İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK DEPOLAMADA FARKLI SICAKLIK VE AMBALAJLAMA KOŞULLARININ KIYMANIN KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Semra PEKTAŞ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

OCAK 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK DEPOLAMADA FARKLI SICAKLIK VE AMBALAJLAMA KOŞULLARININ KIYMANIN KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Semra PEKTAŞ
(506101524)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necla ARAN
Tez Eş Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK

OCAK 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506101524 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Semra PEKTAŞ**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **"SOĞUK DEPOLAMADA FARKLI SICAKLIK VE AMBALAJLAMA KOŞULLARININ KIYMANIN KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ"** başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :	**Prof. Dr. Necla ARAN** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Tez Eş Danışmanı :	**Yrd. Doç. Dr. Neşe Şahin YEŞİLÇUBUK** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Jüri Üyeleri :	**Doç. Dr. Gürbüz GÜNEŞ** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
	Prof. Dr. Kamil BOSTAN İstanbul Aydın Üniversitesi	.....
	Prof. Dr. Harun AKSU İstanbul Üniversitesi	.....

Teslim Tarihi : **17 Aralık 2012**

Savunma Tarihi : **25 Ocak 2013**

ÖNSÖZ

"Soğuk Depolamada Farklı Sıcaklık ve Ambalajlama Koşullarının Kıymanın Kalite Parametrelerine Etkisi" konulu yüksek lisans tez çalışmam süresince görüş ve eleştirileri ile çalışmamı şekillendiren değerli danışman hocam Sn. Prof. Dr. Necla ARAN ve eş danışmanım Sn. Yrd. Doç. Dr. Neşe Şahin YEŞİLÇUBUK'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmamın her aşamasında desteklerini sunan Sn. Dr. Faruk BAYRAKTAR, Sn. Dr. Alper SOYSAL ve Sn. Dr. Mustafa SEZER'e teşekkür ederim.

Görüş ve tecrübelerini eksik etmeyerek destek olan Sn. Aylin MET'e çok teşekkür ederim.

Deneysel çalışmaların gerçekleştirilmesinde önemli yardımları bulunan Sn. Burcu YAKARTAŞ ve Sn. Serdar KOCATÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Sn. Zülbiye EKİZKUYU, Sn. Yasin İĞİT, Sn. Faruk KOCABIYIK, Sn. Pervin SAYGIN, Sn. Emine Füsun DUMAN, Sn. Gizemnur YILDIZ'a ve Sn. Esen KUVVET'e laboratuvar çalışmalarım boyunca verdikleri desteklerden dolayı çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında, her koşulda bana inanan aileme ve yakın arkadaşlarım İlkay ÇELEBİ, Esra AKMANLI'ya sevgilerimi sunarım.

Ocak 2013

Semra PEKTAŞ
Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
KISALTMALAR ..... **ix**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xi**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xiii**
ÖZET ..... **xv**
SUMMARY ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Mikrobiyal Flora 3
2.1.1 Gıdalarda mikrobiyal bozulmayı etkileyen faktörler 3
2.1.2 Farklı depolama koşullarında mikrobiyal gelişme 4
2.1.2.1 Kıymanın soğukta saklanması 6
2.1.2.2 Aerobik koşullarda depolama 7
2.1.2.3 Vakum veya MAP koşullarında depolama 8
2.2 Kıymanın Bileşimi ve Kıyma Bileşenlerinde Meydana Gelen Kimyasal Değişimler 9
2.2.1 Et bileşenlerinin bozulma bileşenlerine dönüşümü 12
2.2.2 Kıymada pH değişimi 15
2.2.3 Kıymada lipid oksidasyonu oluşumu 16
2.2.4 Kıymada koku bileşenlerinin oluşumu 18
2.2.5 Mikroorganizma sayısı ve kıymada bozulma arasındaki ilişki 22
2.2.6 Kıymada bozulma bileşenlerinin tespiti 22
2.3 Gıdalarda Raf Ömrü Modellemesi 24
2.3.1 Tahmini mikrobiyolojide kullanılan modeller 25
2.3.1.1 Biricil modeller 25
2.3.1.2 İkincil modeller 26
2.3.1.3 Üçüncül modeller 26
2.3.2 Ette tahmini mikrobiyal modellerin kullanımı 27
2.4 Ev Tipi Buzdolaplarında Soğutma Sistemi 27
2.4.1 Ev tipi buzdolaplarında sıcaklık dağılımı 28
2.5 Tepki Yüzey Yöntemi 29
3. MATERYAL VE METOT **33**
3.1 Materyal 33
3.1.1 Malzemeler 33
3.1.2 Ambalaj materyali 33
3.1.3 Test paketleri 33

3.2 Metot 34
3.2.1 Kıymaların hazırlanması 34
3.2.2 Mikrobiyolojik analiz 34
3.2.2.1 Örnek hazırlama ve sayım 34
3.2.3 pH ölçümü 35
3.2.4 Tiyobarbutirik asit (TBA) sayısının belirlenmesi 35
3.2.5 HS/SPME GC-MS 35
3.2.5.1 HS/SPME 35
3.2.5.2 GC-MS 36
3.2.6 Duyusal analiz 37
3.2.7 Deneysel tasarım 37
3.2.8 İstatistiksel analiz 39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 41
4.1 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 41
4.1.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı 41
4.1.2 *Pseudomonas* spp. gelişimi 44
4.2 Kıymada pH Değişimi 47
4.3 Kıymada Tiyobarbutirik asit (TBA) Sayısı Değişimi 53
4.4 Kıymada GC-MS ile Koku Bileşenlerinin Tespiti 58
4.5 Kıymada Duyusal Analiz Sonuçları 66
4.5.1 Genel izlenim sonucunun değerlendirilmesi 66
4.5.2 Duyusal kötü koku oluşumunun değerlendirilmesi 68
4.6 Bağımlı Değişkenler Arasında Korelasyonun İncelenmesi 72
4.7 İkincil Depolama Koşullarının Tepki Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu 73
4.7.1 Sonuçların izdüşüm grafikleriyle yorumlanması 80
5. SONUÇ 83
KAYNAKLAR 87
ÖZGEÇMİŞ 95
EKLER 97
Ek A1 : Duyusal analizde kullanılan örnek form 97
Ek A2 : Genel doğrusal modelleme istatistiksel analiz sonuçları 99

KISALTMALAR

a_w : Su aktivitesi
ADP : Adenozin difosfat
ANOVA : Varyans analizi
ATP : Adenozin trifosfat
BHA : Bütillendirilmiş hidroksi anizol
E(S)SO : Spesifik bozulma bakterileri
FTIR : Fourier dönüşüm kızılötesi
GC : Gaz kromatografisi
GC-MS : Gaz kromatografisi kütle spektrometresi
GLM : Genel doğrusal modelleme
HDPE : Yüksek yoğunluklu polietilen
HPLC : Yüksek basınç sıvı kromatografisi
HS/SPME : Headspace/Katı faz mikroekstraksiyon
kob : Koloni oluşturan birim
LAB : Laktik asit bakterisi
log : Logaritma
MAP : Modifiye atmosfer paketleme
MDA : Malondialdehid
NAD : Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
PET/PA : Polietilenteraftalaf/Poliamid
R^2 : Korelasyon katsayısı
TBA : Tiyobarbütirik asit
TCA : Trikloro asetik asit
VOCs : Uçucu organik bileşenler

