,50a	1,60 ±2,0a	5,70 ±1,60a	1,7 ±1,60a	5,7 ±1,40a	5,2 ±1,80b	5,3 ±1,90a	5,3 ±1,40a	6,0± 1,10a
BD+	4,50 ±2,20a	1,70 ±1,8a	5,60 ±1,40a	1,8 ±1,10a	5,6 ±1,60a	6,1 ±1,80ab	5,7 ±1,80a	4,6 ±1,80a	6,3 ±1,10a

N=3 a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P < 0,05)

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç Soğutucu, BD+:Basınç Dondurucu

#### Aroma yoğunluğu

Çalışmada, YHB ile işlenmiş ve kontrol köfte örneklerinin aroma yoğunlukları arasında panelist puan ortalamalarına göre fark bulunmamıştır (P>0,05). Önemli olmasa da KD+ ve BD+ köfte örneklerinde aroma yoğunluğu, kısmen daha yüksek tespit edilmiştir.

Tananuwong ve ark. (2012), tavuk etinde 300-600 MPa aralığında panelist ile değerlendirmede taze et ile YHB uygulanmış örneklerinin aroma yoğunluğunu benzer bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, aroma ve hoşluk kriterlerinin basınçtan etkilenmediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Serra ve ark. (2007), kuru kür edilerek işlenmiş ve dondurulmuş jambonlara 400-600 MPa aralığında YHB uygulamasının son ürünün aromasına önemli bir etkisinin olmadığı bildirmişlerdir. Ayrıca Suzuki ve ark. (1992), YHB’in etin tat bileşenlerinin (aminoasit ve peptitler) miktarını arttırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca serin, glutamikasit, glutamin, glisin ve alanin içeriği 200 MPa basınca kadar artarken, 300 MPa’da glutaminve alaninin azalma eğilimde olduğunu bildirmişlerdir.

#### Lezzet

Çalışmada, panelist puan ortalamalarına göre kontrol ve basınçlanmış köftelerin lezzet değerleri kontrol örnekleri ile benzer bulunmuştur (P>0,05). Kontrol örneklerinde ve basınçlanmış örneklerde dondurmadan kaynaklı farklılık tespit edilememiştir (P>0,05). Benzer şekilde Tananuwong ve ark. (2012). Tavuk etinde 300 ve 400 MPa (30-35 °C, 1 dk) YHB ve kontrol örnekleri arasında yapılan karşılaştırmada kontrol ile YHB görmüş örneklerin lezzetlerini benzer tespit etmişlerdir. Konu ile ilgili literatür verileri dikkate

alındığında, YHB uygulamasının etintattansorumlu bileşenleri üzerinde yaptığı değişikliklerin normal şartlarda ette oluşan değişikliklere benzer olduğu için etin tadı üzerine YHB'ın önemli bir etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Etin tadını etkileyen önemli bileşiklerden olan innosinik asit miktarının, basınçla değişmediği belirtilmektedir. Ancak, basınç etkisiyle lizozomlardan salınan proteolitik enzimlerin, olgunlaşma sırasında ette tat ve aroma gelişimini hızlandırdığı ileri sürülmektedir (Karakaya ve ark. 2004). Bunun aksine bazı yazarlar basınç ve sadece ısı işlem uygulanmış örneklerin, lezzetinde minimum azalma gözlemlemişlerdir (Ammar ve ark. 2014, Kruk ve ark. 2011).

### Sululuk

Çalışmada basınçlanmış etten elde edilen köftelerde sululuk puanları ile kontrol grubunda elde edilen puanlar arasında farklılık tespit edilememiştir ( $P>0,05$ ) (Şekil 4,24h). Basınçlanmış etlerden elde edilen köfte örneklerinin sululuk puan ortalamaları daha yüksek olmakla birlikte en yüksek sululuk ortalaması BD- köfte örneklerinde gözlenmiştir. Cheftel ve Culioli (1997), Torres ve Velazquez (2005), ette farklı basınçlarda sululuğun önemli oranda arttığı bildirilmiştir. Sululuğun su tutma kapasitesinin artması nedeni ile yüksek tespit edilmiş olabileceği düşünülmüştür. Benzer şekilde Fernandez ve ark (2007), Marcos ve ark. (2010), basınçlanmış ette su tutma kapasitesinde artış bildirmişlerdir.

### Sertlik

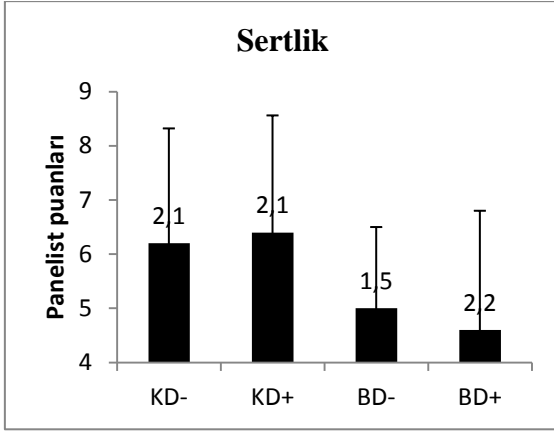
Çalışmada basınçlanmış ve kontrol köfte örneklerde, sertlik üzerine elde edilen panelist puanları benzer tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Basınçlanmış grupta panelistler tarafından değerlendirilen sertlik puan ortalamaları daha düşüktür (Şekil 4.24a). Fakat önemli tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ). Minimum fark olsada en düşük sertlik puanı BD+ örneklerde gözlenmiştir. Dondurucuda depolama sırasında etin vakum pakette olması dolayısıyla su kaybı yaşanmaması, kısa donma süresi nedeni ile su oranı minimum değişim göstermiş ve dondurulmuş ette kastaki yapısal özelliklerinden dolayı sertlikte artış kaydedilmiş olabilir. Ammar ve ark. (2014), ördek etinde 200MPa (20-25°C, 15 dk) YHB ile basınçlama ve minimum ısı işlem ile elde edilen düşük kesme kuvveti sadece pişirilmiş olan örneklerle karşılaştırıldığında ürünün dokusunu geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bertram ve ark. (2004), sığır ve domuz etinde basınç (150 MPa, 30 dk) ve ısı işlem görmüş sığır etlerinde ve kontrol örneklerine kıyasla, daha az sertlik belirtmişlerdir. Bu durum araştırmacılar tarafından YHB'ın kas proteinleri üzerinde değişikliklere (denaturasyon, jelleşme, agregasyon) neden olmasıyla bağ dokusu üzerinde bir etkiye sahip olmaktan ziyade miyofibriller yapılarındaki

etkisi ile açıklanmıştır. Ayrıca Sun ve Holley (2010), ısıtma işlemiyle oluşan kas dokusu değişiminin hidrojen bağlarının kırılmasından kaynaklanırken, yüksek basınçlı işlemde kaynaklanan değişikliklerin hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin kopmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Kruk ve ark. (2011), tavuk etinde, doku hassasiyetliğinde, 300-600 MPa YHB ile kontrol örneklerinden farklılık tespit etmemişlerdir. Benzer şekilde Malinowska ve ark. (2013), sıfırın altında sıcaklıkta 193 MPa YHB ile (donma olmadan) pişirmeden sonra her türlü basınçlı etin sertliğinin, basınçsız pişmiş örneklerle aynı seviyede olduğunu bildirmişlerdir.

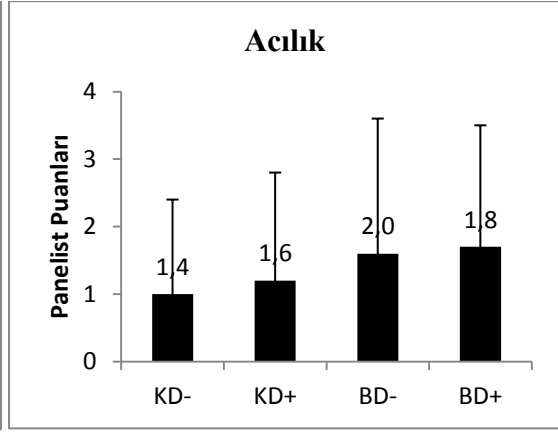
### Sıkılık

Bu çalışmada, Şekil 4.24'te görüldüğü gibi sıkılıkla ilgili olarak basınçlanmış etten yapılan köfte örneklerinin panelist puan ortalamaları, kontrol örneklerinin sonuçlarına kıyasla önemli şekilde daha düşük bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Basınçlanmış etten yapılan köfte örnekleri, sadece pişirilmiş köfte örneklerine göre daha düzensiz yapıda ve kümeleşmiş, topaklanmış görüntülü ve daha kırıntılı (dağılabilir) doku yapısında tespit edilmiştir.

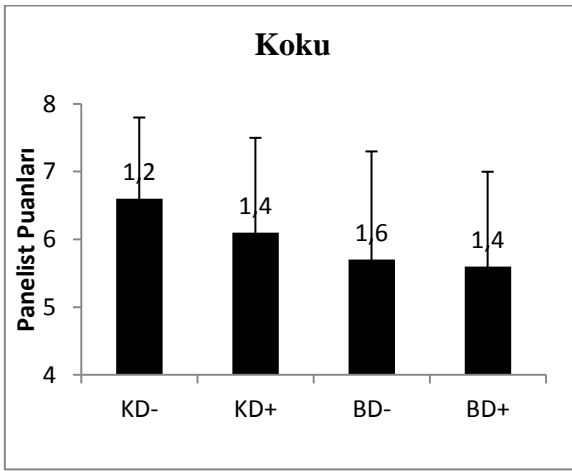
Bu çalışma sonuçlarında basınçlanmış etten ve taze etten yapılan köfte örnekleri panelist puan ortalamaları ile karşılaştırılmış ve acılık, ekşilik, koku ve genel kanı açısından benzer tespit edilmiştir ( $P > 0,05$ ). Benzer şekilde Hayman ve ark. (2004), et ürünlerinde 600 MPa YHB uygulamasının duyu kalitesini ve Crehana ve ark. (2000), 150-300 (20°C) MPa YHB'nin tat, lezzet veya besin içeriğini belirgin bir şekilde değiştirmediği sonucuna varmışlardır. Ayrıca Mor-Mur ve Yuste (2003), 500 MPa, 5 veya 15 dk 65 °C'de YHB'nin sosiste daha yüksek duyu özelliklerini ve yüksek sıcaklıklarda işlemlere kıyasla, panelistlerin tercih puanlarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte Kruk ve ark. (2011), artan basıncın lezzet, aroma gücü ve sululuk üzerine etkili olduğunu 300 MPa YHB'nin aroma kuvvetini düşürdüğünü, 450 MPa YHB ile en zayıf aromalı göğüs filetosu elde edildiğini bildirmişlerdir.



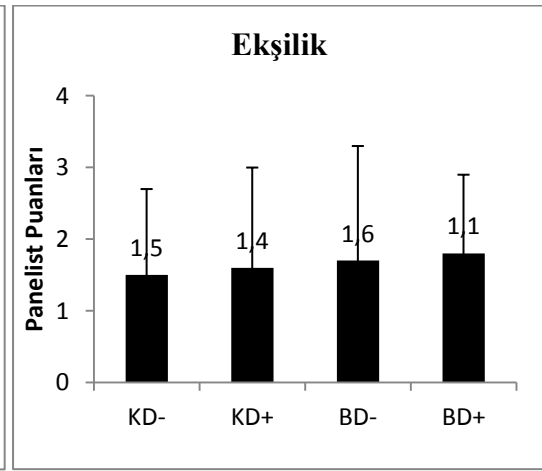
a)



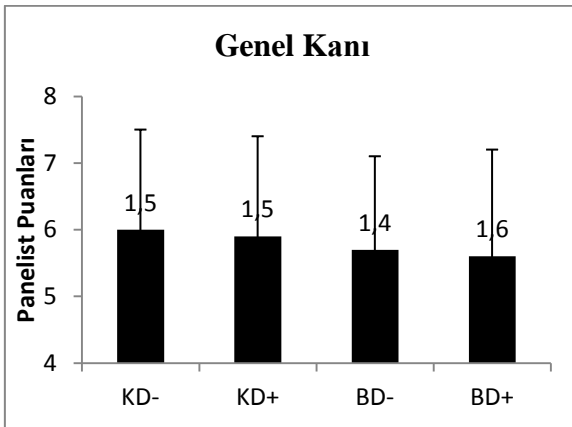
b)



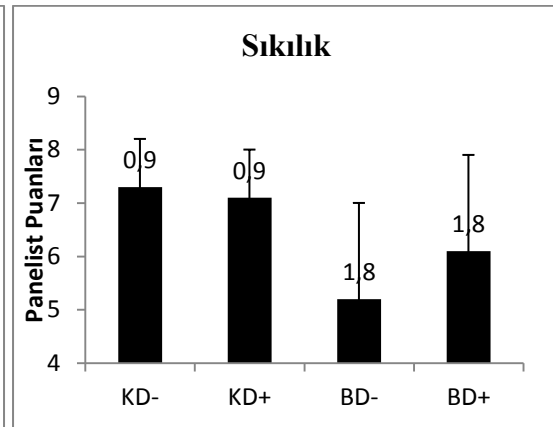
c)



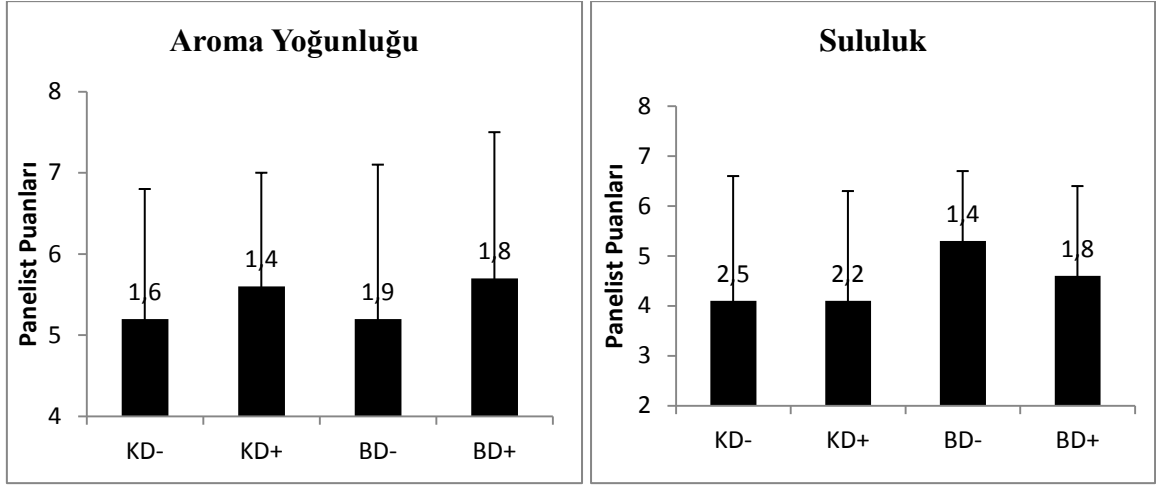
d)



e)

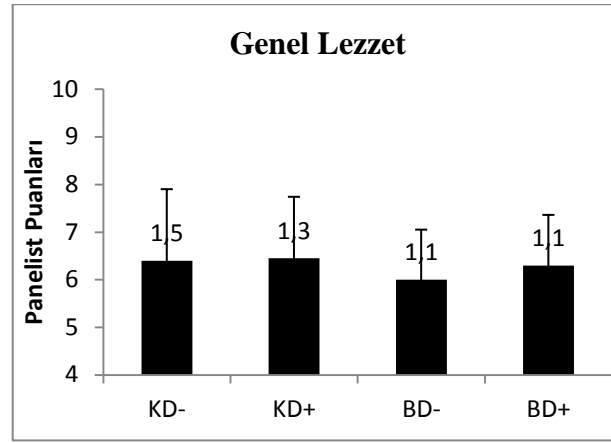


f)



g)

h)



i)

**Şekil 4.24.** Pişmiş köfte örneklerinde duyu skorları **a)** Sertlik **b)** Acılık **c)** Koku **d)** Ekşilik **e)** Genel koku **f)** Sıkılık **g)** Aroma yoğunluğu **h)** Sululuk **i)** Genel lezzet

KD-: Kontrol Soğutucu, KD+: Kontrol Dondurucu, BD-: Basınç Soğutucu, BD+: Basınç Dondurucu

#### 4.11. YHB' in Pişirilmiş Köfte Örneklerinin Renk Parametrelerine Etkisi

Taze ve dondurulmuş çözünmüş kıyma örnekleri ile basınçlanmış kıyma örnekleri (D-, D+) % 1 tuz ve % 0,5 karabiber eklenerek köfte haline getirilmiştir. Deneysel çalışmada çiğ ve pişirilmiş köfte örneklerinde sadece durum ve basıncın, pişirme ile değişiminde YHB' in renk üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.27' de verilmiştir.