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Kıymada raf ömrünü etkileyen iç ve dış faktörler 3
Çizelge 2.2: Taze kıymada sıklıkla bulunan bakteri, küf ve maya cinsleri 5
Çizelge 2.3: Kıymada bozulmaya neden olan bazı mikroorganizmalara ait gelişme koşulları 9
Çizelge 2.4: Yetişkin bir hayvandan elde edilen taze kıymanın ölüm sertliği sonrası kimyasal bileşimi 10
Çizelge 2.5: Kıyma bileşenlerinin aerobik bozulma sırasında çeşitli mikroorganizmalar tarafından kullanım sırası 11
Çizelge 2.6: Mikroorganizmaların kıymada gelişimi sonucu gözlemlenen bazı bozulma belirtileri 14
Çizelge 2.7: *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens* ve *Moraxella* gibi bazı Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen bozulma bileşenleri ve bu bileşenlerin öncül maddeleri 15
Çizelge 2.8: Taze biftekte tespit edilen temel aroma bileşikleri 20
Çizelge 2.9: Kıymada mikrobiyal bozulma ile oluşan koku bileşenleri 21
Çizelge 2.10: Farklı depolama koşullarındaki et ve et ürünlerinin raf ömrü değerlendirilmesinde kullanılabilecek bileşenlerin tespit edilme yöntemleri 23
Çizelge 2.11: Modellerin sınıflandırılması 25
Çizelge 3.1: Central Composite Face Design için kullanılan faktörler ve seviyeleri. 37
Çizelge 4.1: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait TMAB sayım ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları. 44
Çizelge 4.2: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait *Pseudomonas* spp ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları. 47
Çizelge 4.3: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait pH ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları. 52
Çizelge 4.4: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait TBA ortalamalarının (mg MDA kg^{-1}) Tukey testi karşılaştırma sonuçları. 57
Çizelge 4.5: Aerobik ve vakum pakette 4 ve 0°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenler 60
Çizelge 4.6: Aerobik ve vakum pakette 4°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenlere ait kromatografik alanlar 61
Çizelge 4.7: Aerobik ve vakum pakette 0°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenlere ait kromatografik alanlar 62
Çizelge 4.8: Depolama süresince farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait ortalama duyusal kötü koku puanlarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları. 70

Çizelge 4.9: Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde ikili ilgi tespit edilen bağımlı değişkenler ve Pearson korelasyon katsayıları. 72
Çizelge 4.10: Vakum pakette depolanan kıyma örneklerinde ikili ilgi tespit edilen bağımlı değişkenler ve Pearson korelasyon katsayıları. 73
Çizelge 4.11: Tepki Yüzey Yöntemi ile geliştirilen deney tasarımı ve gözlenen tepkiler 74
Çizelge 4.12: Etanol miktarına ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri. 74
Çizelge 4.13: TMAB sayısına ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri. 75
Çizelge 4.14: Duyusal kötü koku oluşumuna ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri. 75
Çizelge 4.15: Duyusal tüm izlenim değerlerine ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri. 76
Çizelge 4.16: Etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları. 77

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Buzdolabında buhar sıkıştırmalı soğutma çevrimi 28
Şekil 3.1: Test paketlerinin soğuma profilleri. 34
Şekil 3.2: Deneysel prosedürde ilk bölümde izlenen yönteme ait akış şeması. 38
Şekil 3.3: Deneysel prosedürde ikinci bölümde izlenen yönteme ait akış şeması..... 38
Şekil 4.1: Kıymada TMAB sayısı değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi. 42
Şekil 4.2: Kıymada TMAB sayısı değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi. 42
Şekil 4.3: Farklı depolama koşullarında kıyma örneklerinde tespit edilen TMAB sayım sonuçları..... 43
Şekil 4.4: Kıymada *Pseudomonas* spp. gelişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.. 45
Şekil 4.5: Kıymada *Pseudomonas* spp. gelişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi. 45
Şekil 4.6: Farklı depolama koşullarında kıyma örneklerinde tespit edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları. 46
Şekil 4.7: Kıymada pH değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi..... 48
Şekil 4.8: Kıymada pH değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi..... 48
Şekil 4.9: 4°C'de kıymada pH değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi. 49
Şekil 4.10: 0°C'de kıymada pH değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi. 50
Şekil 4.11: Aerobik pakette pH değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 51
Şekil 4.12: Vakum pakette pH değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 52
Şekil 4.13: Kıymada TBA değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi. 53
Şekil 4.14: Kıymada TBA değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi..... 54
Şekil 4.15: 4°C'de kıymada TBA değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi. 55
Şekil 4.16: 0°C'de kıymada TBA değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi. 55
Şekil 4.17: Aerobik pakette TBA değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 56
Şekil 4.18. Vakum pakette TBA değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 56
Şekil 4.19: HS/SPME GC-MS ile kıymada 0.gün (a); 4°C'de depolanan 6 günlük kıymada aerobik paketleme (b) ve vakum paketleme (c) ile görülen uçucu bileşenlere ait örnek profil. 59
Şekil 4.20: Farklı depolama koşullarında örneklerde asetoin (a), diasetil (b) ve etanol (c) miktarındaki değişim. 64

Şekil 4.21: Kıymada "genel izlenim" değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi. .. 66
Şekil 4.22: Kıymada "genel izlenim" değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının genel etkisi. 67
Şekil 4.23: Vakum (a) ve aerobik paketli (b) örneklerin 10. güne ait görünümleri... 67
Şekil 4.24: Kıymada "genel izlenim" değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi. 68
Şekil 4.25: Kıymada duyusal kötü koku oluşumunda interaksiyonların etki yüzdesi69
Şekil 4.26: Kıymada duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi. 69
Şekil 4.27: Aerobik pakette duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 71
Şekil 4.28: Vakum pakette duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi. 71
Şekil 4.29: Reaksiyon sonuçları ile etanol oluşumuna ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki. 78
Şekil 4.30: Reaksiyon sonuçları ile TMAB sayısına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki. 79
Şekil 4.31: Reaksiyon sonuçları ile duyusal kötü koku sonuçlarına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki. 79
Şekil 4.32: Reaksiyon sonuçları ile duyusal tüm izlenim sonuçlarına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki. 80
Şekil 4.33: Duyusal kötü koku oluşumunun sıcaklık ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği. 80
Şekil 4.34: Duyusal tüm izlenim değerlerinin sıcaklık ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği. 81
Şekil A1.1: Duyusal analizde kullanılan form örneği. 98
Şekil A2.1: TMAB sayısına ait kalıntı grafikleri. 100
Şekil A2.2: *Pseudomonas* spp. sayısına ait kalıntı grafikleri. 102
Şekil A2.3: pH değişimine ait ait kalıntı grafikleri. 104
Şekil A2.4: TBA değişimine ait kalıntı grafikleri. 106
Şekil A2.5: Duyusal genel izlenime ait kalıntı grafikleri. 108
Şekil A2.6: Duyusal kötü koku oluşumuna ait kalıntı grafikleri. 110

SOĞUK DEPOLAMADA FARKLI SICAKLIK VE AMBALAJLAMA KOŞULLARININ KIYMANIN KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ÖZET

Kıyma, yüksek oranda su (%75,0), protein (%18,5), yağ (%3,0), karbonhidrat (%1,0) ve inorganik madde (%1,0) içeriği nedeniyle uygun olmayan depolama koşullarında kolaylıkla bozulabilen gıdalar arasında ilk sıralarda yer almaktadır.

Mikrobiyal gelişim, oksidasyon ve enzimatik otoliz reaksiyonları, kıymada bozulmadan sorumlu üç temel mekanizmadır. Bu etkenler arasında mikrobiyal aktivitenin ette bozulmaya etkisi daha fazladır. Bununla birlikte, mikrobiyal enzimlerden daha çok mikrobiyal büyüme ile açığa çıkan metabolik yan ürünlerin bozulmada daha etkili olduğu bilinmektedir. Söz konusu ürünler, kıymada istenmeyen renk ve koku oluşumlarına ve dokuda birtakım değişikliklere neden olurlar.

Bu çalışma kapsamında, birinci bölümde, tüketici davranışına yönelik olarak ev tipi buzdolaplarında 4 ve 0°C'de aerobik ve vakum paketlerde depolanan kıymada, depolama süresince gerçekleşen kalite değişimleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Farklı depolama koşullarının etkilerinin kıyaslanmasında mikrobiyal sayım (toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı ve *Pseudomonas* spp. sayımı), lipid oksidasyonu (TBA sayısı), pH değişimi, HS/SPME GC-MS ile uçucu organik bileşen (VOCs) analizi ve duyusal analiz sonuçları kullanılmıştır. Depolama sıcaklığı (4 ve 0°C), depolama süresi ve paketleme tipinin (aerobik ve vakum) kıymanın kalite parametrelerine etkisinin istatistiksel değerlendirmesi için sonuçlara Genel Doğrusal Modelleme (GLM) uygulanmıştır. TBA sayısı, pH değeri, toplam mezofilik aerobik bakteri ve *Pseudomonas* spp. gelişimi, VOCs oluşumu, duyusal genel beğeni ve duyusal kötü koku oluşumu sonuçlarının incelenmesi sonucunda birbirleriyle ilişkili olduğu düşünülen bazı çıktılar için Pearson korelasyonu uygulanarak ilişkinin varlığı istatistiksel olarak tespit edilmeye çalışılmıştır. İkinci bölümde ise vakum pakette depolama yapılarak Tepki Yüzey Yöntemi ile optimum depolama koşulları ve tepkiler için model denklemleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Farklı depolama sıcaklığı, paketleme tipi ve depolama süresinin tüm ikili etkileri (sıcaklık*paket; sıcaklık*süre; paket*süre) ve üçlü (sıcaklık*paket*süre) etkisinin çoğu kalite parametresinin değişiminde etkili olduğu belirlenmiştir. Aerobik pakette depolanan kıymalar, vakum pakette depolananlara göre kalitelerini daha kısa sürede yitirmişlerdir. 4°C'de depolama ile aerobik-vakum paketli örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri ve *Pseudomonas* spp. sayıları arasında fark gözlemlenirken 0°C'nin fark oluşturmadığı belirlenmiştir. Her iki depolama sıcaklığında da aerobik paketli kıymalarda pH değerinin depolama süresince arttığı; vakum paketli örneklerde ise azaldığı belirlenmiştir. En yüksek pH değerleri, 4°C'de aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde tespit edilmiştir. Aerobik paketlenen örneklerin vakum paketli örneklere göre daha yüksek TBA sayısına sahip olduğu ve yüksek sıcaklığın (4°C) oksidasyonda daha etkili olduğu belirlenmiştir. Duyusal analiz sonuçları ele alındığında vakum paketli örneklerin, aynı sıcaklıktaki aerobik

paketli örneklerdeki bozulmuş koku seviyesine yaklaşık 8 gün sonra ulaştığı belirlenmiştir. Genel izlenim (0-5/çok kötü-çok iyi) değerlendirmesinde sınır koşul "3 puan" olarak değerlendirildiğinde, aerobik paketlenen örneklerin depolamanın 2. gününden; vakum paketlenen örneklerin ise 4. günden itibaren kalitelerini kaybetmeye başladığı belirlenmiştir. Head space (HS) katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) GC-MS ile koku tespiti, çalışmada en önemli kısmı oluşturmaktadır. Farklı koşullarda depolama ile kıymada önemli düzeylerde keton (asetoin, diasetil); alkol (etanol, 1-bütanol-3-metil, 1-pentanol, 1-hekzanol) ve ester (etil asetat) bileşikleri tespit edilmiştir. VOCs bileşenlerinden, aerobik pakette depolanan kıymada asetion ve diasetilin; vakum depolamada ise etanolün bozulma göstergeci olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir. Aerobik pakette depolanan kıymalarda asetoin konsantrasyonu ile duyusal genel izlenim arasındaki korelasyonun (r=-0,910) kıymada raf ömrü tahminlemesinde önemli olduğu belirlenmiştir. Duyusal kötü koku oluşumu ile toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı arasında da yüksek korelasyon tespit edilmiştir (r=0,939). Artan etanol konsantrasyonu ile panellerde tespit edilen kötü koku oluşumu arasındaki korelasyonun (r= 0,819) vakum pakette depolanan kıyma örneklerinin raf ömrü değerlendirmesinde önemli bir yol gösterici olabileceği tespit edilmiştir.

Tepki yüzey yönteminde seçilen farklı faktörlerin etkilerinin incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesi amacıyla, 3 seviyeli Central Composite Face Design kullanılarak depolama sıcaklığı (T, ºC) [(-2)-4 ºC] ve depolama süresi (t, gün) [2-8 gün] değişken (faktör) olarak seçilmiştir. Depolama süresi sonunda seçilen tepkiler [etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku oluşumu ve duyusal tüm izlenim] için "çoklu regresyon" yöntemi uygulanarak uygun lineer veya kuadratik modeller elde edilmiştir.

Optimizasyon kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, kurulan modelin duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçları için uygun olduğu belirlenmiştir. Optimum depolama sıcaklığı -2°C; depolama süresi ise 2 gün olarak tespit edilmiştir. -2°C'de depolama ile örnek kalitesinin 8 günlük depolama süresince korunduğu gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, soğuk depolama süresince kıymanın kalitesinde gözlemlenen mikrobiyal, kimyasal ve fiziksel değişimler bütünsel bir yaklaşımla incelenmiştir. Mikrobiyal gelişim, kıymanın metabolik profilinin tespiti amacına yönelik olarak ele alınan TBA sayısı, pH değeri, VOCs oluşumu, duyusal genel beğeni ve duyusal kötü koku oluşumu gibi analizlerle birlikte incelenmiştir. HS/SPME GC-MS analizleri, farklı koşullarda depolanan kıymaların dinamik koku profilinin oluşturulmasında yararlı olmuş ve bu yöntem kullanılarak depolama koşullarına spesifik indikatör koku bileşenleri tespit edilmiştir. Çalışma sırasında ele alınan çoğu kalite parametresinin korelasyonu ile bozulmanın en hızlı şekilde tespitine yönelik indikatör bozulma göstergeleri belirlenmiştir. Çalışmanın farklı özellikte (pH, yağ bileşimi, renk, başlangıç TMAB sayısı vb.) kıyma kullanımıyla tekrarlanmasının, oluşturulan yöntemin ve sonuçların doğrulanması için faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca birden fazla indikatörün aynı anda kullanımıyla kıymada kalite kaybının en az hatayla tespit edilebileceği düşünülmektedir.

EFFECTS OF TEMPERATURE AND PACKAGING CONDITIONS ON MINCED MEAT QUALITY DURING COLD STORAGE

SUMMARY

Fresh minced meat approximately contains 75,0% water, 18,5% protein, 3,0% lipids, 1,0% carbohydrate and 1,0% inorganic material which are prevalently used for most of the microorganisms. Therefore, minced meat is one of the most perishable foods according to its high protein, fat, water and carbohydrate content under improper storage conditions.