Çizelge 4.27' de görüldüğü gibi çiğ kıyma örneklerinde L\* değişkeni için fark tespit edilmemişken ( $P > 0,05$ ), a\*, b\* ve  $\Delta E$ ' de her bir değişken için farklılık tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). a\* değerleri dondurmanın etkisiyle hem kontrol hem de basınçlı örneklerde D+

grupta düşük değerler almıştır. Ette dondurma ile a\* değerlerinin düşmesi (-7 birim) bilinen bir gerçek olup, YHB kaynaklı azalma (-2 birim) ile birlikte a\* değerlerindeki azalma önemli tespit edilmiştir. a\* değerleri en fazla BD+ örneklerde düşme göstermiştir (P<0,05). b\* değeri KD- ve BD- örneklerinde benzer (P>0,05) olup, en düşük KD+ grubunda görülmüştür (P<0,05). b\* değerleri D+ gruplarda daha düşük tespit edildiğinden dondurma faktörünün kontrol ve basınçlı örneklerde ette sarılık üzerine olumlu etkisi olduğu görülmüştür. ΔE, BD+ örneklerinde 10,5 birim tespit edilmiş olup diğer gruplardan yüksek bulunmuştur (P<0,05).

**Çizelge 4.27.** Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinin renk parametrelerinin sonuçları

Örnekler	L*	a*	b*	ΔE	
Çiğ	KD-	35,44±0,14b	16,86±0,08a	9,64±0,01a	0,00
	KD+	35,55±0,09b	9,54 ±0,04c	8,61±0,02c	7,39c
	BD-	43,41±0,17a	11,84±0,09b	9,56±0,10a	9,41b
	BD+	40,18±0,03ab	7,47±0,05d	8,94±0,06b	10,54a
Pişmiş	KD-	36,03±0,02d	4,17±0,10b	9,59 ±0,01c	0,00
	KD+	38,91±0,04b	3,95±0,12c	9,63 ±0,03c	2,88b
	BD-	37,90±0,01c	4,10±0,04b	9,78±0,02b	1,88c
	BD+	40,89±0,10a	4,61±0,07a	10,17±0,06a	4,91a

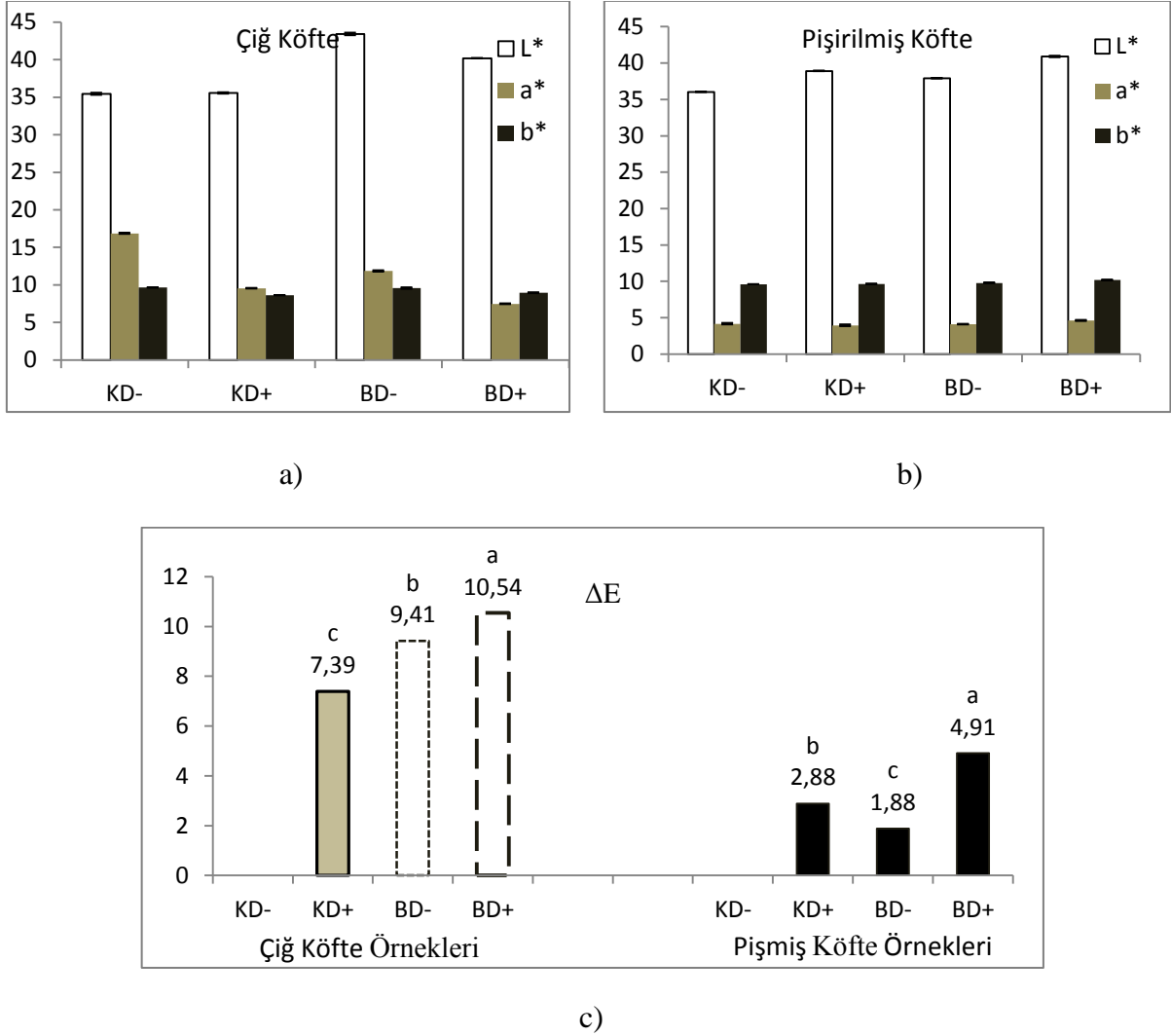
N=3 a, b, c (↓) : Farklı harf taşıyan günler arasındaki fark önemlidir (P <0,05) Sonuçlar ±standart sapma şeklinde verilmiştir. KD-:Kontrol Soğutucu KD+:Kontrol Dondurucu BD-:Basınç Soğutucu BD+:Basınç Dondurucu

Yukarıdaki çizelgede görüldüğü gibi YHB ile çiğ ette L\* değerinde artma ve a\* değerinde düşme ile ilgili sonuçlar çalışmanın basınçla renk değişimi bölümünde açıklanmıştır. Ancak daha önce belirtildiği gibi çiğ kıyma örneklerinde yapılan çalışmalarda BD+ örneklerinde ΔE BD- örneklerinden daha düşük tespit edilmişken, çiğ ve basınçlanmış kıymadan yapılan köfte örneklerinin incelemesinde ΔE BD+ örneklerinde daha yüksek tespit edilmiştir (yaklaşık 1 birim) (P<0,05). Bu minimum farkın köfte harcındaki kullanılan tuz ve baharattan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Pişirilmiş köfte örneklerinde L\*, a\*, b\* ve ΔE ortalamaları her bir grup için farklı bulunmuştur (P<0,05). Isıl işlem sonrası en yüksek L\* ve a\* değeri BD+ köfte gruplarında gözlenmiş (P<0,05), kırmızılık (a\*) KD- ve BD- örneklerinde benzer elde edilmiştir. (P>0,05). Pişirilmiş BD+ grubunun a\* değerleri kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiştir. b\* değerleri ise KD- ve KD+ örneklerinde benzer (P>0,05) olup, BD+ grupta en yüksek

sarılık oluşmuştur ( $P<0,05$ ). Kontrol grubunda pişirme ile D+ örneklerde D- örneklere göre a\* değerlerinde azalma tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

Şekil 4.25c’de görüldüğü gibi pişirilmiş KD+ örneklerinde  $\Delta E$ , BD- örneklere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.25.a)** Çiğ köfte örneklerinde L\*, a\*, b\* **b)** Pişmiş köfte örneklerinde L\*, a\*, b\* **c)** Çiğ ve pişmiş köfte örneklerinde renk parametrelerine YHB’ın etkisi  
 KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç Soğutucu BD+: Basınç Dondurucu

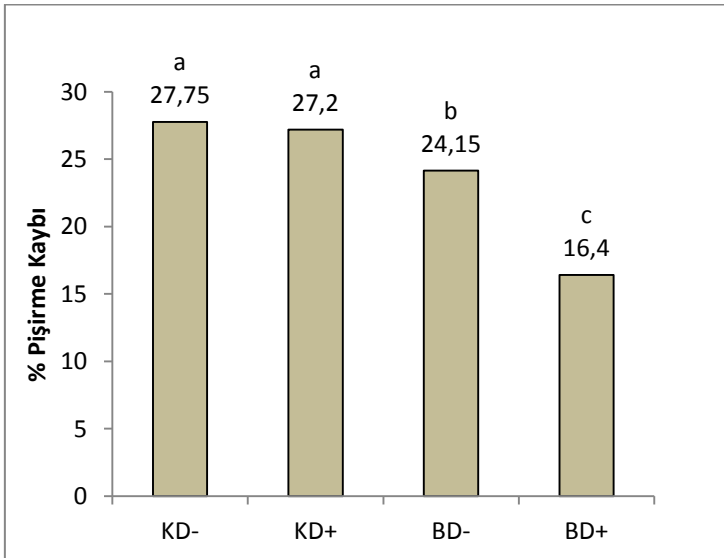
Şekil 4.25c)’de görüldüğü gibi pişmiş köfte örneklerinde basınçlanmış (D+) grup en yüksek  $\Delta E$  değeri alırken basınçlanmış (D-) grup en düşük  $\Delta E$  değerini almıştır. Bunun yanında BD- örneklerinde KD+ örneklerinden daha düşük renk farklılığı oluşmuştur. Sonuç olarak basınçlama öncesi dondurma 350 MPa basınç (10 °C, 10 dk) parametresinde pişirilmiş köfte örneklerinin renk değerlerini olumsuz etkilemiştir. Halbuki basınçlama öncesinde

dondurulmayan örnekler çiğ ve pişirilmiş örneklerde istatistiksel olarak farklı olsada minimum değişimler oluşmuştur.

Sikes ve ark. (2009), 400 MPa (10 °C) YHB ile pişirilmiş köftelerde L\* değerinde kontrol grubuna göre azda olsa bir miktar artma tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bu çalışmanın sonuçları ile uyum göstermektedir. Buna ek olarak, ısıl işlem ile birlikte kullanılan YHB'ın istenmeyen renk değişikliklerinde (kahverengileşme) bir sınırlama getirdiği anlaşılmıştır. Bazı yazarlar basınç ve ısıl işlem görmüş örneklerin renginin değişmediğini tespit etmiştir (Ammar ve ark. 2014). Ayrıca Jung ve ark. (2003) yüksek basınçlı işleme tabi tutulmuş et pişirildiğinde, renk değişikliğinin saptanamaz olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum etin pişirilmesi esnasında hem globulin hemde sarkoplazmik ve miyofibriler proteinlerde proteinin yoğun denetürasyonunu indükleyerek renk farklılıklarını bertaraf etmiş olması nedeniyle olabilir.

#### 4.12. Pişirme Kayıpları

Bu çalışmada dondurulmuş ve dondurulmamış taze ve basınçlanmış kıymadan elde edilen köfte örneklerinde ısıl işlem ile pişirme kayıplarında değişim incelenmiş sonuçlar Şekil 4.26'da verilmiştir.



Şekil 4.26. Pişirme kayıplarına YHB'ın etkisi

KD-: Kontrol Soğutucu KD+: Kontrol Dondurucu BD-: Basınç Soğutucu BD+: Basınç Dondurucu



Şekil 4.26'da görüldüğü gibi D- ve D+ kontrol örneklerinde benzer pişirme kaybı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Bu çalışmada et örneklerinin küçük gramajda olması (20 g) nedeniyle etin  $-21^{\circ}\text{C}$ 'de donması 1 saatten daha kısa sürede gerçekleşmiştir. Daha hızlı ve düşük ısıda donmanın daha az sızıntı kaybına neden olduğu aşağıdaki araştırma sonuçlarında da gösterilmiştir. Bu durum hücrelerin fazla hasar görmemesi ve hala suyu koruyabilir durumda olması ile açıklanmıştır. KD- örneklerde elde edilen % 27,75'lik pişirme kaybı oranı literatürle uyum içinde tespit edilmiştir. Çiçek ve ark. (2014), vakum uygulanmış dana etinde % 25'lik pişirme kaybı tespit etmişlerdir. Farklı pişirme kayıp oranlarının et türü, kas tipi, pH değeri ve etin genel bileşiminin (yağ, protein, nem), farklılığından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Kontrol örneklerinde pişirme sırasında salınan suyun genellikle bağıl sudan ve yağdan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu çalışmada, kontrol örneklerde ve basınçlanmış etten yapılan köftelerde elde edilen pişirme kayıp oranları farklı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Ayrıca basınçlanmış köftelerin pişirme kayıplarında D+ ve D- gruplar arasında da farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Miyofibriller proteinler, özellikle miyozinin ve aktinin, kas dokusunda önemli su-bağlayıcı bileşenler olduğu bildirilmiştir (Offer&Knight, 1988). Benzer şekilde YHB işlemi ile proteinlerin kısmi protein yoluyla protein çözünürlüğü ve jelleştirme yoluyla arttırılmış bağlanmaya katkıda bulunmuş olabilir. Taze et kasında su bağlama özelliklerinde önemli bir rol oynayan sarkoplazmik proteinler, YHB'a bağlı pişme kaybının azalmasıyla da ilgili olabilir denilmiştir (Joo ve ark.1999).

Bu çalışmada, YHB sonrası pişirilen örneklerde D+ gruplarda D- gruba kıyasla pişirme kayıpları daha düşük tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Bu sonuç, donmuş suyun engellenmiş hareketliliği yüzünden, büyük olasılıkla basınçlama sırasında su kaybını azalttığı yönünde yorumlanmıştır.