Microbial growth, autolysis and enzymatic oxidation reactions are the main three mechanisms responsible for minced meat spoilage. The effect of microbial activity on spoialge is much more prevalent. Although many of the microorganisms which spoil minced meat are proteolytic, microbial growth is firstly seen in the water phase of minced meat. Glucose is the first energy source used in the metabolic pathway; lactate and amino acids are depleted as second and third eneryg sources respectiveley. As a consequence of spoilage reactions, different metabolic by-products are produced. These metabolic by-products generate undesirable color, odor and textural changes on minced meat. Undesirable odor and gas formation, souring, adhesive layer formation on the surface, color and pH changes and decomposition of the structural components are seen after microbial reactions. Rancidity and odor formation are seen due to the lipid oxidation; however softening and undesirable color changes are established because of the oxidative reactions.

In this study, in the first section, quality changes of aerobic and vacuum packed minced meat stored at 4 and 0°C which reflect the consumer behavior were evaluated in detail. Comparison effects of different storage conditions were determined by microbial counts (total mesophilic aerobic bacteria and *Pseudomonas* spp. counts), lipid oxidation (TBA number), pH change, HS/SPME GC-MS volatile organic components (VOCs) and sensory analysis. Storage temperature (4 and 0°C), storage time and packaging type (aerobic and vacuum) effects were computed by statistical analysis using General Linear Modelling (GLM). Pearson's correlation coefficient was statistically tried to determine the existence of any relationship among TBA, pH, total mesophilic aerobic bacteria and *Pseudomonas* spp. counts, formation of VOCs, sensory bad taste and sensory off-odor. In the second section, optimum storage conditions and estimated model equations were evaluated with Response Surface Method under vacuum packaging conditions.

All binary effects (temperature*package; temperature*time; package*time) and triple effect (temperature*package*time) of different storage temperatures, type of packaging and storage time were found to be effective on most quality parameters. Aerobically packed minced meats lost their quality earlier than the vacuum packaged ones. At 4°C, total mesophilic aerobic bacteria and *Pseudomonas* spp. counts differed between aerobic and vacuum packed samples; however no differences were observed at 0°C. pH increment in aerobic packaged samples and decrement in vacuum packed ones were determined. pH increase in aerobic packaged samples

were as a result of metabolic activity of microorganisms in the presence of oxygen whereas lactic acid bacteria in vacuum packed ones. The highest pH values were obtained at 4°C with aerobic packed minced meat samples. Aerobic packaged samples had higher TBA values rather than the vacuum packed ones. High-temperature (4°C) was determined to be more effective during oxidation. Considering the results of the sensory analysis, vacuum packed samples, at the same temperature with aerobic ones, were evaluated as bad smelled for about 8 days after the aerobic ones. If boundry level of overall impression (0-5/very bad-very good) is accepted to be "3 points", all in all samples of aerobic packed ones were interpreted with bad quality after 2. day and 4^{th} day for vacuum packaged ones. Headspace (HS) solid-phase microextraction (SPME) with GC-MS odor detection is the most important part of this study. Significant levels of ketones (acetoin, diacetyl); alcohol (ethanol, 1-butanol-3-methyl, 1-pentanol, 1-hexanol) and ester (ethyl acetate) compounds were identified under different conditions. In aerobic packed minced meat, acetoin and diacetyl; in vacuum packed minced meat, ethanol could be used as indicators in meat deterioration. The correlation between the sensory overall impression and the acetoin concentration (r=-0.910) was useful for shelf-life estimation in aerobically packed minced meat samples. High correlation was also found between total mesophilic aerobic bacteria counts (r=0.939) and sensory bad odor formation. Increasing amount of ethanol and sensory bad odor formation were well correlated (r=0.819) in vacuum packaged minced meat samples. This was also an important guideline for shelf-life evaluation of vacuum packed minced meat.

The models that give the responses for the chosen system parameters were presented in the second section of this thesis. The results obtained by the model were shown and analyzed. The experimental results and the results obtained by the models were compared and the validity of the modelled results were shown.

Circumscribed Central Composite Face Design with three levels was used to investigate the effects of chosen different factors in Response Surface Method and the variables (factors) studied were: storage temperature (T, ºC) [(-2)-4 ºC] and storage time (t, days) [2-8 days]. Design had 11 test points with 3 central points. Linear or quadratic models were obtained by the application of "multiple regression" methods for chosen responses [amount of ethanol, total mesophilic aerobic bacteria counts, sensory bad odor formation and sensory overall impression] after storage period. Regression coefficients (β) and significance levels (P value) were evaluated statistically as well.

According to the optimization studies, sensory off-odor and sensory overall impression results fitted well with the model equations whereas ethanol formation and total mesophilic aerobic bacteria counts could not evaluated with any model. With respect to the regression coefficients (β) and significance levels (P value), temperature and storage period were found to be important parameters both sensory off-odor and sensory overall impression. Obtained models were linear for these two responses.

In accordance with regression coefficients (β) and statistical analysis, sensory off-odor and sensory overall responses having high model accuracy and correlation coefficients (R^2) were interpreted in the contour plots with temperature and storage period parameters.

Temperature was determined to be much more effective on sensory off-odor formation rather than storage period in the contour graph. Stronge off-odor formation

was seen at 4°C after the fifth day. However, sensory overall impression was effected by temperature and storage period at the same time. Acceptable sensory overall impression results were obtained with -2°C storage temperature or on the early days of other storage temperatures.

Optimum storage conditions were determined to be -2°C storage temperature and 2 days of storage period. Targeted product specification at these storage conditions was expected to have low sensory off-odor (0,3 scores out of 0-5/absent-strong scale) and high sensory overall impression (4,3 scores out of 0-5/very bad-very good scale) scores. Linear models estimated 0,5 sensory off-odor and 4,1 sensory overall impression scores which were quite close to the targeted results. Besides this, vacuum packed minced meat stored at optimum temperature (-2°C) for eigth days had 0,58 and 3,7 sensory off-odor and sensory overall impression scores respectively. Minced meat quality was maintained at -2°C storage temperature during eight days with respect to the linear model results and contour plots.

In this thesis, microbial, chemical and physical changes which affect minced meat quality under cold storage temperatures were evaluated in detail in a holistic approach. Microbial analysis (total mesophilic aerobic bacteria and *Pseudomonas* spp. counts) were performed in accordance with lipid oxidation (TBA value), pH change, HS/SPME GC-MS volatile organic components (VOCs) and sensory analysis which were handled all together to obtain comprehensive metabolic profile of minced meat. HS/SPME GC-MS analysis were useful to identify dynamic odor profile of minced meat stored at different conditions. With the help of this method, product specific indicative odor components were detected for different storage conditions. Correlations established between all quality parameters gave also a good approach to identify some indicators. These indicators are thought to be useful to determine spoilage rapidly. Repeatability and reproducability of the methods should be verified working with a different minced meat batch i.e having different pH, lipid percent, color, initial total mesophilic aerobic counts etc. In addition, the quality change of minced meat could be determined with any or little loss with the use of more than one indicators simultaneouly.

1. GİRİŞ

Gıdalar yapılarında doğal olarak bulunan enzimlerin, mikrobiyal floranın aktivite göstermeleri ve çeşitli fiziksel, kimyasal değişimler sonucunda tüketilemeyecek niteliğe bürünebilirler. Gıdalarda gerçekleşen bu oluşum "bozulma" olarak adlandırılır (Dave ve Ghaly, 2011).