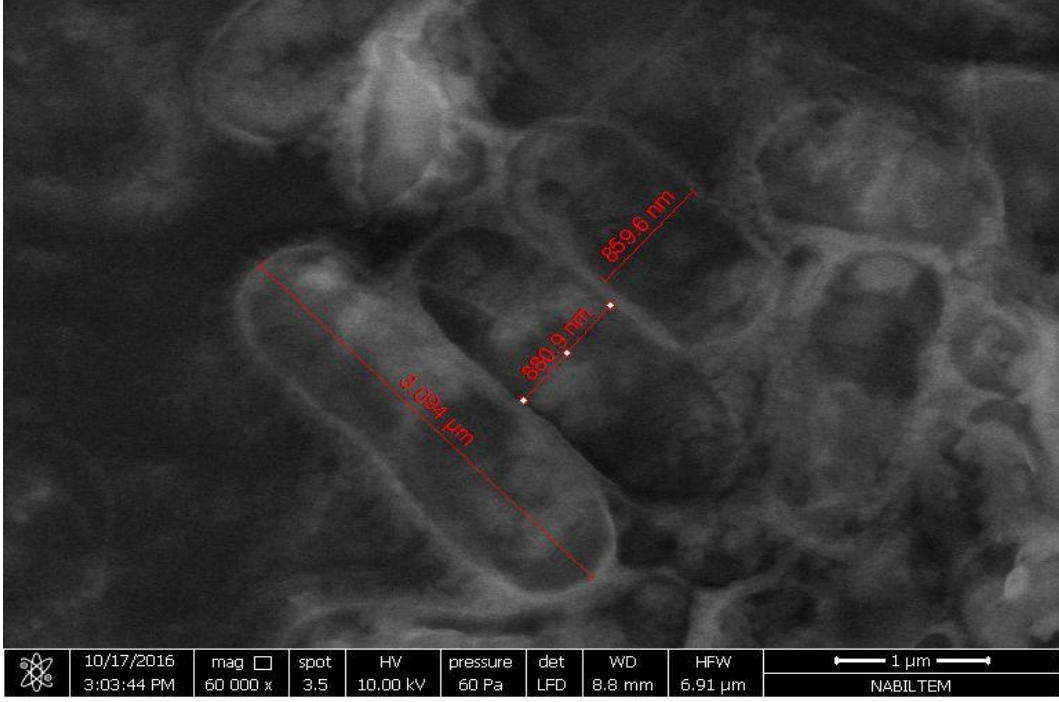
Literatürde YHB'ın pişirme kayıpları üzerine etkisi ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Kruk ve ark. (2011), göğüs fletoda 450-600 MPa aralığında artan basınçla pişirme kayıplarının arttığını, ancak 300 MPa'da düştüğünü tespit etmişlerdir. Bunun aksine Sikes ve ark. (2009), sığır kıymasında 400 MPa ( $10^{\circ}\text{C}$ , 2 dk) YHB'ın pişirme kayıplarını azalttığı yönünde görüş bildirmişlerdir. Jung ve ark. (2000) tarafından su bağlama kapasitesindeki kayıp, YHB sonucunda miyofibrillerde yapının değişmesi ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte Souza (2010) tarafından yapılan çalışmada düşük ve orta derece sıcaklıkta yapılan YHB işleminin, domuz etinde pişirme kaybı üzerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Bunun yanında araştırmacılarınsıfırın altında sıcaklıktaki (suyun dondurulması olmadan) basıncın proteinler üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada memelinin etinde

YHB kaynaklı pişirme kayıplarını arttırmadığı yönünde de görüş bildirmişlerdir (Malinowska ve ark. 2013).

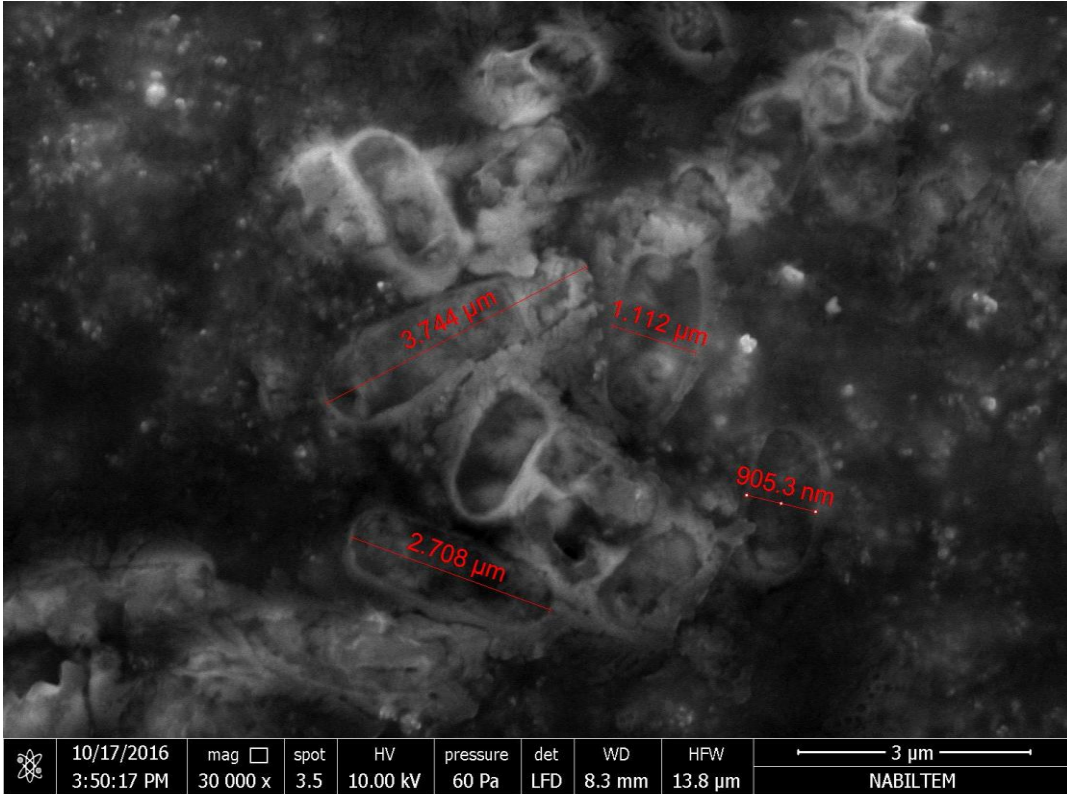
Pişirme kayıplarının YHB ile azalması basınçlanmış etlerde yukarıda araştırmacılar tarafından açıklanmıştır. Şekil 4.26 sonuçlarına göre pişirme kayıplarındaki azalma ile ilgili olarak çalışma sıcaklığı (10 °C) ve çalışma basıncında (350 MPa) etin protein yapısında büyük olumsuz değişimlerin oluşmadığı söylenilebilir. Çalışma sonuçlarında görülen dondurulmuş ve YHB uygulanmış örneklerde elde edilen daha düşük pişirme kaybı, Bulut (2014b) tarafından yapılan basınçlanmış ette su kapasitesi ile ilgili çalışmada tespit edilmiştir. Araştırmacı dondurulup basınçlanmış etteki su kapasitesini, dondurulmadan basınçlanan et örneklerine kıyasla daha yüksek tespit ettiğini bildirmiştir.

#### **4.13. *E. coli* 25922 ‘de YHB Sonucu Oluşan Yapısal Değişimlerin SEM İle İncelemesi**

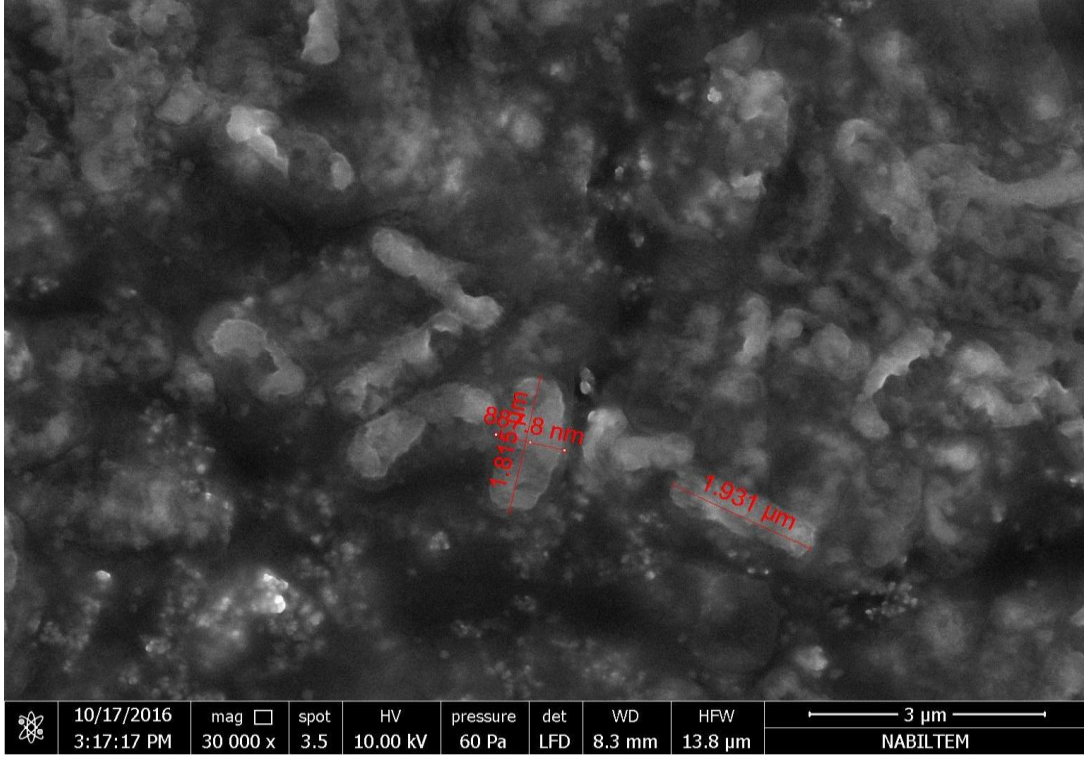
Bu çalışmada, 350 MPa ve 450 MPa YHB sonrasında *E. coli* 25922 hücrelerinde oluşan morfolojik değişimler, kontrol ve basınçlanmış örneklerde taramalı elektron mikroskobu ile değerlendirilmeye çalışılmıştır. Basınç işleminin ve basınçlama öncesi dondurma faktörünün *E. coli* 25922 hücresinde yarattığı değişimleri incelemek amaçlanmıştır. Bu çalışmada elde edilen inaktivasyon sonuçlarına göre *E. coli* 25922 basınca en dirençli bakteri olması ve durum faktörünün etkisinin yüksek saptanmış olması nedeniyle elde edilen hasarın görüntü incelemelerinin *E. coli* hücresi ile yapılması tercih edilmiştir. Elektron mikroskobu, hücrenin inaktivasyonuna yol açan olayları anlamak için, mikroorganizmalardaki yüzey morfolojisinde basınca bağlı değişiklikleri karakterize etmek için kullanılmıştır.



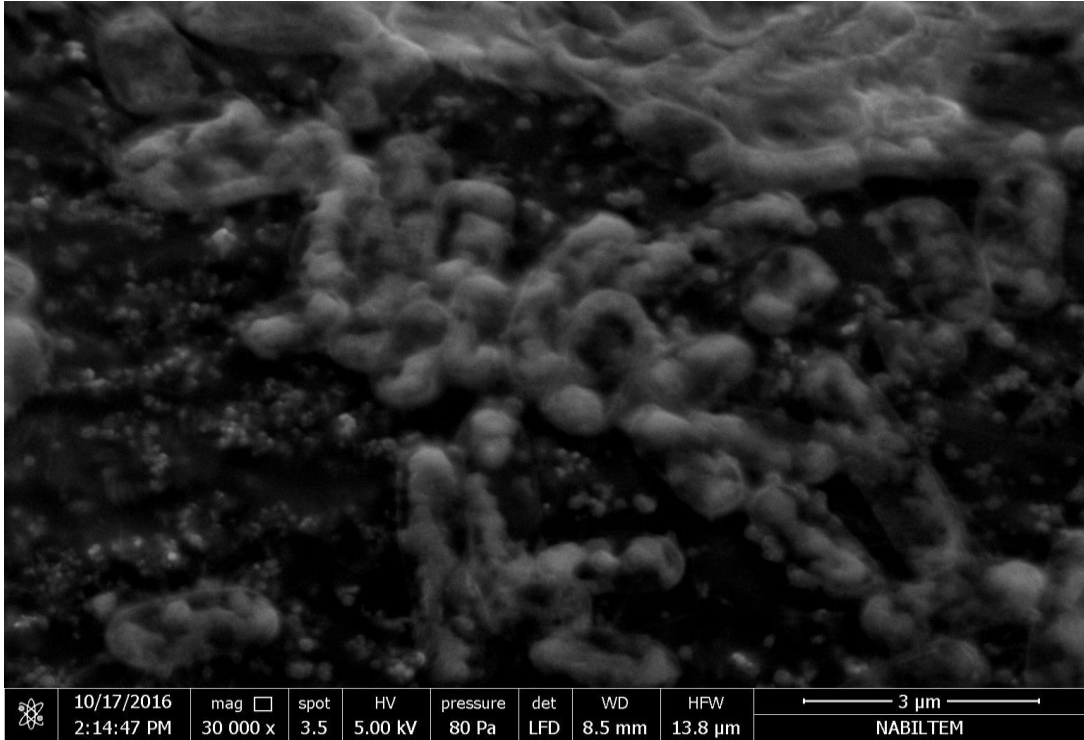
a) Kontrol örneği (D-)



b) 350 MPa (5 dk, 10°C) YHB ile basınçlanmış hücre (*E. coli* 25922)(D-)



c) 450 MPa (5 dk, 10°C) YHB ile basınçlanmış hücre (*E. coli* 25922)(D-)



d) 450 MPa (5 dk, 10 °C) YHB YHB ile basınçlanmış hücre (*E. coli* 25922)(D+)

Şekil 4.27. 350, 450 MPa ile işlem görmüş *E. coli* 25922 hücrelerinin SEM görüntüsü

Şekil 4.27'de bazı ilgi çekici gözlemler olsa da, hücresel seviyelerde basınca bağlı yapısal değişiklikleri ve hücre inaktivasyonuna etkileri net bir şekilde karakterize edilememiştir. Hücrelerde hacimsel ya da boyutsal değişiklik, membran değişikliği, basınçlamadan sonra tekrar eski halini almış olabilir (Görüntüler basınçlama işleminden 2,5 saat sonra alınmıştır). 350 ve 450 MPa YHB ile bu çalışmada elde edilen logaritmik azalma sonuçlarına göre mikrobiyal hücrede membran hasarı gerçekleşmiştir. Basınçlama ile hücre içi bileşenlerin hücre dışına sızması gerçekleşmiş olabileceği ve hücrelerin üzerinde birikmiş olmasından kaynaklanan nedenlerle görüntünün net elde edilemediği düşünülmüştür.

Kalchayanand ve ark. (2002), taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanarak, 345 MPa basınçtan hemen sonra inaktive *L. mesenteroides* hücrelerinde hücre boyutu, şekli ve yüzey yapısı yönüyle, canlı hücrelerinkinden farklı olmamasına karşın, 4 °C'de 2 saat depolamadan sonra hücre lizasyonu görüldüğünü bildirmiştir.

Ritz ve ark. (2001) çalışmalarında artan basınçla *L. monocytogenes* hücrelerinin yüzeyinde "tomurcuk yara izleri" olarak adlandırılan artan düzensizlikleri bildirmişlerdir. Ayrıca tamamen hücre inaktivasyonu 400 MPa'da gözlemlenmesine rağmen, bakteri hücreleri morfolojik özelliklerini sınırlı hücre parçalanmaları ile korudukları tespit edilmiştir.