Kıyma yüksek oranda yağ, protein, su, mineral, vitamin içeriği ile, uygun olmayan depolama koşullarında kolaylıkla bozulabilen gıdalar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Bozulma etkenlerinin en önemlisi, etin doğal florasında bulunan çeşitli mikroorganizmalardır (Jay ve diğ., 2003; Serdaroğlu, 2010).

Mikrobiyal gelişim, oksidasyon ve enzimatik otoliz reaksiyonları, Kıymada bozulmadan sorumlu üç temel mekanizmadır. Bu etkenler arasında mikrobiyal aktivitenin kıymada bozulmaya etkisi daha fazladır. Bununla birlikte, mikrobiyal enzimlerden daha çok mikrobiyal büyüme ile açığa çıkan metabolik yan ürünlerin bozulmada daha etkili olduğu bilinmektedir (Dave ve Ghaly, 2011).

Bu çalışmada, farklı sıcaklıklarda muhafaza koşullarının kıymanın kalite parametrelerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde, farklı sıcaklık ve sürelerde aerobik ve vakum paketlerde depolanan kıyma örneklerinde mikrobiyal sayım, pH, TBA, GC-MS ile uçucu organik bileşen analizleri ve duyusal analizler yapılarak bozulmanın tespit edilmesi hedeflenmiştir. İkinci bölümde ise vakum pakette depolamada depolama sıcaklığı ve depolama süresi faktörlerinin etkisinin incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesi amacıyla deneysel tasarım uygulamasından yararlanılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Mikrobiyal Flora

2.1.1 Gıdalarda mikrobiyal bozulmayı etkileyen faktörler

Mikroorganizmalar gıdalarda olumlu veya olumsuz pek çok değişime neden olurlar. Gıdalar bitki ve hayvan kökenli olmaları nedeniyle bitki ve hayvan dokularında mikroorganizmaların gelişmelerine etki edecek faktörlerin belirlenmesi, bu değişimlerin takip edilebilmesi açısından önem taşımaktadır. Gıdalarda mikrobiyal gelişmeyi etkileyen en önemli faktörler, "iç" ve "dış" faktörler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Su aktivitesi (a_w), asitlik, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli, antimikrobiyal bileşikler ve gıdanın besin içeriği en önemli iç faktörleri oluştururken gıdanın depolama sıcaklığı, çevrenin bağıl nemi, çevredeki gaz bileşimleri vb. ise dış faktörleri oluşturmaktadır. Gıdaların işlenmesi sırasında ortaya çıkan fiziksel ve kimyasal işlemler de gıdanın mikrobiyal florasını etkilemektedir. Çoğu zaman, çeşitli faktörlerin etkileşimi ile kıymada kalitenin değiştiği gözlenmektedir (Nychas ve Skandamis, 2005). Kıymada raf ömrünü etkileyen iç ve dış faktörlere Çizelge 2.1'de yer verilmiştir (Dave ve Ghaly, 2011).

Çizelge 2.1: Kıymada raf ömrünü etkileyen iç ve dış faktörler (Dave ve Ghaly, 2011).

FAKTÖRLER	
İç	Etin elde edildiği hayvanın türü (sığır, keçi, domuz vb.)
	Beslenme özellikleri
	Hayvanın yaşı
	Başlangıç mikroflora
	Kimyasal özellikler (peroksit değeri, pH, a_w, asitlik, redoks potansiyeli)
	Ortam atmosfer bileşimi
	Proses koşulları
	Hijyenik koşullar
Dış	Sıcaklık
	Paketleme (ambalaj materyali, gazlar vb.)

2.1.2 Farklı depolama koşullarında mikrobiyal gelişme

Kıymanın mikrobiyolojik kalitesi, hayvanın fizyolojik özellikleri başta olmak üzere kesim ve kıymanın işlenme anındaki kontaminasyona, sıcaklığa, depolama ve dağıtım basamakları esnasındaki diğer faktörlere bağlıdır (Nychas ve diğ., 2008). Kıyma aynı zamanda, içerdiği yüksek besleyici değerli bileşimleri, uygun pH ve su aktivitesi (aw) değerleri ile çoğu mikroorganizmaların gelişimi için ideal bir ortamdır. Kıymada, işlenme esnasında araçlarla ve/veya çalışanlarla temas nedeniyle bozucu etkenler ve patojen bakterilerlerin bulaşma olasılığı her zaman mümkündür. Etin yüzeyinde doğal olarak bulunan mikroorganizmalar, karıştırma işlemleri sırasında ürünün her tarafına dağılmakta, uygun şartlar (pH, sıcaklık, su aktivitesi, oksido-redüksiyon potansiyeli v.s.) altında gelişerek ürünün dayanıklılık süresini azaltmakta ve tüketici sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır.

Kıymanın depolanması sırasındaki ekolojik belirleyiciler, zaman içerisinde belirli bir mikrobiyal ortaklığın kurulmasına izin verir ve mevcut koşullarda, maksimum popülasyon hızına sahip olan spesifik bozulma mikroorganizmalarının "E(S)SO" (Ephemeral [specific] spoilage microorganisms) gelişmelerine olanak sağlarlar (Nychas ve Skandamis, 2005).

Taze kıymanın mikroflorasını çeşitli bakteri, küf ve maya cinsleri oluşturmaktadır. *Pseudomonas, Aeromonas, Moraxella, Psychrobacter* gibi Gram-negatif bakteriler taze kıymada hakim mikroflorayı oluşturmaktadır.

Gram-pozitif bakteriler arasında *Enterococcus, Lactobacillus* cinsleri yaygın olarak bulunmaktadır. Taze kıymalarda ayrıca *Cladosporium, Geothrichum, Mucor, Rhizopus* ve *Thamnidium* gibi küfler; *Candida* ve *Torulopsis* gibi mayalar da saptanmıştır (Jay ve diğ., 2003).

Taze kıymada gözlemlenen bozulmalar aerobik veya anaerobik koşullarda meydana gelmektedir.Aerobik koşullarda *Pseudomonas* spp., aerobik ve/veya anaerobik koşullarda *Brochothrix thermosphacta*, vakum/MAP koşullarında ise laktik asit bakterileri ve *Shewanella putrefaciens,* soğukta saklanan çiğ kıymada bozulmadan sorumlu başlıca mikroorganizmalar olarak bilinirler (Doulgeraki ve diğ., 2012; Ercolini ve diğ., 2006). Çizelge 2.2 ile taze kıymada tespit edilen bakteri, küf ve maya cinslerine yer verilmiştir (Jay ve diğ., 2003).

Çizelge 2.2: Taze kıymada sıklıkla bulunan bakteri, küf ve maya cinsleri (Jay ve diğ., 2003).