Moussa ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada, kontrol ve basınçlanmış *E. coli* hücrelerinin kesitlerini incelemişler ve belirgin farklılıklar tespit etmişlerdir. Nitekim, hücrelerin 150 MPa (25 °C, 10 dk) basınçlama işlemi nükleoid bölgede şeffaflığın hafif bir artışına neden olmuştur. Aynı basınç seviyesi için, -20 °C, hücrelerin % 78'inde nükleoidlerin yoğunlaşmasına ve hücrelerin % 45'inde biriken proteinin kümelerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda YHB teknolojisi ile patojen mikroorganizmaların ve parazitlerin inaktive edilebileceğinin anlaşılması ve ticari boyutta pastörizasyon yapan cihazların üretilmesiyle birlikte, bu teknoloji bazı Avrupa ülkelerinde, Amerika ve Japonya'da et ürünleri, meyve suları, reçel ve marmelatlar, deniz ürünleri gibi çeşitli gıda ürünlerinin pastörizasyonu için kullanılmaya başlanmıştır. Tüketicilerin ise katkısız en az işlenmiş sağlıklı ve güvenilir ürünlere her geçen gün ilgisi artmaktadır. YHB teknolojisinin en büyük avantajı gıda maddelerinin ısı işlem görmeden düşük sıcaklıklarda pastörize edilebilmesidir. Üretim süresince örneklerin geometrilerine ve boyutlarına bağlı olmaması, atıksız uygulanabilirliği, çevre dostu teknoloji olması ayrıca işlem süresinin kısa olması, minimum ısı zararı, kovalent bağların etkilenmemesinden dolayı üründe tazeliğin, lezzetin, yapının ve rengin korunması diğer avantajları arasındadır. Gıdalar yüksek basınç altında ve düşük sıcaklıklarda pastörize edilirken bu ticari uygulamanın gerçekleşebilmesi için bu teknolojinin her bir gıda türü için özel olarak optimize edilmesi gerekmektedir. YHB ile gıdaların pastörizasyonu konusunda çok sayıda bilimsel yayın bulunmakta ancak düşük sıcaklıklarda (sıfırın altında) YHB uygulamalarıyla ilgili bilimsel yayın sayısı kısıtlıdır.

Bu araştırmada sığır kıymasının taze özelliklerini en iyi koruyabileceği düşünülen YHB parametreleri incelenmiş ve bu amaçla, 300-450 MPa basınç, -10 ile 20 °C sıcaklık aralığında ve 5-15 dk süre aralığında optimum işlem koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma kapsamında inokule edilmemiş kıyma örneklerinde basınç, sıcaklık ve sürenin TMAB ve inokule edilmiş örneklerde *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Sığır kıymasının renk ve tekstüründe meydana gelen değişiklikler YHB işlemi sonrası ve depolama süresince incelenmiş ve YHB öncesi dondurulan örnekler ile dondurulmadan basınçlanan örnekler karşılaştırılmıştır. Ayrıca etin soğutucuda depolanması boyunca inokulasyon yapılmış ve yapılmamış kıyma örneklerinde mikrobiyal gelişme düzeyleri, renk, tekstürel değişim ile oksidasyon oluşumu değerlendirilmiştir. YHB ile mikrobiyal güvenliği sağlanmış ve renk ile tekstür yapısı korunabilmiş basınçlanmış etlerin pişirme sonrası renk ve duyu skorları ve tüketici kabul edilebilirliği değerlendirilmiştir.

Bu çalışma sonuçlarına göre 300 MPa (sıfırın altında sıcaklıklarda), 350 MPa, 450 (düşük sıcaklıklarda) MPa YHB ile patojen ve TMAB sayısında elde edilen mikrobiyal azalmalar ile 350 MPa YHB sonrasında 45 gün (soğutucuda +4,0 ±2 °C) depolama sonucunda

tüketiciler için güvenle kullanılabilir et elde edilebilmiştir. Bununla birlikte aynı şartlarda YHB ile (özellikle basınçlama öncesi dondurulmuş etlerde) renk parametrelerinin taze ette tolere edilebilir minimum değişime uğradığı ve basınç kaynaklı lipid oksidasyonu oluşmadığı gözlenmiştir.

300 MPa (-5 °C) YHB ile renk ve tekstür farklılığı oluşmamıştır. 350 MPa ile oluşan sertlik, çiğnenebilirlik, sakızimsılık, esneklik gibi tekstürel özelliklerin basınç ile minimum değişimi etin yeniden işlenmesi (yoğurma, karıştırma) ile bertaraf edilmiş ve taze kontrol et örneklerine yakın tekstürel özellikte kıyma elde edilebileceği gözlenmiştir. Ayrıca basınçlanmış kıyma ile yapılan köftelerin pişirildiğinde duyuşal olarak kontrol örnekleri ile eşdeğer olduğu görülmüştür. Bu nedenle basınçlanarak gıda güvenliği sağlanmış renk ve dokusu korunmuş etler toplu tüketim yapan alanlarda ette raf ömrünün çok sınırlı olması nedeniyle büyük avantaj sağlayabilir.

İnokule edilmemiş kıyma örneklerinde en yüksek TMAB inaktivasyonu (yaklaşık 5 log kob/g), 300 MPa (-5 °C, 15 dk) ve 450 MPa (10 °C, 10-15 dk) YHB ile elde edilmiştir. TMAB'de en düşük mikrobiyal azalma 300 Mpa (20 °C, 5 dk)'da (0,90 log kob/g) elde edilmiştir. Ayrıca raf ömrü çalışmasında başlangıç mikroorganizma yükü 6,62 log kob/g olan taze kırmızı ette 350 Mpa YHB sonrası TMAB depolamanın 1. gününde 2,07 log kob/g, 45. günde ise 4,17 log kob/g elde edilmiştir.

*E. coli* 25922'de en yüksek inaktivasyon 300 MPa'da (-5 °C, 5 dk) seçici besiyerinde 4,02 (dondurulmamış), 4,10 (dondurulmuş) log kob/g elde edilmiş olup, en düşük inaktivasyon 20 °C' de 5 dk'da dondurulmamış örneklerde 2,01, dondurulmuş örneklerde 2,28 log kob/g elde edilmiştir.

*S. typhimurium* 14028'da en yüksek inaktivasyon 450 MPa (10 °C, 5 dk)'da (dondurulmamış örneklerde 5,52 log kob/g, dondurulmuş örneklerde 4,97 log kob/g) elde edilmiştir. Ayrıca 300 MPa -5 °C'de, 15 dk'da D+ örneklerde elde edilen (dondurulmamış örneklerde 3,76, dondurulmuş örneklerde 4,70 log kob/g) azalmalar neredeyse eşdeğerdir. En düşük inaktivasyon ise 300 MPa (0 °C) YHB ile 1,81 (dondurulmamış), 2,06 (dondurulmuş) log kob/g olarak bulunmuştur.

*L. innocua* 33090 için maksimum inaktivasyon, 450 MPa (10 °C, 10dk) (dondurulmamış örneklerde 5,89 log kob/g, 450 MPa (10 °C, 15dk) dondurulmuş örneklerde 4,83 log kob/g bulunmuştur. En düşük mikrobiyal azalma ise 300 MPa'da (20 °C, 5 dk)

dondurulmamış örneklerde 3,21 log kob/g ve dondurulmuş örneklerde 2,98 log kob/g olarak elde edilmiştir.

Sıfırın altında sıcaklıklarda ve düşük basınç değerlerinde YHB, farklı bakteri hücreleri üzerinde farklı sonuçlar verebilmektedir. Ayrıca mikrobiyal inaktivasyon dondurulmuş et örneklerinde düşük basınçlarda düşük sıcaklıkta sinerjik etki oluştururken, durum faktöründen en fazla etkilenen ve basınca en direnç gösteren patojen *E. coli* 25922 olmuştur. Bunun aksine *L. innocua* 33090'da basınç öncesi örneklerin dondurulması diğer iki patojenden farklı olarak inaktivasyonda daha düşük sonuçlar elde edilmiştir.

*E. coli* 25922, *S. typhimurium* 14028, *L. innocua* 33090 için farklı basınç parametrelerinde farklı yaralanma oranları elde edilmiş olup, sonuçlar düzensiz olmakla birlikte *L. innocua* hariç diğer test mikroorganizmalarında genel olarak basınçlamadan önce dondurulmuş örneklerde ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda mikrobiyal yaralanma derecesinin düşük olduğu görülmüştür. YHB uygulamalarından sonra basınca, süreye ve sıcaklığa bağlı olarak 0,2-1,5 log kob/g aralığında mikrobiyal yaralanma gerçekleşmiştir.

Depolamada inokule edilmemiş kontrol örneğinde, başlangıç TMAB seviyesi 6,62 log kob/g olup, 1. günde basınçlanmış (dondurulmamış) örneklerde TMAB düzeyi 2,76 log kob/g, basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde ise 2,07 log kob/g elde edilmiştir. Basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde maksimum TMAB düzeyi 45. günde 5,67 log kob/g, BD- örneklerde 30. günde gerçekleşmiş olup, 4,19 log kob/g'dır. İnokule edilmemiş kontrol örneklerinde başlangıçta *E. coli*, *Salmonella* ve *Listeria* tespit edilmiş fakat 350 MPa YHB ile raf ömrü süresince *Salmonella* ve *Listeria* tespit edilmemiştir. *E. coli* ise sadece 15. günde tespit edilmiştir.

İnokule edilmiş örneklerde ise durum faktörünün etkisi en fazla *E. coli* 25922'de gözlenmiştir. *E. coli* 25922 basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde basınçlanmış (dondurulmamış) örneklere kıyasla depolamada artış göstermemiştir. *S. typhimurium* 14028 ve *L. innocua* için YHB ile 1. günde basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde daha fazla inaktivasyon oluşsada depolamada her iki örnekte benzer seyir izlemiştir. Depolama sonunda üç patojende de kontrol örneklerinden düşük bakteri düzeyi gözlenmiştir.

Basınçlanmış örneklerde depolama sürecinde üç patojen sayısında da artış olmuştur. Bu artış bir basınç işleminden hemen sonra büyümenin olmamasına rağmen, depolama sırasında



hasarlı mikroorganizmaların gelişmesi, yüksek basınçlı işlenmiş gıdaların güvenliği üzerinde kıyılmış sığır eti gibi besin açısından zengin ortamlarda önem taşımaktadır.

Düşük sıcaklıklarda (10-20 °C) ve 300-450 MPa aralığında ve farklı sürelerde YHB ile toplam renk farklılığı, L\*, a\* ve b\* değerleri kontrol örneklerine kıyasla farklı tespit edilmişken, 300 MPa (-5, -10 °C, 5 dk) YHB ile en düşük renk farklılığı oluşmuş olup, bu parametre et üzerinde minimum etki yaratmış olduğu gözlenmiştir. Taze et görünümünde ve taze et dokusuna yakın sonuçlar almak için sıfırın altında sıcaklıklarda düşük-orta düzeyde basınç aralığı gerekliliği ve örnekleri YHB öncesinde dondurmanın avantajı ise renk parametrelerinde net olarak tespit edilmiştir. Basınçlandıktan sonra yeniden şekillendirilen kıymada tekstür özellikleri tüm basınç parametrelerinde kontrol örneklerine oldukça yakın elde edilmiştir.

Basınçlanmış örneklerde L\* değeri 30 gün boyunca kontrol örneklerinden yüksek, a\* değerleri basınçlanmış örneklerde daha kırmızı elde edilmiş ayrıca basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde basınçlanmış (dondurulmamış) örneklere kıyasla a\* (kırmızılık) yüksek bulunmuştur. Toplam renk farklılığı, L\*, a\*, b\* değerleri 30 gün boyunca stabil kalmıştır. Depolamanın 1. gününde toplam renk farklılığı basınçlanmış (dondurulmamış) örneklerde 10,4, basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde 7,66'dır. Ancak depolamanın 3. gününde tüm örneklerde renk farklılığı 10 birim (sınır değer) değerine ulaşmıştır.

Basınçlı örneklerin TBA değerleri raf ömrü boyunca yasal sınır olan 1-2 mg/kg değerinin üzerine çıkmamış olup, basınçlanmış örneklerde kontrol (dondurulmamış) örneklerine kıyasla daha düşük TBA değerleri gözlenmiştir. Kontrol (dondurulmuş) ve basınçlanmış (dondurulmamış) örnekler aynı seviyede oksidasyona maruz kalmıştır.

Depolama sürecinde kontrol (dondurulmamış) örneklerinde sertlik azalırken basınçlanmış gruplarda değişmemiştir. Çiğnenebilirlik basınçlanmış (dondurulmamış) örneklerde depolama boyunca azalma seyrederken basınçlanmış (dondurulmuş) örneklerde değişmemiştir. Yapışkanlık basınçlanmış gruplarda depolamada artmıştır. Elastikiyet, bağlılık, esneklik sonuçları değişmemiştir. Esneklik, yapışkanlık ve elastikiyet depolama boyunca basınçlı gruplarda kontrol örneklerinden yüksek, bağlılık ise basınçlanmış ve kontrol gruplarda benzer bulunmuştur.

Kontrol örnekleri basınçlanıp pişirilen örneklere kıyasla daha sıkı tespit edilmiş olup, basınçlanıp pişirilen örneklerin kontrol örneklerine göre sululuk değerleri daha yüksek

olmuştur. Aroma, lezzet, sertlik, genel beğeni, acılık, ekşilik parametreleri basınçlanmış ve kontrol gruplarda eşdeğer elde edilmiştir. En yüksek pişirme kaybı yüzdesi (% 27,7) kontrol örneklerinde, en düşük pişirme kaybı oranı (% 16,4) ise basınçlama öncesinde dondurulmuş olan basınçlanmış gruplarda oluşmuştur. Pişirilmiş örneklerde toplam renk farklılığı, basınçlanmış (dondurulmamış) örneklerde 1,88, kontrol (dondurulmuş) örneklerde 2,88 birim olup, sadece dondurulmuş kontrol örneklerden daha düşük bulunmuş ve pişirilmiş örneklerde gözle tespit edilemez düzeyde elde edilmiştir.

Bu araştırmada elde edilen sonuçlara dayanılarak taze kırmızı ette yapılması muhtemel çalışmalar için renk, tekstürel özellikler, toplam canlı ve patojen imhası için düşük basınç şiddetlerinde (300 MPa), -5 °C ve altındaki çalışma sıcaklıklarında ve kısa sürelerde (5 dk) YHB uygulaması etkinlik ve ekonomik olması nedeniyle önerilebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre toplam canlı seviyesi yasal sınır değerler içersinde azaltılmış ve patojen inaktivasyonu tamamen sağlanmış, tekstürel özellikleri korunmuş kıymanın elde edilmesi ile yöresel bir yiyeceğimiz olan ve ülke çapında korunması gereken çiğ köftenin geleneksel özelliklerine kavuşması ve kalitesinin artırılması sağlanabilir, çeşitliliğin artması ile bu sektörün büyümesine olumlu katkıda bulunarak ek istihdamlar oluşturulabilir. Bu teknolojinin ülkemizde kullanılmaya başlanmasıyla birlikte, yerli ekipman üreticilerimize gerekli bilgiler verilerek pahalı olan bu ekipmanların yurt içinde üretilmesi teşvik edilerek yeni bir istihdam ve ihracat imkanı sağlanabilecek olup, bu teknolojinin Türkiye’de de kullanılmasının önü açılarak ülkemizin dünya pazarında rekabet gücü artırılabilir.

Taze kıymada kontaminasyon seviyesi ve kaynağına göre mikroorganizma türü ve seviyesi değişebilmektedir. Dolayısıyla basınç parametrelerine direnç her mikroorganizmanın yapısal özellikleri nedeniyle hassasiyeti farklı olacağından hücrenin fizyolojik durumuna ve basınçlama sıcaklığı ile süresine tepkisinin değişebileceği yapılacak çalışmalarda göz ardı edilmemelidir.

YHB sırasında basınçlama sıcaklığı ve sürelerine bağlı olarak ette erimenin oluşup oluşmadığı, gıda örneğinin sıcaklık profili (basınç kabı kenar yüzeyine yakın olan örneklerde sıcaklık merkezden daha düşük olmaktadır), dondurucunun sıcaklık salınımı, çalışma basıncına ulaşma süresi ve basıncın serbest bırakılma süresi gibi faktörlerin kontrollü ve ölçülebilir metotlarla çalışmaların yapılması, bu tür inceleme faaliyetleri bulunacak araştırmalar için tavsiye edilebilir. Bu çalışmada kullanılan dondurucu endüstriyel bir

dondurucu olmayıp, maksimum 10 °C'lik sıcaklık salınımları oluşmuştur. Dolayısıyla küçük hacimli deney örneklerinin sıcaklığın yükselmesi ile örnek içindeki kristal yapının ve örnek içindeki donmuş su yüzdesinin durumu konusunda belirsizlikler vardı. Bazı deney sonuçlarında rastlanan dondurulmuş örneklerdedondurulmamış örneklere kıyasla nispeten düşük yada benzer inaktivasyon sonuçlarına sıcaklık salınımlarının etkisi nedir gibi soruların cevabı aranabilir.

Bu tez çalışmasında depolamada soğutucu sıcaklığı  $+4\pm 2$  °C aralığında idi. O nedenle daha düşük sıcaklıkta depolamada inokule edilmiş ve edilmemiş örneklerde bakteri seviyelerinin bu sonuçlardan daha iyi elde edileceği göz ardı edilmemelidir.

350 MPa YHB ile sığır etinde basınçtan hemen sonra TBA değerinde artış oluşmamış ve 45 gün depolama boyunca  $+4\pm 2$  °C'de TBA değerinde artış oluşmamıştır. Ancak bu sonuç etlerin vakum ambalajlı olması (oksijensiz) ve düşük yağ içeriğine sahip (ortalama % 4) et ile çalışılmasından kaynaklanabildiği düşünülmüş olup, araştırmacılara özellikle yağsız ve yağ oranı düşük etlerde depolamanın/basıncın protein oksidasyonuna etkisinin incelenmesi de önerilebilir.

Soğutulmuş depolama sırasında hasarlı hücrelerin geri kazanımını hesaba katan kontroller, yüksek basınçlı işlenmiş gıdaların güvenliğini sağlamak için yerine getirilmelidir. Söz konusu konu ile ilgili olarak basınç sonrası tamamen bertaraf edilemeyen yada basınçla hasar almış mikroorganizma grubunun depolama aşamasında gelişimini engelleyici pH düşürücü doğal katkıların kullanımı yardımcı olabilir.

Ayrıca toplam flora ve patojen kadar saprofit mikroorganizmaların ve mikrobiyal toksinlerin YHB ile nasıl etkilendiği ve depolamadaki gelişimleri ile ilgili çalışmalara da yer verilmesi önem taşımaktadır.

Yüksek basınç uygulama cihazlarının ilk tesis maliyetleri, yükselen işlem basıncıyla birlikte artmaktadır. İşleme maliyetleri; basınç uygulama süresi ve sistemi çalıştırma maliyetlerinden doğrudan etkilenmektedir. Bu nedenle basınçlama öncesi dondurulmuş örneklerde düşük basınçla elde edilen daha fazla mikrobiyal azalma ayrıca basınçlamanın ilk dakikalarında (kısa basınçlama süresi) donmuş örneklerde (buz kristallerinin deformasyon etkisi olmuştur) elde edilen daha yüksek mikrobiyal azalma avantajlı maliyet nedeniyle de teşvik edilebilir.

## 6. KAYNAKÇA

- Abbassi-Ghozzia I, Ouania AJ, Aissa RB, Martinez-Urtazac J, Boudabousa A, Gtaria M (2011). Analyse moléculaire et résistance aux antibiotiques des salmonelles non-typhoïdiques isolées chez l'homme en Tunisie. Antimicrobial resistance and molecular analysis of non-typhoidal Salmonella isolates from human in Tunisia. 59: 207-212.
- Alpas H, Kalchayanand N, Bozoglu F, Sikes A, Dunne CP, Ray B (1999). Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food borne pathogens. Applied and Environmental Microbiology, 65: 4248-4251.
- Alpas H, Kalchayanand N, Bozoglu F, Ray B (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. International Journal of Food Microbiology, 60:33-42.
- Alpas H, Bozoglu F (2002). Inactivation of *Staphylococcus Aureus* and *Listeria Monocytogenes* in Milk and Cream of Chicken Soup by High Hydrostatic Pressure and Bacteriocins. Journal High Pressure Research, 22 (3-4): 681-684.
- Ammar M, Sher A, Abid M, Ahmad H, Zhang L, Keith Tume R, Zhou G (2014). Enhanced texture, yield and safety of a ready-to-eat salted duck meat product using a high pressure-heat process. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 21: 50–57.
- AMSA (1978). Guidelines for cookery and sensory Evaluation of meat. American Meat Science Association, Chicago.
- Andrés AI, Adamsen CE, Møller JK, S, Ruiz J, Skibsted LH (2006). High-pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on colour and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. European Food Research and Technology, 222(5–6): 486–491.
- Anese M, Manzocco L, Panozzo A, Beraldo P, Foschia M, Nicoli MC (2012). Effect of radiofrequency assisted freezing on meat microstructure and quality. Food Research International, 46(1): 50-54.
- Angsupanich K, Ledward DA (1998). High Pressure Treatment Effects on Cod (*Gadus morhua*) Muscle. Food Chemistry, 63: 39–50.
- Angsupanich K, Ledward DA (1999). Effects of High Pressure on Textural Characteristics of Cod (*Gadus morhua*) Muscle. Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology, 405-408.
- Ardle R, Marcos B, Kerry JP, Mullen A (2010). Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. Meat Science, 86(3): 629-634.

- Ardle R, Marcos B, Kerry JP Mullen A (2011). Influence of hhp conditions on selected beef quality attributes and their stability during chilled storage. *Meat Science*, 87(3): 274-281.
- Arıcı M (2006). Gıda muhafazasında yüksek hidrostatik basıncın mikroorganizmalar üzerine etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1): 41-49.
- Arnau J, Conni Lauritzen C, Petersen GE, Pedersen J (2006). Current strategies for the use of affinity tags and tag removal for the purification of recombinant proteins. *Protein Expression and Purification*, 48(1): 1-13.
- Ashie INA, Simpson BK(1996). Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. *Food Research International*, 29(5–6): 569-575.
- Atasever M ve Atasever A (2014). Kıymalarda Bazı Patojenlerin İzolasyon ve İdentifikasyonu. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Istanbul University*, 41 (1): 60-68.
- Aymerich T, Jofre A, Garriga M, Hugas M (2005). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by Natural Antimicrobials and High Hydrostatic Pressure in Sliced Cooked Ham. *Journal of Food Protection*, 68(1): 173-177.
- Bajovic B, Bolumar T, Heinz V (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Science*, 92(3): 280-289.
- Barrera O, Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López M(2007). Effect of different storage conditions on *E. coli* O157:H7 and the indigenous bacterial microflora on lamb meat. *International Journal of Food Microbiology*, 115(2): 244-251.
- Bayındırlı A, Alpas H,Bozoğlu F, Hızal M (2006). Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control*, 17(1): 52-58.
- Beltran E, Pla R, YusteJ, Mor-Mur M (2003). Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values. *Meat Science*, 64(1): 19-25
- Beltran E, Pla R, Capellas M, Yuste J, Mor-Mur M(2004). Lipid oxidation and colour in pressure- and heat-treated minced chicken thighs. 84(11): 1285–1289.
- Bertram HC, Whittaker KA, Shorthose WR, Andersen HJ,Karlsson AH (2004). Water characteristics in cooked beef as influenced by ageing and high-pressure treatment—an NMR micro imaging study *Meat Science*, 66: 301–306.
- Berruga MI, Vergara H, Linares HM (2005). Control of microbial growth and rancidity in rabbit carcasses by modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12): 1987–1991.

- Black EP, Huppertz THM, Kelly AL, Fitzgerald GF (2007). Baroprotection of vegetative bacteria by milk constituents: A study of *Listeria innocua*. International Dairy Journal, 17(104): 110.
- Bolton DJ, Catarama T, Byrne C, Sheridan JJ, McDowell DA, Blair IS (2002). The ineffectiveness of organic acids, freezing and pulsed electric fields to control *Escherichia coli* O157:H7 in beef burgers. Lett Appl. Microbiology, 34:139–143.
- Bolumar T, Skibsted LH, Orlie V (2012). Kinetics of the formation of radicals in meat during high pressure processing. Food Chemistry, 134(4): 2114-2120.
- Bourne MC (1978). Texture profile analysis. Food Technologies, 32(7): 62-66.
- Bou R, Guardiola F, Codony R, Faustman C, Elias RJ, Decker EA (2008). Effect of heating oxymyoglobin and metmyoglobin on the oxidation muscle microsomes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(20): 9612-9620.
- Bridgman PW (1912). Water, in the liquid and 5 solid forms, under pressure. Proc American Acad Arts Sci XLVII, (13):43
- Bozoğlu F, Alpas H, Kaletunç G (2004). Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic pressure treated milk during storage. Immunology and Medical Microbiology, 40: 243-247.
- Brul S, Rommens JM, Verrips CT (2000). Mechanistic studies on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by high pressure. Innovative Food Science & Emerging Technology, 1(2): 99-108.
- Bull MK, Hayman MM, Stewart CM, Szabo EA, Knabel SJ (2005). Effect of prior growth temperature, type of enrichment medium, and temperature and time of storage on recovery of *Listeria monocytogenes* following high pressure processing of milk. International Journal of Food Microbiology, 101(1): 53-61.
- Bulut S (2014a). Inactivation of *Escherichia coli* in milk by high pressure processing at low and subzero temperatures, High Pressure Research: An International Journal, 34(4): 439-446.
- Bulut S (2014b). The Effects of High-Pressure Processing at Low and Subzero Temperatures on Inactivation of Microorganisms in Frozen and Unfrozen Beef Mince Inoculated with *Escherichia coli* Strain ATCC 25922. Science Business Media New York. Springer.
- Bulut S, Chapleau N, Lamballerie-Anton M, Le-Bail A (2014c). High Pressure Processing of Chicken Meat: Change in Total Aerobic Counts after Pressure Treatment and During Chilled Storage. British Microbiology Research Journal, 4(5): 540-549.
- Busta FF (1976). Practical Implications of Injured Microorganisms in Food. Journal of Milk and Food Technology, 39( 2): 138-145.

- Buzrul S (2004).Hayvansal Gıdalarda Bulunan *Listeria monocytogenes*'in Yüksek Hidrostatik Basınç Altında Yaşam Eğrilerinin Tanımlanması Üzerine Bir Derleme. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 20 (2): 321-327.
- Buzrul S (2008). Gıda biliminde yüksek durgun sıvı basınç uygulamaları: sıkıştırma ısısı, mikrobiyal etkisizleştirme devinimi, vurgulu basınç ve yüksek basınç karbondioksit işlemleri üzerine bir çalışma. Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü (ODTÜ), ICMCB Bordo Üniversitesi.
- Campus M, Flores M, Martinez A, Toldrb F (2008). Effect of high pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin. Meat Science, 80(4): 1174-1181.
- Campus M,Addis MF, Cappuccinelli R, Porcu MC, Pretti L,Tedde V,Secchi N,Stara T,Roggio T(2010). Stress relaxation behaviour and structural changes of muscle tissues from Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) following high pressure treatment. Journal of Food Engineering, 96(2): 92-198.
- Carlez A, Rosec JP, Richard N, Cheftel JC (1993). High pressure inactivation of citrobacter freundii, pseudomonas fluorescens and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie, 26(4): 357-363.
- Carlez A, Rosec JP, Richard N, Cheftel JC (1994). Bacterial growth during chilled storage of pressure – treated minced meat. Food Science and Technology, 27(1): 48-54.
- Carlez A, Veciana-Nogues, T, Cheftel, JC (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. LWT - Food Science and Technology, 28(5): 528–538.
- Casadei MA, Mañas P,Niven G,Needs E, Mackey BM (2002). Role of Membrane Fluidity in Pressure Resistance of *Escherichia coli*. Applied Environmental Microbiology, 68(12): 965-5972.
- Cava R, Ladero L, González S, Carrasco A, Ramírez MR (2009). Effect of pressure and holding time on colour, protein and lipid oxidation of sliced dry-cured Iberian ham and loin during refrigerated storage. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10: 76-81.
- Cheah PB, Ledward DA(1995). High-pressure effects on lipid oxidation. Journal of the American Oil Chemists' Society, 72: 1059.
- Cheah PB, Ledward DA (1996). High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. Meat Science, 43(2): 123-134.
- Cheah PB, Ledward DA (1997). Catalytic mechanism of lipid oxidation following high pressure treatment in pork fat and meat. Journal Food Science, 62(6): 1135-1141.
- Cheftel JC (1992). Effects of high hydrostatic pressure on food constituents : an overview. Hiph Pressure Biotechnology, 195-209.

- Cheftel JC (1995). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1(2-3): 75-90.
- Cheftel JC, Culioli J (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46(3): 211-236.
- Cheftel JC, Levy J, Dumay D (2000). Pressure-assisted freezing and thawing: Principles and potential applications. *Food Rev. Int.*, 16: 453–483.
- Cheftel JC, Thiebaud M, Dumay E (2002). Pressure-assisted freezing and thawing of foods: a review of recent studies. *High Pressure Research*, 22(3–4): 601–611.
- Cheftel JC, Thiebaud M, Dumay E (2003). High pressure-low temperature processing of foods: A review. In *Advances in high pressure and biotechnology*, 327–340. Berlin. Springer.
- Chen H (2007). Temperature-assisted pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* in Turkey breast meat. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1): 55-60.
- Clariana M, Valverde J, Wijngaard H, MariaMullen A, Marcos B (2011). High pressure processing of swede (*Brassica napus*): IMPact on quality properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(2): 85-92.
- Clariana M, GuerreroL, Sárraga C, A Garcia-Regueiro J (2012). Effects of high pressure application (400 and 900 MPa) and refrigerated storage time on the oxidative stability of sliced skin vacuum packed dry-cured ham. *Meat Science*, 90(2): 323-329.
- Colmenero FJ (2002). Muscle protein gelation by combined use of high pressure/temperature. *Trends in Food Science & Technology*, 13(1):22-30.
- Crehan CM, Troy DJ, Buckley DJ (2000). Effects of salt level and high hydrostatic pressure processing on frankfurters formulated with 1,5 and 2,5% salt. *Meat Science*, 55(1): 123-130.
- Cuevas M, Guevara L, Aznar A, Martínez A, PeriagoPM, Fernández PS (2013). Characterisation of the resistance and the growth variability of *Listeria monocytogenes* after high hydrostatic pressure treatments. *Food Control* 29: 409-415.
- Çiçek Ü, Karabıyıklı Ş, Çabuk D, İyiekmekçi B, Kurbandurdiyev H, Cevahiroğlu H (2013). Dana etinin bazı fizikoimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine farklı ambalaj yöntemleri ve depolama süresinin etkisi. *Journal of Agricultural faculty of Gaziosmanaşa University*, 30(2): 62-70.
- Çiçek Ü, Karabıyıklı Ş, Kılınçer FN, Yıldırım AT, Cevahiroğlu H (2014). Vakum ambalajlı olarak soğukta muhafaza edilen dana kuzu ve tavuk etlerinin bazı fizikoimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Journal of Agricultural faculty of Gaziosmanaşa University*, 31(1): 54-62.
- Çon AH ve Gökalp HY (1998). Gıda Mikrobiyolojisi, Pamukkale Üniv. Mühendislik Fak. Yayın No:007, Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, Denizli.