BAKTERİ	BULUNMA SIKLIĞI	KÜF VE MAYA	BULUNMA SIKLIĞI
Acinetobacter	XX[(1)]	*Alternaria*	X
Aeromonas	XX	*Aspergillus*	X
Alcaligenes	X[(2)]	*Cladosporium*	XX
Bacillus	X	*Fusarium*	X
Brochotrix	X	*Geotrichum*	XX
Citrobacter	X	*Mucor*	XX
Clostridium	X	*Penicillium*	X
Corynebacterium	X	*Rhizopus*	XX
Enterobacter	X	*Sporotrichum*	XX
Enterococcus	X	*Thamnidium*	XX
Escherichia	XX	*Candida* (maya)	XX
Flavobacterium	X	*Cryptococcus* (maya)	X
Kuthia	X	*Debaryomyces* (maya)	X
Lactococcus	X	*Hansenula* (maya)	X
Lactobacillus	X		
Leuconostoc	X		
Listeria	X		
Micrococcus	X		
Moraxella	XX		
Pseudomonas	XX		
Psychrobacter	XX		
Salmonella	X		
Serratia	X		
Staphylococcus	X		
Weissella	X		
Yersinia	X		

[(1)]XX: Sıklıkla saptanan mikroorganizmalar, [(2)] X: Saptanan mikroorganizmalar

2.1.2.1 Kıymanın soğukta saklanması

Bütün muhafaza yöntemlerinde olduğu gibi kıymanın soğukta saklanmasında da göz önünde tutulan en önemli nokta, ortamdaki mikroorganizmaların çoğalma faaliyetlerinin durdurulması ve normal depolama koşulları süresince gözlemlenen fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olayların mümkün olduğu kadar önlenmesidir. Soğukta saklama, kaliteyi düzeltmez; ancak var olan kalitenin devamını sağlar.

Kıymanın bozulmasını etkileyen en önemli faktörün depolama sıcaklığı olduğu bilinmektedir (McDonald ve Sun, 1999). Son derece hassas ve dayanıksız bir gıda maddesi olan kıymada gözlemlenebilecek bozulma reaksiyonlarının önüne geçilmesi amacıyla kıymalar, 0-4°C'de buzdolabında soğukta muhafaza edilir (TS 6160; TS 11566). Çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları tebliğine göre ise bu değerin 2°C'nin altında olması gerektiği vurgulanmıştır (Anonim, 2013). James ve diğ. (2008), kıymanın, tavsiye edilen sıcaklık değerinden 1ºC daha sıcak ortamda depolanmasıyla bile kalitesinde ciddi olumsuz sonuçlar gözlemlenebileceğine dikkat çekilmişlerdir. James ve James (2002), depo sıcaklığındaki 2-3ºC artışın, soğukta saklanan kıymanın raf ömrünü yarıya düşüreceğini belirtmişlerdir. İsveç'te, tüketicilerin %22'sinin kıymayı 4°C'nin üzerinde depoladığına dikkat çekilmiştir (James ve James, 2008).

Soğukta saklama, bir taraftan bozulmanın niteliğini değiştirirken diğer taraftan da bozulma reksiyonlarının hızını etkileyebilir. Düşük sıcaklık değişimleri, mezofillerin gelişimini engelleyip psikrotrofların ortama hakim olmasını tetikleyebilir. Soğukta gelişebilen psikrotrofların gelişiminin yavaş olması nedeniyle bozulma daha uzun sürede ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, soğukta saklama sıcaklıklarındaki değişimin kıyma kalitesi üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır (Adams ve Moss, 1995).

Soğukta saklama sırasında uygulanan soğuk şokunun etkisi mikroorganizma türü (Gram-pozitifler, Gram-negatiflere göre daha duyarlıdır), mikroorganizmanın büyüme evresi (hızlı gelişme evresindeki hücreler, durağan fazdaki hücrelere göre daha duyarlıdır), soğuma hızı (yüksek sıcaklık değişimi hücrelere daha çok zarar verir) ve mikroorganizma büyüme ortamı (kompleks ortamlarda, besiyerlerinde gelişen mikroorganizmalar daha dayanıklıdır) gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Adams ve Moss, 1995).

2.1.2.2 Aerobik koşullarda depolama

Sağlıklı hayvandan uygun koşullarda elde edilen kıyma, renk, pH, protein içeriği, nem vb. birtakım kalite özelliklerine sahiptir. Kesim öncesi ve kesim sırasında hayvanın maruz kaldığı durum, kesim sonrası çevresel koşullar ve karkas parçalama işlemleri, taze etin görünüş, renk, tat ve koku gibi özelliklerini etkilemektedir. Söz konusu faktörler çoğaldıkça ve faktörlerin etki süreleri uzadıkça kıyma kalitesindeki kayıplar artmaya devam eder (Muchenje ve diğ., 2009).

Bakteriler arasında baskın olan mikroorganizma türü *Pseudomonas* spp.'dır (Gill ve Newton, 1977; Doulgeraki ve diğ., 2012; Ercolini ve diğ., 2009; Koutsoumanis ve diğ., 2006). Aerobik özellik gösteren *Pseudomonas* spp'ın depolama ortamında %1,2-18,7 seviyesinde oksijen bulunduğunda kıymada gelişebildiği bilinmektedir (Chung ve diğ., 2002). Aerobik koşullar ve 20ºC depolama sıcaklığında, ortamdaki mikroorganizmaların %60'ını Pseudomonad oluştururken sıcaklığın 30ºC'ye yükselmesi ile Pseudomonad oranının %20'nin altına düştüğü; psikrofil ve mezofil türlere sahip olan aerobik özellik gösteren *Acinetobacter* ve Enterobacteriaceae'nın ortama hakim olmaya başladığı belirlenmiştir (Gill ve Newton, 1980). Baxter (2000) ise aerobik koşullarda depolanan Kıymalarda, bozulmadan sorumlu mikrofloranın %90'ının *Pseudomonas* spp. tarafından oluşturulduğunu belirtmiştir. Pseudomonad grubu mikroorganizmaların kıymada neden olduğu bozulma ile koku ve yapışkan yüzey oluşumunun 0ºC'de depolama ile 10.günde; 5ºC'de depolama ile de 5.günde gözlemlendiği belirlenmiştir (Hood ve Mead, 1993).

Aerobik koşullardaki kıymada gerçekleşen bozulma, organik moleküllerin daha küçük bileşenlere ayrıldığı "çürüme" olarak tanımlanır ve ortama hakim Gram-negatif bakterilerin (*Pseudomonas* spp.) proteolitik aktiviteleri ve kötü koku oluşturma özellikleri neticesinde kıyma tüketilebilme özelliklerini yitirir (Nychas ve diğ., 1998; Ercolini ve diğ., 2009). Düşük sıcaklık ve aerobik koşulda depolanan kıymadaki mikrobiyal ilişki, mikroorganizmaların oksidatif metabolizmalarına bağlıdır: Gram-negatif bakterileri aerobik olabildikleri gibi fakültatif anaerob da olabilirler.

Aerobik koşullarda *Pseudomonas* spp. arasından özellikle *Ps. fragi*, *Ps. fluorescence*, *Ps.putida* ve *Ps.ludensis* öne çıkarken; *Brochothrix thermosphacta* ve soğuğa dayanıklı fakültatif anaerobik Enterobacteriaceae (örneğin *Hafnia alvei*, *Serratia*

liquefaciens ve *Enterobacter agglomerans*) de bu koşullarda gözlemlenebilir (Borch ve diğ., 1996; Nychas ve diğ., 1998; Doulgeraki ve diğ., 2012; Ercolini ve diğ., 2006; Koutsoumanis ve diğ., 2006). Laktik asit bakterileri (LAB), soğukta ve aerobik koşullarda saklanan kıymada tespit edilse de koyun eti dışındaki etlerde bozulmadan sorumlu mikroorganizma grubu olarak kabul edilmemektedir (Holzapfel, 1998).