- De Alba M, Bravo D, Medina M (2012a). High pressure treatments on the inactivation of *Salmonella Enteritidis* and the physicochemical, rheological and color characteristics of sliced vacuum-packaged dry-cured ham. *Meat Science*, 91(2): 173-178.
- De Alba M, Bravo D, Medina M (2012b). High pressure treatments on the inactivation of *Salmonella Enteritidis* and the characteristics of beef carpaccio. *Meat Science*, 92(4): 823–828.
- De Lambellerie-Anton EM, Taylor RG, Culioli J (2002). High pressure processing of meat. In *Meat processing: Improving quality*, eds. Boca Raton, FL: CRC /Wood Head, 313-331.
- De Heij W, Van Schepdael L, Van Den Berg R, Bartels P (2002). Increasing Preservation Efficiency and Product Quality through Control of Temperature Distributions in High Pressure Applications. *High Pressure Research An International Journal*, 22(3-4).
- Demazeau G (2009). Un siècle de hautes pressions: Développements technologiques et scientifiques. *Comptes Rendus Chimie*, 12(9):933-942.
- Deuchi T, Hayashi R (1992). High pressure treatment at subzero temperature: application to preservation, rapid freezing and rapid thawing of foods. In Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K., Masson, P., *High pressure and biotechnology*. Montrouge, France, Colloque INSERM: John Libbey Eurotext Ltd. pp. 353–355.
- Denys Van Loey AM, Hendrickx ME (2000). A modeling approach for evaluating process uniformity during batch high hydrostatic pressure processing: combination of a numerical heat transfer model and enzyme inactivation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1): 5-19.
- Descalzo AM, Insani EM, Biolatto A, Sancho AM, García PT, Pensel NA, Josifovich JA (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70(1): 35-44.
- Dissing J, Bruun-Jensen LH, Skibsted L (1997). Effect of high-pressure treatment on lipid oxidation in turkey thigh muscle during chill storage. *Z Lebensm Unters Forsch A*. 205: 11 – 13.
- EFSA (2013). EFSA Panel on Biological Hazards: Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed, 11: 108-111.
- Ergeldi S (2010). Tavuk etinden termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ve tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Erkan, N, Dursun, S, Ulusoy S, Akcay S, Yesiltas M (2013). Combined effects of protein based edible film coatings and vacuum packaging on the quality of fresh sea bass fillets. *Fleischwirtschaft International*, 1: 61–68.
- Erkmen O (2010). Gıda Mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi, 2. Baskı, Ankara, 544.

- Fantelli K, Stephan R (2001). Prevalence and characteristics of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*, 70(1–2): 63-69.
- Farkas DF, Hoover DG (2000). High Pressure Processing. In: *Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies*. *Journal of Food Science Special Supplement*, pp:47-64.
- Fernandez P, Cofrades S, Solas MT, Carballo J, Colmenero FJ (1998). High Pressure Cooking of Chicken Meat Batters with Starch, Egg White, and Iota Carrageenan. *Journal of food science*, 63(2): 267-271.
- Fernández FM, Otero L, Solas MT, Sanz PD (2000). Protein Denaturation and Structural Damage During High Pressure Shift Freezing of Porcine and Bovine Muscle. *Journal of Food Science*, 65(6): 1002-1008.
- Fernandez PP, Sanz PD, Molina-Garcia AD, Otero L, Guignon B, Vaudagna SR (2007). Conventional freezing plus high pressure-low temperature treatment: Physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. *Meat Science*, 77(4): 616-625.
- Fikiin K (2003). *Novelties of Food Freezing Research in Europe and Beyond*. Technical University of Sofia Bulgaria.
- Fuentes V, Ventanas J, Morcuende D, Estévez D, Ventanas S (2010). Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat Science*, 85(3): 506-514.
- Galazka VB, Sumner IG, Ledward DA (1996). Changes in protein-protein and protein-polysaccharide interactions induced by high pressure. *Food Chemistry*, 57(3): 393-398.
- Galazka VB, Ledward DA (1998). *Functional Properties of Food Macromolecules* An Aspen Publication Maryland. 2. Basim, 278-298.
- Galvin K, Morrissey PA, Buckley DJ (1998). Cholesterol oxides in processed chicken muscle as influenced by dietary  $\alpha$  - tocopherol supplementation. *Meat Science*, 48(1-2): 1-9.
- Garrido V, Vitas AI, Garcia-Jalon I (2009). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. *Food Control*, 20(11): 986-991.
- Garriga M, Grèbol N, Aymerich T, Monfort JM, Hugas M (2004). Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4): 451-457.
- Garriga M, Aymerich T (2009). Advanced decontamination technologies: High hydrostatic pressure on meat products. *Safety of meat and processed meat*, 183-208.
- Gekko K, Koga S (1983). The effect of pressure on thermal stability and in vitro fibril formation of collagen. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(5): 1027-1033.

- Gervilla R, Capellas M, Ferragut V, Guamis B (1997a). Effect of high hydrostatic pressure on *L. innocua* 910 CECT inoculated into ewes milk. *Journal of Food Protection*, 60(1): 33–37.
- Gervilla R, Ferragut V, Guamis B (2000). High pressure inactivation of microorganisms inoculated into ovine milk of different fat contents. *Journal of Dairy Science*, 83: 674–682.
- Giménez B, Graiver N, Califano A, Zaritzky N (2015). Physicochemical characteristics and quality parameters of a beef product subjected to chemical preservatives high hydrostatic pressure. *Meat Science*, 100: 179-188.
- Gola S, Mutti P, Mangenalli E, Squarcina N, Rovere P (2000). Behaviour of *E. coli* 0157:H7 strains in model system and in raw meat by hpp: microbial and technological aspects. *High Pressure Research*, 19(1-6): 91-97.
- Goutefongea R, Rampon V, Nicolas, N, Dumont, JP (1995). In: *Proceedings volume II from 41th International Congress of Meat Science and Technology*, pp: 384.
- Gökalp HY, Kaya M, Zorba Ö ve Tülek Y (2000). *Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu* (4. baskı), Atatürk Üniversitesi yayın no: 751, Ziraat Fakültesi Yayın no:318, Ders Kitapları Serisi No:69, Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.
- Gökoğlu N, Yerlikaya P, Uran H, Topuz OK (2011). The effects of modified atmosphere packaging on the quality and shelf life of beef steaks were investigated. *Kafkas Univ Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 17(3): 435-439.
- Gökmen V, Acar J(1995). Yüksek Basınç Teknolojisinin Gıda Endüstrisinde Uygulamaları *Gıda*, 20 (3): 167-172.
- Grossi A, BolumarT, Jensen J, Orlien V(2014). High pressure treatment of brine enhanced pork semitendinosus: Effect on microbial stability, drip loss, lipid and protein oxidation, and sensory properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22: 11-21.
- Guyon C, Meynier A, Lamballerie AntonM (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends in Food Science & Technology*, 50: 131-143.
- Hajós G, Polgár M, Farksa J(2004). High-Pressure Effects on IgE Immunoreactivity of Proteins in a Sausage Batter. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5:443-449.
- Hartmann C and Delgado A (2003). The influence of transport phenomena during high-pressure processing of packed food on the uniformity of enzyme inactivation. *Biotechnology and Bioengineering*, 82(20): 725–735.

- Hartsell, SE (1951). The longevity and behavior of pathogenic bacteria in frozen food: the influence of plating media. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*, 41: 1072-1077
- Hawley SA(1971). Reversible pressure-temperature denaturation of chymotrypsinogen. *Biochemistry*, 10(13): 2436-2442.
- Hayakawa I, Linko YS, Linko P(1996). Mechanism of High Pressure Denaturation of Proteins. *LWT - Food Science and Technology*, 29(8): 756-762.
- Hayman MM, Baxter I, Oriordan PJ, Steward CM (2004). Effects of high pressure processing on the safety quality and shelf of ready to eat meats. *Journal of Food Protection*, 67(8): 1709–1718.
- Hayman MM, Ramaswamy CA, Knabel SJ(2007). The effects of growth temperature and growth phase on the inactivation of *L. monocytogenes* in whole milk subject to high pressure processing *International Journal of Food Microbiology*, 115(2): 220-226.
- Hayman MM, Kouassi GK, Ramaswamy CA, Anantheswaran JD, Knabel JS (2008). Effect of water activity on inactivation of *L. monocytogenes* and lactate dehydrogenase during high pressure processing. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1): 21-26.
- He H, Adams, RM, Farkas, DF, Morrissey, MT (2002). Use of high-pressure processing for oyster shucking and shelf-life extension. *Journal of Food Science*, 67: 640-645.
- Hendrickx, M, Ludikhuyze, L, Van den Broeck I, Weemaes C(1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science&Technology*, 9: 197-203.
- Herrero AM, JA Ordóñez, de Avila R, Herranz B, de la Hoz L, Cambero MI (2007). Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat Science*, 77(3): 331-338.
- Hogan E, Kelly AL, Sun DW (2005). High Pressure Processing of Foods: An Overview. *Emerging Technologies for Food Processing*, 3-32.
- Hong GP, Park SH, Kim JY, Lee SK, Min SG (2005). Effects of time dependent high pressure treatment on physico-chemical properties of pork. *Food Science Biotechnology*, 14(6): 808-812.
- Hoover DG, Metrick C, Papineau AM, Farkas DF, Knorr D (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*, 43: 99-107.
- Hoover DG (1993). Pressure effect on biological systems. *Food Technology*, 47: 150-155.
- Hugas M, Garriga M, Monfort JM (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62(3): 359-371.
- Hurst, A (1984). Revival of vegetative bacteria after sublethal heating. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser.*, (12):77-103.

- İbanoğlu E (2002). Gıdalarda yüksek hidrostatik basınç uygulaması, *Gıda*, 27(6): 505-510.
- Ichinoseki, S, Nishiumi T, Suzuki A (2006). Tenderizing effect of high hydrostatic pressure on bovine intramuscular connective tissue. *Journal of Food Science*, 71: 276-281.
- IFT (1985). Guidelines for the preparation and review of papers reporting sensory evaluation data. *Journal of food science*, 60(1): 210-211.
- Iwasaki T, Noshiroya K, Saitoh N, Okano K, Yamamoto K (2006). Studies of the effect of hydrostatic pressure pretreatment on thermal gelation of chicken myofibrils and pork meat patty. *Food Chemistry*, 95(3): 474-483.
- Jeong JY, Janardhanan KK, Booren AM, JB Hartel I, Kang (2011). Breast meat quality and consumer sensory properties of broiler carcasses chilled by water, air, or evaporative air. *Poultry Science*, 90(3): 694–700.
- Joo ST, Kauffman RG, Kim BC, Parka GB (1999). The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science*, 52(3): 91-297.
- Jung S, De Lamballerie-Anton M and Ghoul M (2000a). Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of post-rigor beef treated by high pressure. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 33(4): 313-319.
- Jung S, Ghoul M, De Lamballerie-Anton M (2000b). Changes in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during ageing. *Meat Science*, 56(3): 239-246.
- Jung S, Ghoul M, De Lamballerie-Anton M (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 36(6), 625–631.
- Kalchayanand N, Sikes A, Dunne CP, Ray B (1998). Interaction of hydrostatic pressure, time and temperature of pressurization and pediocin AcH on inactivation of foodborne bacteria. *Journal of Food Protection*, 61:425-431.
- Kalchayanand N, Frethem C, Dunne P, Sikes A, Ray B (2002). Hydrostatic pressure and bacteriocin-triggered cell wall lysis of *L. mesenteroides*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(1): 33-40.
- Kaletunç G, Lee J, Alpas H, and Bozoglu F (2004). Evaluation of Structural Changes Induced by High Hydrostatic Pressure in *L. mesenteroides*. *Applied Environ Microbiol*, 70(2): 1116–1122.
- Kalichevsky MT, Knorr D, Lillford PJ (1995). Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transition. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 253-259.
- Kaner J (1994). Oksidation processes in meat and meat products. Quality implications. *Meat science*, 36: 169-89.

- Karakaya M, Caner C ve Sariçoban C (2004). Et teknolojisinde yüksek hidrostatik basınç kullanımı. *GIDA*, 29(6): 465-470.
- Khayat A, Schwall D (1983). Lipid oxidation in seafood. Institute of Food Technologists (USA). IFT Muscle Foods Division. Annual Meeting.
- Klotz B, Pyles L, Mackey BM (2007). New mathematical modelling approach for predicting microbial inactivation by high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8): 2468-2478.
- Kim YJ, Lee EJ, Lee NH, Kim YH (2007). Effects of Hydrostatic Pressure Treatment on the Physicochemical, Morphological, and Textural Properties of Bovine Semitendinosus Muscle. *FoodScience Biotechnology*, 16(1): 49-54.
- Knorr D (1993). Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality. Berlin University of Technology, Berlin, Germany.
- Koseki S, Mizuno Y, Yamamoto K (2007). Predictive modelling of the recovery of *L. monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3): 300-307.
- Krebbers B, Matser AM, Hoogerwerf SW, Moezelaar R, Tomassen MMM, Wanden Berg R (2003). *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 4(4): 377-385.
- Kruk ZA, Yun H, Rutley D, Lee EJ, Kim YJ, Jo C (2011). The effect of high pressure on microbial population, meat quality and sensory characteristics of chicken breast fillet. *Food Control*, 22: 6-12.
- LeBail A, Chevalier D, Mussa MD, Ghoul M (2002). High pressure freezing and thawing of foods: a review. *Congélation et décongélation de produits alimentaires sous haute pression. International Journal of Refrigeration*, 25(5): 4-513.
- Leygonie C, Britz TJ, Hoffman LC (2012). IMPact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 91(2): 93-98.
- Li Q, Sherwood JS, Logue CM (2004). The prevalence of *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 on bison carcasses during processing. *Food Microbiology* 21: 791-799.
- Li B, Sun DW (2002). Novel methods for rapid freezing and thawing of foods. *Journal of Food Engineering*, 54(3): 175-182.
- Little CL, Richardson JF, Owen RJ, de Pinna E, Threlfall EJ (2008). *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern. *Food Microbiology*, 25: 538-543.
- Lowder AC, Waite-Cusic JG, Mireles Dewitt CA (2014). High pressure low temperature processing of beef: Effects on survival of internalized *E. coli* O157:H7 and quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26: 18-25.

- Lullien-Pellerin V, Balny C (2002). High-pressure as a tool to study some proteins' properties: conformational modification, activity and oligomeric dissociation *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(3): 209-221.
- Luscher C, Balasa A, Frohling A, Ananta E, and Knorr D(2004). Effect of high-pressure-induced Ice I-to-Ice III phase transitions on inactivation of *L. innocua* in frozen suspension. *Applied and Environmental Microbiology*, 70:4021- 4029.
- Luscher C, Schlter O, Knorr D (2005). High pressure- Low temperature processing of foods; impact on cell membranes, texture, color and visual appearance of potato tissue. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1):59-71.
- MacFarlane JJ(1973). Pre-rigor pressurization of muscle: effects on pH, shear value and taste panel assessment. *Journal Food Science*, 38(2): 294-298.
- Macfarlane JJ, McKenzie IJ, Turner RH, Jones PN (1981). Pressure treatment of meat: Effects on thermal transitions and shear values. *Meat Science*, 5(4): 307-317.
- Macfarlane JJ, McKenzie IJ, Turner RH, Jones PN (1984). Binding of comminuted meat: Effect of high pressure. *Meat Science*, 10(4): 307-320.
- Macfarlane JJ(1985). High pressure technology and meat quality. *Research Publications Repository*, 155-184.
- Mackey B, Forestiere K, and Isaacs NS(1995). Factors affecting the resistance of *L. monocytogenes* to high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*, 9:1- 11.
- Ma HJ, Ledward DA (2004). High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science*, 68(3):347-355.
- Ma HJ, Ledward DA (2013). High pressure processing of fresh meat — Is it worth it? *Meat Science*, 95(4): 897-903.
- Ma HJ, Ledward DA, Zamri AI, Frazier RA, Zhou GH (2007). Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chemistry*, 104(4): 1575-1579.
- Malinowska PE, Koodziejska I, Dunajski E, RoMPa M, Cwalina S (2004). Effect of high pressure and subzero temperature on some gram negative bacteria. Department of Food Chemistry and Technology, Chemical Faculty, Gdansk University of Technology, Gdańsk *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 13/54(3): 279–283.
- Malinowska-Pańczyk E, Koodziejska I (2013). The Influence of Moderate Pressure and Subzero Temperature on the Shelf Life of Minced Cod, Salmon, Pork and Beef Meat Shelf-Life Extension of Minced Meat, *Food Technology Biotechnology*, 51(4): 570–576.
- Malinowska PE, Walecka M, Pawłowicz R, Tylingo R, Kołodziejska I(2014). The effect of high pressure at subzero temperature on proteins solubility, drip loss and texture of

- fish (cod and salmon) and mammal's (pork and beef) meat. *Food Science Technology Int*, 20(5):383-95.
- Marcos B, Kerry JP, Mullen AM (2010). High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. *Meat Science*, 85(1): 115–120.
- Mariutti LRB, Lilian RB Mariutti, Orlien V, Bragagnolo N, Skibsted LH (2008). Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. *European Food Research and Technology*, 227(2):337–344.
- Martino MN, Otero L, Sanz PD, Zaritzky NE (1998). Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods, *Meat Science*, 50(3):303-313.
- Medina-Meza IG, Barnaba C, Barbosa-Cánovas GV (2014). Effects of high pressure processing on lipid oxidation: a review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technology*, 22:1–10.
- Metrick C, Hoover DG, Farkas DF(1989). Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 54:1547-1549.
- Moerman ve ark (2001). Reduction of *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus* and *Streptococcus faecalis* in meat batters by temperature-high hydrostatic pressure pasteurization. *Meat Science*, 59(2):115-125.
- Molina-Höppner A, Sato T, Kato C, Gänzle MG, Vogel RF (2003). Effects of pressure on cell morphology and cell division of lactic acid bacteria. *Springer-Verlag*, 7(6): 511–516.
- Molina-García AD, Otero L, Martino MN, Zaritzky NE, Arabas J, Szczepek J, Sanz PD (2004). Ice VI freezing of meat: supercooling and ultrastructural studies. *Meat Science*,66(3): 709-718.
- Mor-Mur M, Yuste J (2003). Microbiological aspects of high-pressure processing in Sun, Da-Wen (Eds.), *Emerging Technologies for Food Processing*, Elsevier Academic Press, 47-65.
- Morales P, Calzada J, Nunez M, (2006). Inactivation of *Salmonella Enteritidis* in Chicken Breast Fillets by Single-Cycle and Multiple-Cycle High Pressure Treatments. *Journal of Food Protection*, 69(10): 2539–2543.
- Morales P, Calzada J, Rodríguez B, De Paz M, Nuñez M (2009). *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(5): 577-581.
- Morrissey MT, Karaibrahimoglu Y, Sandhu J (1998).Effect of High Hydrostatic Presurre on Pasific Whiting Surimi. *University Seafood Laboratory Astoria, Oregon* 434: 57-65.
- Moussa M, Perrier-Cornet JM, Gervais P (2007). Damage in *Escherichia coli* cells treated with a combination of high hydrostatic pressure and subzero temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20): 6508–6518.



- Mrema N, Mpuchane S, Gashe BA (2006). Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. *Food Control*, 17(3): 7-212.
- Munoz A.S (2001). Use of high pressure for improving the quality and shelf life of frozen fish. Doktora tezi, Department of Food Science and Agricultural Chemistry Macdonald Campus, McGill University Montreal, Quebec.
- Munoz AS, Chevalier D, Le Bail A, Ramaswamy HS, Simpson, BK (2006). Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 13-18.
- Mussa, MD (1999). High pressure processing of milk and muscle foods: evaluation of process kinetics, safety and quality changes. Thesis, McGill University, Canada.
- Myers K, Montoya D, Cannon J, Dickson J, Sebranek MJ (2013). The effect of high hydrostatic pressure, sodium nitrite and salt concentration on the growth of *Listeria monocytogenes* on RTE ham and turkey. *Meat Science*, 93: 263-268.
- Nam KC, Ahn DU (2003). Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. *Meat Science*, 63(3): 389-395.
- Noma S, Shimoda M, Hayakawa I (2002). Inactivation of Vegetative Bacteria by Rapid Decompression Treatment. *Journal of Food Science*, 67(9): 3408–3411.
- Ohshima T, Ushio H, Koizumi C (1993). High pressure processing of fish and fish products. *Trends in Food Science and Technology*, 4: 370-375.
- Okamoto M, Kawamura Y, Hayashi R (1990). Application of High Pressure to Food Processing: Textural Comparison of Pressure- and Heat-induced Gels of Food Proteins. *Journal Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1):183-189.
- Orlien V, Hansen E (2000). Lipid oxidation in high pressure processed chicken breast muscle during chill storage: Critical working pressure in relation to antioxidation mechanism. *European Food Research Technology*, 211: 99–104.
- Öz F, Kaya M (2006). Yüksek Basınç Uygulamasının Et Kalitesi Üzerine Etkisi Erzurum. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 37 (2): 249-255.
- Pagan R, Mackey B (2000). Relationship between Membrane Damage and Cell Death in Pressure-Treated *Escherichia coli* Cells: Differences between Exponential- and Stationary-Phase Cells and Variation among Strains. *Appl. Environ. Microbiology*, 66(7): 2829-2834.
- Pagan R, Jordan S, Benito A ve Mackey B (2001). Enhanced Acid Sensitivity of Pressure-Damaged *Escherichia coli* O157 Cells. *Appl. Environ. Microbiology*, 67(4):1983-1985.

- Park SW, Sohn KH, Shin JH, Lee HJ (2001). High hydrostatic pressure inactivation of *Lactobacillus viridescens* and its effects on ultrastructure of cells. *International Journal of Food Science Technology*, 36(7): 775-781.
- Park SJ, Park HW, Park J (2003). Inactivation Kinetics of Food Poisoning Microorganisms by Carbon Dioxide and High Hydrostatic Pressure. *Food Science*, 68(3): 976–981.
- Patterson MF, Quinn M, Simpson R, and Gilmour A (1995). Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffered saline and foods. *Journal Food Protection*, 58:524-539.
- Patterson MF (2005). Microbiology of pressure-treated foods: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 98:1400–1409.
- Perrier-Cornet JM, Marechal PA, Gervais P (1995). A new design intended to relate high pressure treatment to yeast cell mass transfer. *Journal of Biotechnology*, 41(1): 49-58.
- Picart L, Dumay E, Guiraud JP, Cheftel JC (2004). Microbial inactivation by pressure-shift freezing: effects on smoked salmon mince inoculated with *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus* and *L. innocua*. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37(2): 227-238.
- Picart L, Dumay E, Guiraud JP, Cheftel JC (2005). Combined high pressure-sub-zero temperature processing of smoked salmon mince: phase transition phenomena and inactivation of *L. innocua* *Journal of Food Engineering*, 68(1): 43-56.
- Pingen S, Sudhaus N, Becker A, Krischek C, Klein G (2016). High pressure as an alternative processing step for ham production Institute of Food Quality and Food Safety, University of Veterinary Medicine Hannover, Germany. *Meat Science*, 118: 22–27.
- Ponce E, Pla R, Capellas M, Guamis B, Mor-Mur M (1998a). Inactivation of *Escherichia coli* inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure. *Food Microbiology*, 15: 265–272.
- Ponce E, Pla R, Mor-Mur M, Gervilla R, Guamis B (1998b). Inactivation of *L. innocua* in liquid whole egg by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*, 61(1): 119–122.
- Raghuber EV (2007). The Effects of High Hydrostatic Pressure on Meats Avure Technologies Inc. *International Meat*, 7, No:5.
- Ramaswamy HS, Zaman SU, Smith JP (2008). High pressure destruction kinetics of *Escherichia coli* (O157:H7) and *L. monocytogenes* (Scott A) in a fish slurry *Journal of Food Engineering*, 87: 99–106.
- Rasanayagam V, Balasubramaniam VM, Ting E, Sizer CE, Bush C, Anderson C (2003). Compression Heating of Selected Fatty Food Materials during High-pressure Processing, 68(1): 254–259.

- Rastogi NK, Angersbach A, Knorr D (2000). Synergistic effect of high hydrostatic pressure pretreatment and osmotic stress on mass transfer during osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 45(1): 25-31.
- Rastogi NK, Raghavarao MS, Balasubramaniam VM, Niranjana K, Knorr D (2007). Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1): 69-112.
- Realini CE, Guardia MD, Garriga M, Pqrez-Juan M, Arnau J (2011). High pressure and freezing temperature effect on quality and microbial inactivation of cured pork carpaccio. *Meat Science*, 88(3), 542-547.
- Rendueles E, Omer MK, Alvseike O, Alonso-Callejaa C, Capita R, Prietoa M (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing. *Food Science and Technology*, 44: 1251-1260.
- Ritz M, Jugiau F, Rama F, Courcoux P, Semenou M, Federighi M (2000). Inactivation of *Listeria monocytogenes* by high hydrostatic pressure: effects and interactions of treatment variables studied by analysis of variance. *Food Microbiology*, 17: 375-382.
- Ritz M, Tholozan JL, Federighi M, Pilet MF (2001). Morphological and physiological characterization of *Listeria monocytogenes* subjected to high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 2240-2247.
- Rivalain N, Roquain J, Demazeau G (2010). Development of high hydrostatic pressure in biosciences: pressure effect on biological structures and potential applications in biotechnologies. *Biotechnology Advances*, 28 (6): 659–672.
- Ross A, Griffiths MW, Mittal GS, Deeth HC (2003). Combining Nonthermal Technologies to Control Foodborne Microorganisms, *International Journal of Food Microbiology*, 89: 125-138.
- Rubio B, Martínez B, García-Cachána D, Rovira J, Jaime Í (2007). Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef “Cecina de Leon” *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 8(1):102-110.
- Russell NJ, Evans RI, ter Steeg PF, Hellemons JC, Verheul A, Abee T (1995). Membranes as a target for stress adaptation. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 255-261.
- Russel (2002). Bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2): 27-34.
- Schenkova N, Šikulova M, Jelenikova J, Pipek P, Houška M, Marek M (2007). Influence of high isostatic pressure and papain treatment on the quality of beef meat. *High Pressure Research*, 27(1): 163-168.
- Serra X, Grèbol N, Guàrdia MD, Guerrero L, Gou P, Masoliver P, Gassiot M, Sárrag, C, Monfort JM, Arnau J (2007). High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. *Meat Science*, 75(1):21-28.

- Schindler S, Krings U, Berger RG, Orlie V (2010). Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Science*, 86(2)3: 17-323.
- Sekar A, Dushyanthan K, Radhakrishnan KT, Babu RN (2006). Effect of modified atmosphere packaging on structural and physical changes in buffalo meat. *Meat Science*, 72(2): 211-215.
- Shirsat N, Lyng JG, Brunton NP, McKenna B (2004). Ohmic processing: electrical conductivities of pork cuts. *Meat Science*, 67(3): 507–514.
- Shen T, Urrutia BG, Brul S, Knorr D (2005). Influence of high-pressure–low-temperature treatment on the inactivation of *Bacillus subtilis* cells. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(3): 271-278.
- Simpson RK, Gilmour A (1997). The effect of high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and model food systems. *Journal Applied Microbiology*, 83(2): 181-8.
- Sikes AL, Tobin Aarti B, Ron K, Tume AL (2009). Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 405–412.
- Sikes AL, Tornberg E, Tumea R (2010). A Proposed Mechanism of Tenderising Post-rigor Beef Using High pressure–heat treatment. *Meat Science*, 84(3): 390-399.
- Sikes AL, Warner R (2016). *Innovative Food Processing Technologies*. Part 3, 10: 259-284.
- Sikorski ZE (1978). Protein changes in muscle foods due to freezing and frozen storage Transformations des protéines dans les muscles par suite de la congélation et de l'entreposage à l'état congelé. *Refrigeration*, 1(3): 173-180.
- Sinhamahapatra M, BhatTMABharyya D, Biswas S (2013). Extension of shelf of chicken meatball by adopting combination of packing technique an storage temparature. School of Agriculture, Block-G, Academic Complex, Indira Gandhi National Open University, Maidan Garhi, New Delhi India.
- Smeller L (2002). Pressure-Temperature diagrams of biomolecules. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1595(1–2): 11-29.
- Smelt JPPM (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science&Technology*, 9(4): 152-158.
- Smelt JPPM, Hellomons JC, Brul S (2002). Physiological aspects of presurre decontamination in building inactivation models. *Progress in Biotechnology*, 19: 487-496.
- Sorenson D, Henchion M, Marcos B Ward P Mullen AM, Allen P (2011). Consumer acceptance of high pressure processed beef-based chilled ready meals: The mediating role of food-related lifestyle factors. *Meat Science*, 87(1): 81-87.

- Souza CM, (2010). The effect of high pressure processing on pork quality, shelf life palatability, and further processed products. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Animal Sciences in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign Urbana.
- Souza CM, Boler DD, Clark DL, Kutzler LW, Holmer SF, Summerfield JW (2011). The effects of high pressure processing on pork quality, palatability, and further processed products. *Meat Science*, 87 (4): 419-427.
- Spilimbergo S, Elvassore N, Bertucco A (2002). Microbial inactivation by high-pressure. *The Journal of Supercritical Fluids*, 22(1): 55-63
- Sun XD, Holley, RA (2010). High hydrostatic pressure effects on the texture of meat and meat products. *Journal of Food Science*, 75(1): 17–23.
- Suzuki A, Okamoto A, Ikeuchi Y and Saito M (1993). Pressure-induced Ca<sup>2+</sup> release from rabbit sarcoplasmic reticulum. *Bioscience Biotechnology Biochem*, 57: 862–863.
- Suzuki A, Ohtani E, Kato T (1992). Flotation of diamond in mantle melt at high pressure. *Science*, 257: 216-218.
- Suzuki A, Homma N, Fukuda A, Hirao K, Uryu T, Ikeuchi Y (1994). Effects of high pressure treatment on the flavour-related components in meat. *Meat Science*, 37(3): 369-379.
- Suzuki A, Kim K, Tanji H, Nishiumi T (2006). *Advanced Technologies For Meat Processing. Application of High Pressure to Meat and Meat Processing*, 194-212.
- Szerman N, Barrio Y, Schroeder B, Martinez P, Sancho AM, Sanow C, Vaudagna SR (2011). Effect of high hydrostatic pressure treatments on physicochemical properties, microbial quality and sensory attributes of beef carpaccio. *Procedia Food Science*, 1: 854-861.
- Tananuwong K, Chitsakun T, Tattiyakul J (2012). Effects of high pressure processing on inactivation of *Salmonella typhimurium*, eating quality and microstructure of raw chicken breast fillets. *Journal of Food Science*, 77(11): 321-327.
- Tanzi E, Sacconi G, Barbuti S, Grisenti MS, Lori D, Bolzoni S, Parolari G (2004). High-pressure treatment of raw ham. Sanitation and impact on quality. Food And Agriculture Organization Of the United Nations (Stazione Sperimentale per l'Industria delle Conserve Alimentari (SSICA), Italy.
- Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37(1): 44–48.
- Tassou CC, Galiatsatou P, Samaras FJ, Constantinou GM (2007). Inactivation kinetics of a piezotolerant *Staphylococcus aureus* isolated from high-pressure treated sliced ham by high pressure in buffer and in a ham model system: Evaluation in selective and non selective medium. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(4): 478-484.