2.1.2.3 Vakum veya MAP koşullarında depolama

Gaz kombinasyonları, genellikle oksijen, karbondioksit ve nitrojen karışımları, kıymanın modifiye atmosferde ambalajlanmasında (MAP) yaygın olarak kullanılmaktadır. MAP uygulanan kıymanın raf ömrü, uygulanan atmosfer koşulları, depo sıcaklığı ve et türüne bağlı olarak değişmektedir. Buna bağlı olarak hem MAP hem de vakum uygulamasında etin mikrobiyal florası ve bozulma reaksiyonunun türü değişebilmektedir.

MAP uygulamasında karbondioksit oranının arttırılması yoluyla bakteri gelişiminin (özellikle Pseudomonad) yavaşlatılması neticesinde gözlemlenen bozulmanın aerobik koşullardaki bozulmadan daha sonra gerçekleşeceği bildirilmiştir. Gram-pozitif bakteriler, homo- ve heterofermantatif LAB *(Lactobacillus, Leuconostoc, Lactococcus* ve *Carnobacterium* spp.) yüksek oranda karbondioksit içeren ortamlarda ve vakum koşullarında ette gelişebilirler (Blixt ve Borch, 1999; 2002; Doulgeraki ve diğ., 2012; Ercolini ve diğ., 2006).

Fakültatif anaerobik Enterobacteriaceae (örneğin *H. alvei, S. liquefaciens* ve *E. agglomerans*) da vakum paketlenmiş yüksek pH'lı DFD (koyu, sıkı, kuru) etlerde gelişir; organik asit ve H_2S üreterek ette bozulmaya neden olur (Doyle, 2007).

Vakum paketleme ile paket içinde bulunan %2 civarındaki oksijen varlığı nedeniyle taze bifteklerde *Pseudomonas* spp. gelişimi görülür. Mayr ve diğ. (2003), vakum paketleme ile 0. günde taze bifteklerde tespit edilen toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının %9'unu *Pseudomonas* spp.'ın oluşturduğunu ve bu oranın, depolamanın 11. gününde %18'e yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Aerobik pakette depolamada, *Pseudomonas* spp. oranları 0. gün %83; 11.günde ise %100 olarak tespit edilmiştir. *Pseudomonas* spp. oranları ele alındığında vakum paketlemenin taze bifteklerin korunmasında daha etkili olduğu belirtilmiştir (Mayr ve diğ., 2003).

Pennacchia ve ark. (2011), 4°C'de vakum paketlenen bifteklerde LAB'ın gelişmeye devam ettiğini belirtmişlerdir. LAB ve *Br. thermosphacta*, kıymada "souring" olarak adlandırılan ileri seviyedeki proteoliz veya yağ hidrolizi bozulmasından sorumlu önemli mikroorganizmalardır (Olaoye ve Ntuen, 2011). Kıymada bozulmaya neden olan bazı mikroorganizmaların gelişme koşulları Çizelge 2.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 2.3: Kıymada bozulmaya neden olan bazı mikroorganizmalara ait gelişme koşulları (Nychas ve diğ., 2008).

GAZ BİLEŞİMİ	**KIYMA VE KANATLI ETİ**
Hava	*Pseudomonas* spp.
> %50 CO_2 (O_2 varlığında)	*Brochotrix thermosphacta*
%50 CO_2	Enterobacteriaceae, LAB (laktik asit bakterileri)
< %50 CO_2 (O_2 varlığında)	*Br. thermosphacta*, LAB
%100 CO_2	LAB
Vakum paketleme	*Br. thermosphacta* , LAB, *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens*

2.2 Kıymanın Bileşimi ve Kıyma Bileşenlerinde Meydana Gelen Kimyasal Değişimler

Yetişkin bir hayvandan elde edilen taze kıymanın ölüm sertliği sonrası kimyasal bileşimi Çizelge 2.4'te verilmiştir (Serdaroğlu, 2010). Kıymanın, yüksek besin içeriğine sahip olması onu mikrobiyal gelişim için uygun kılarken bozulma reaksiyonları su fazında gerçekleşir.

Kıymanın bileşimindeki çoğu substrat, hemen hemen tüm bakteriler tarafından katabolize edilebilmektedir (Gill ve Newton, 1980; Nychas ve diğ., 2007).

Her ne kadar kıymada gelişen mikroorganizmaların çoğu proteolitik olsa da mikrobiyal gelişim ilk olarak su fazında bulunan karbonhidrat ve protein olmayan azotun kullanımıyla başlar.

İleri derecede bozulmanın gözlemlendiği ve bozulmanın duyusal olarak da tespit edildiği koşullarda proteolitik bozulma gözlemlenebilir (Adams ve Moss, 1995).

Çizelge 2.4: Yetişkin bir hayvandan elde edilen taze kıymanın ölüm sertliği sonrası kimyasal bileşimi (Serdaroğlu, 2010).

	%		%
Su *(% 65-80 arasında değişir)*	75,0	***Protein Olmayan Azotlu Bileşikler***	1,5
		Kreatin ve Kreatin fosfat	0,5
Protein *(%16-22 arasında değişir)*	18,5	Nukleotidler, ATP, ADP, v.b.	0,3
Myofibriler	9,5	Serbest amino asitler	0,3
Myosin	5,0	Peptidler (anserin, karnosin v.b.)	0,3
Aktin	2,0	Diğer protein olmayan bileşikler (kreatinin, üre, NAD, NADP)	0,1
Tropomyosin	0,8		
Troponin	0,8	***Karbonhidrat ve Azotlu Olmayan Bileşikler*** *(%0,5-1,5 arasında)*	1,0
M protein	0,4	Glikojen	0,8
C protein	0,2	Glukoz	0,1
α-aktinin	0,2	Hücre ara ürün ve metabolitleri	0,1
β-aktinin	0,1		
Sarkoplazmik	6,0	***İnorganik Madde***	1,0
Çözünebilir sarkoplazmik ve mitokondrial enzimler	5,5	Potasyum	0,3
Myoglobin	0,3	Toplam fosfor	0,2
Hemoglobin	0,1	Kükürt	0,2
Sitokromlar ve flavoprotein	0,1	Klor	0,1
Stroma	3,0	Sodyum	0,1
Kollagen ve retikulin	1,5	Diğerleri	0,1
Elastin	0,1		
Diğer çözülmeyen proteinler	1,4		
Lipitler *(%1,5-13,0 arasında)*	3,0		
Nötral lipitler	1,0		
Fosfolipitler	1,0		
Serebrositler	0,5		
Kolesterol	0,5		

Kıyma bileşenlerinin aerobik bozulma sırasında çeşitli mikroorganizmalar tarafından kullanım sırası Çizelge 2.5'te verilmektedir.

Çizelge 2.5: Kıyma bileşenlerinin aerobik bozulma sırasında çeşitli mikroorganizmalar tarafından kullanım sırası (Nychas ve diğ., 2007)[1].

BİLEŞENLER	**A**	**B**	**C**	**D**
Glikoz	1	1	1	1
Glikoz 6-P	2			2
D-L Laktik asit	3	2		3
Pirüvat	4	3		
Glukonat	5	4		
Glukonat 6-P	6			
Propiyonat		5		
Etanol		6		
Asetat		7		
Amino asitler	7	8	2	4
Kreatin	8			
Kreatinin	9			
Sitrat	10			
Aspartat	11			
Glukomat	12			
Riboz			3	
Gliserol			4	

A: *Pseudomonas* spp.
B: *Shewanella putrefaciens*
C: *Brocohotrix thermosphacta*
D: Enterobacteriaceae

[1] Nychas ve diğ. (2007) 'den aerobik koşullar için uyarlanmıştır. 1: İlk kullanım sırası; 12: Son kullanım sırası

Kıymada bulunan glikoz, laktik asit, amino asit, nükleotid ve suda çözünür proteinlerin konsantrasyonu, ette gözlemlenebilecek bozulma tipini (sakkarolitik veya proteolitik) ve bozulma hızını etkilerken bu bileşenler diğer yandan da bozulma ile ortaya çıkabilecek metabolitler için öncül (precursor) nitelik taşırlar (Nychas ve diğ., 1998; Nychas ve diğ., 2008).