- Tay A, Shellhammer TH, Yousef AE, Chism GW (2003). Pressure death and tailing behavior of *Listeria monocytogenes* strains having different barotolerances. *Journal of Food Protection*, 66: 2057-2061.
- ter Steeg PF, Hellemons JC, and Kok AE (1999). Synergistic actions of nisin, sublethal ultrahigh pressure, and reduced temperature on bacteria and yeast. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4148-4154.
- Ting EY, Marshall RG (2002). Production issues related to UHP food. Welte-Chanes J, Barbosa-Canovas GV, Aguilera JM (eds), *Engineering and food for the 21st century*, Food preservation technology series, CRC Press, Boca Raton, 727-738.
- Torres A, Velazquez G (2005). Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67(1-2): 95-112.
- Trujillo AJ, Capellas M, Saldo J, Gervilla R, Guamis B(2002). Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3: 295-307.
- Tuboly E, Lebovics VK, Gaal O, Meszaros L, Farkas J (2003). Microbiological and lipid oxidation studies on mechanically deboned turkey meat treated by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 56 (2-3): 241-244.
- Utrera M, Morcuende D, Estévez M (2014). Fat content has a significant impact on protein oxidation occurred during frozen storage of beef patties. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1): 62-68.
- Urrutia-Benet G, Balogh T, Schneider JD (2007). Metastable phases during high-pressure-low-temperature processing of potatoes and their impact on quality-related parameters. *Journal of Food Engineering*, 78(2): 375-389.
- Varlik C, Uğur M, Gökoğlu N, Gün H (1993). Quality control principles and methods in fishery products. Food Technology Association, Publication No: 17, Istanbul, 174.
- Vaudagna SR, Gonzalez CB, Guignon B, Aparicio C, Otero L, Sanz PD (2012). The effects of high hydrostatic pressure at subzero temperature on the quality of ready-to-eat cured beef carpaccio. *Meat Science*, 92(4): 575-581.
- Warnera RD, McDonnell CK, Bekhitc AED, Clausd J, Vaskoskaa R, Sikes A, Dunshea FR, Haa M (2017). Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. *Meat Science*, 132: 72-89.
- Wemekamp-Kamphuis HH, Wouters JA, De Leeuw PLA, Hain T, Chakraborty T and Abee T (2004). Identification of Sigma Factor  $\sigma^B$ -Controlled Genes and Their Impact on Acid Stress, High Hydrostatic Pressure, and Freeze Survival in *Listeria monocytogenes* EGD-e. *Applied Environmental Microbiology*, 70(6): 3457-3466.
- Witte VC, Krauce GF and Bailey, MC (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values for pork and beef during storage. *Journal Food Science*, 35: 582-585.

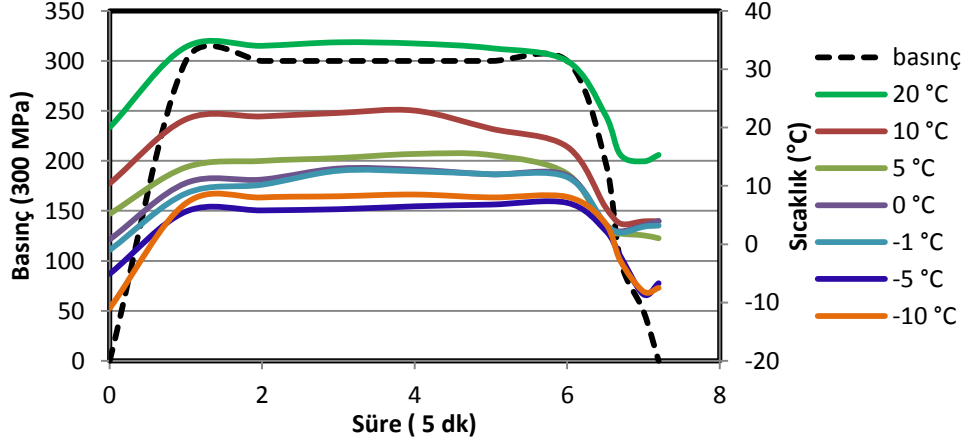
- Winter R, Jeworrek C (2009). Effect of pressure on membranes. From the Journal. Soft Matter, 17: 3157.
- Xanthakis E, Havet M, Chevallier S, Abadie J, Le-Bail A (2013). Effect of static electric field on ice crystal size reduction during freezing of pork meat. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 20: 115-120.
- Xiong YL(2000). Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality. Protein Oxidation and Implications Muscle Food Quality. A John Wiley Sons, Inc. Publication. Canada, 85-111.
- Yagiz Y, Kristinssona HG, Balaban M, Welta BA, Ralata M, Marshall MR (2009). Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon Food Chemistry, 4(15): 828-835.
- Yano Y, Nakayama A, Ishihara K, Saito H (1998). Adaptive changes in membrane lipids of barophilic bacteria in response to changes in growth pressure. Applied Environmental Microbiology, (64): 2479-485.
- YıldızG (2007). Ağrı ilinde Hazır Olarak Satışa Sunulan Kıyma Örneklerinin *Salmonella* spp. Yönünden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kars.
- Yılmaz İ (2005). Physicochemical and sensory characteristics of low fat meatballs with added wheat bran. Journal of Food Engineering, 69: 369-373.
- Yuste J, Mor-Mur M, Capellas M, Pla R(1998). Microbiological quality of mechanically recovered poultry meat treated with high hydrostatic pressure and nisin. Food Microbiology, 15(4): 407-414.
- Yuste J, Mor-Mur M, Capella M, Pla R (1999). *Listeria innocua* and aerobic mesophiles during chill storage of inoculated mechanically recovered poultry meat treated with high hydrostatic pressure. Meat Science, 53(4): 251–257.
- Yuste J, Pla R, Capellas M, Ponce, E (2000). High pressure processing applied to cooked sausages: Bacterial populations during chilled storage. Journal of Food Protection, 63(8): 1093-1099.
- Yuste J, Capellas M, Pla R, Fung YC D, Mor Mur M (2001). High pressure processing for food safety and preservation: A Review. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 9:1-10.
- Yuste J, Pla R, Capellas M, Mor-Mur M (2002). Application of high pressure processing and nisin to mechanically recovered poultry meat for microbial decontamination. Food Control, 13(6-7): 451-455.
- Zamri AI, Ledward DA, and Frazier RA (2006). Effect of Combined Heat and High-Pressure Treatments on the Texture of Chicken Breast Muscle (Pectoralis Fundus) School of Food Biosciences, The University of Reading, United Kingdom Journal Agriculture Food Chemical, 54(8): 2992–2996.

- Zare Z (2004). High presurre processing of fresh tuna fish and its effects on shelf life. Department of Foodscience and Agricultural Chemistry Macdonald Campus of McGill University Montreal, Quebec, Canada.
- Zhao Y, Flores RA and Olson DG(1998). High hydrostatic pressure effects on rapid thawing of frozen beef. *Journal Food Science*, 63(2): 272-275.
- Zhu S, Ramaswamy HS, Simpson BK (2004). Effect of high presurre versus conventional thawing on color, dripp loss and texture of Atlantic salmon frozen by different methods. *Food Science and Techonology*, 37(3): 291-299.
- Zhu S, Ramaswamy HS, Le Bai A (2005). Ice-crystal formation in gelatin gel during pressure shift versus conventional freezing. *Journal of Food Engineering*, 66(1):69-76.
- Zook CD, Parish ME, Braddock RJ, Balaban MO (1999). High Pressure Inactivation Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* Ascospores in Orange and Apple Juices, 64(3): 533–535.
- Zorba Ö ve Kurt Ş (2005).Yüksek Basınç Uygulamalarının Et ve Et Ürünleri Kalitesi Üzerine Etkisi Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(1): 71-76.
- Zorba N (2010). Gıda Kaynaklı İnvaziv Enfeksiyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi. 2. Baskı, Efil Yayınevi, Ankara, 134-137.

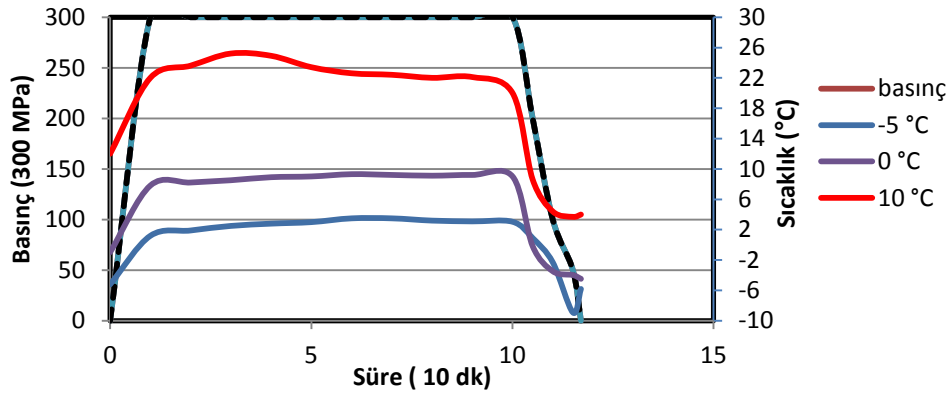


## EKLER

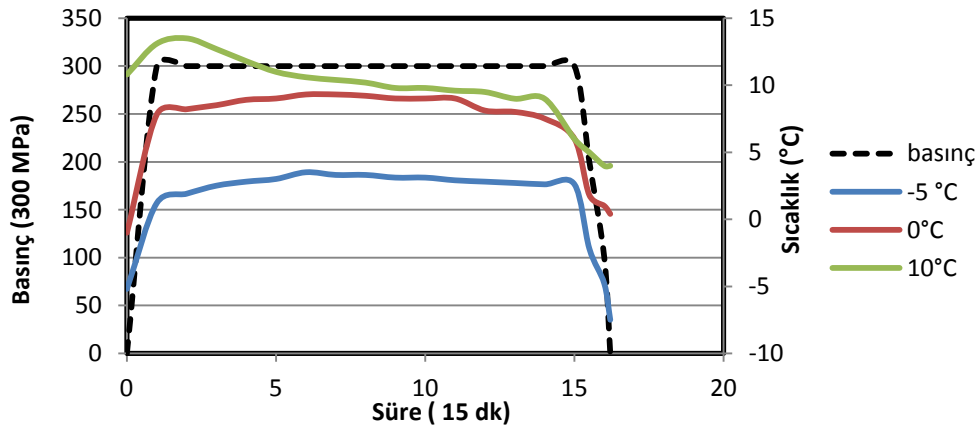
Ek 1. Basınç sıcaklık değişim profili (a) 300 Mpa, 5 dk (-10, 20 °C sıcaklık aralığı) (b) 300 MPa, 10 dk (-5, 10 °C sıcaklık aralığı) c) 300 MPa, 15 dk (-5, 10 °C sıcaklık aralığı) (d) 300-450 MPa aralığı (10 °C, 5 dk) e) 300-450 MPa aralığı (10 °C, 10 dk) f) 300-450 MPa aralığı (10 °C, 15 dk)



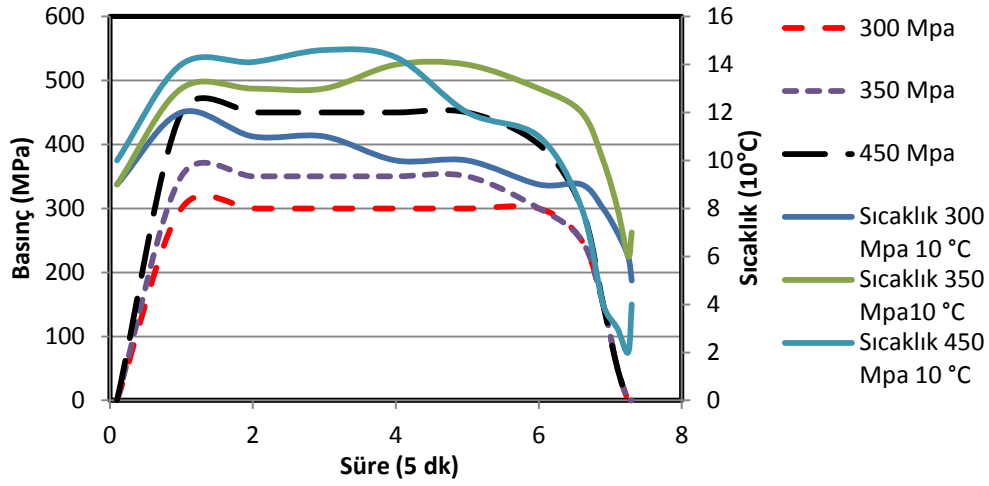
a)



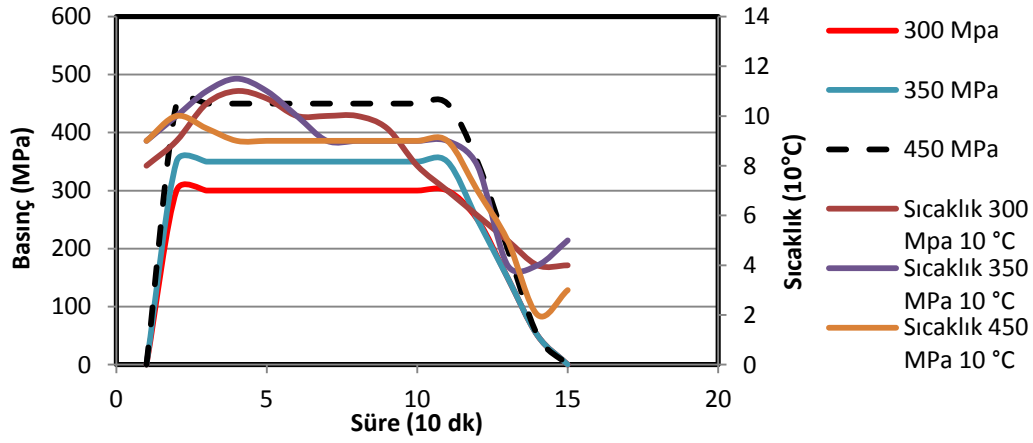
b)



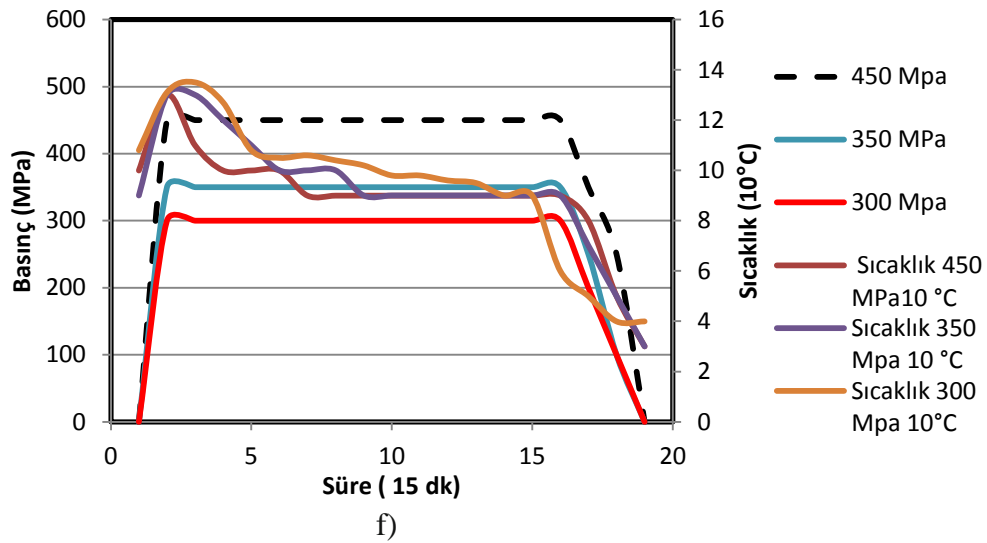
c)



d)



e)



f)

## ÖZGEÇMİŞ

1979 tarihinde Eskişehirde doğdu. 1998-2001 yılları arasında İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimini ve 2007 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında yüksek lisansını tamamladı. 2001-2003 yılları arasında Reis Tarımsal Ürünler San. Ve Tic. A.Ş.'de Gıda Mühendisi ve kalite sorumlusu olarak görev yaptı. 2003-2004 yılları arasında Ekin Tarım San ve Tic. Ltd. Şti.'inde üretim müdürü olarak çalıştı. 2004 yılından itibaren Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama hastanesinde mutfak sorumlusu olarak çalışmaktadır.

Tuğba ŞAYİN SERT