Çizelge 2.5'te de görüldüğü gibi glikojenin glikoza yıkılması sonucunda ortaya çıkan glikoz, çoğu mikroorganizma için enerji kaynağı olarak ilk sırada kullanılır. Glikoz miktarındaki azalma ise bozulma tipini sakkarolitikten amino asit bozulmasına çevirir (Borch ve diğ., 1996; Doyle, 2007).

Glikozdan sonraki enerji kaynağı laktat iken mikroorganizmalar için üçüncü enerji kaynağı amino asitlerdir (Nychas ve diğ., 2007).

Glikoz bileşiminin biftekte mikrobiyal bozulmaya etkisinin incelendiği bir çalışmada, %2'den daha az glikoz eklenen bifteklerde, buzdolabında saklama ile Gram-negatif psikrofillerin geliştiği; %2-10 arasında eklenen glikoz ile ortamda gerçekleşen mikrobiyolojik aktivite sonucunda asit oluşumuyla biftek pH'ının 5,8'den 5,0-5,2 değerlerine düştüğü ve pH düşüşünün ortamda glikoz tükeninceye kadar devam ettiği belirlenmiştir (Shelef, 1977).

2.2.1 Et bileşenlerinin bozulma bileşenlerine dönüşümü

Ölüm sertliğine giren kıymada bulunan hücre içi enzimler nedeniyle depolanan kıymada çeşitli değişimler gerçekleşir. Glikozun kaslarda depolanmış formu olan glikojenin hücre içi enzimleri ile parçalanması sonucunda açığa çıkan glikoz, diğer reaksiyonlar için enerji kaynağı olarak kullanılırlar. Solunumun kesilmesi ile oksijenin hücreye alımı durmasına rağmen glikojenin glikoza yıkımı, glikolitik enzimlerin düşük pH koşulunda inaktive olmasına kadar sürer. Glikozun ette bulunmadığı koşullarda ise mikroflora, enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanmaya başlar ve bunun sonucunda istenmeyen katabolik ürünler ortaya çıkar (Adams ve Moss, 1995).

Mikrobiyal gelişim, oksidasyon ve enzimatik otoliz reaksiyonları, kıymada bozulmadan sorumlu üç temel mekanizmadır (Dave ve Ghaly, 2011). Her ne kadar hücre içi enzimler ile çeşitli kimyasallar açığa çıksa da mikrobiyal aktivitenin ette bozulmaya etkisi daha fazladır (Tsigarida ve Nychas, 2001). Bununla birlikte, mikrobiyal enzimlerden daha çok mikrobiyal gelişme ile açığa çıkan metabolik yan ürünlerin bozulmada daha etkili olduğu bilinmektedir (Nychas ve diğ., 2008).

Mikrobiyal bozulma ile kıymada kötü koku, gaz, ekşi tat ve yüzeyde yapışkan tabaka oluşumu; renk ve pH değişimi ve yapısal bileşenlerde parçalanma gözlemlenirken lipid oksidasyonu ile acı lezzet ve kötü koku oluşumu; otolitik enzimatik bozulma ile

de dokuda yumuşama ve yüzeyde yeşil renk oluşumu gözlemlenebilir (Ferioli ve diğ., 2010; Dave ve Ghaly, 2011).

Aerobik depolama sırasında mikroorganizmaların gelişimini etkileyen en önemli faktör, kas doku yüzeyinde bulunan oksijendir. Oksijen miktarı, mikroorganizma gelişimi için sınırlayıcı faktör olarak bilinir. Kıymada bozulmanın, *Pseudomonas* spp.'nin ürün yüzeyindeki birincil substrat olan glikozu tüketmesinden sonra ikincil ve üçüncül substratlar olarak tanımlanan laktatı ve amino asitleri kullanmasıyla ortaya çıktığı bilinmektedir (Doyle, 2007).

Kıyma dış yüzeyinin altındaki kas dokuda glikozun bulunmasına karşın yüzeyde glikozun tükenmesi nedeniyle Pseudomonad grubu mikroorganizmaların amino asitleri kullanmaya başladığı ve yan ürün olarak amonyak, kükürt, indol, diamin (putresin, kadaverin) gibi kötü kokulu bileşikler ürettiği, kıymada pH yükselmesinin gözlemlendiği belirlenmiştir (Ellis ve Goodacre, 2001; Doyle, 2007).

DFD (koyu, sıkı ve kuru) et olarak tanımlanan yüksek pH değerine (pH>6,2) sahip etler, yapısındaki amino asitlerin mikrobiyal aktivite nedeniyle daha hızlı parçalanmasından dolayı PSE (solgun, yumuşak ve suyu sızdıran) etlerden (pH<6,2) daha kısa sürede bozulurlar (Blixt ve Borch, 2002; Doyle, 2007; Olaoye ve Ntuen, 2011). *Shewanelle* spp., ortamda glikoz bulunmasına rağmen PSE etlerde kükürt ve amonyak bileşenleri üreterek ortama hakim mikroorganizma türü olmasa da bozulmaya neden olurlar (Doyle, 2007). *Shewanelle* spp. gibi bozulma etkeni aerobik mikroorganizmaların glikozu parçalamasıyla formik ve asetik asit oluşumu da gerçekleşir (Tsigarida ve Nychas, 2001).

Amino asit parçalanmasıyla oluşan sülfit ve metil esterler gibi bileşikler genellikle, aerobik koşulda ve soğukta depolanan kıymada ortaya çıkan ilk bileşenler olarak bilinirler (Mayr ve diğ., 2003; Dainty ve diğ., 1989a; 1989b). *Pseudomonas* spp., özellikle de *Ps. fragi*, aerobik koşullarda depolanan kıymada etil esterin en büyük üreticisi olarak bilinir (Dainty ve diğ., 1985). 1987 yılında Dainty ve diğ., *Pseudomona*s spp. aşıladıkları biftek (6°C) ile yaptıkları çalışmada ette gerçekleşen bozulma reaksiyonları sonucu kötü kokuya neden olan bileşenin ağırlıklı olarak ester ve kükürt bileşikleri olduğunu; "meyvemsi" olarak algılanan koku bileşeninin etil ve/veya C2-C8 yağ asitlerinin metil esteri; soğan/sarımsak benzeri koku bileşeninin izopropil tiyol (merkaptan), kuvvetli lahana koku bileşeninin ise metantiyol

olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca et ve et ürünlerinde mikrobiyal bozulmayı karakterize eden peroksitler, H_2S, NH_3, indol kadaverin ve putresin gibi bileşiklerin oluşumu söz konusudur. Bu bileşikler, etin doğal kırmızı renginin kırmızı, kahverengi, yeşil veya griye dönüşmesine neden olmaktadır.

Mikroorganizmaların kıymada gelişimi sonucu gözlemlenen bazı kusurlara Çizelge 2.6'da yer verilirken çeşitli bakterilerin metabolik aktiviteleri sonucu oluşan bozulma bileşenleri ve bu bileşenlerin öncül maddeleri ise Çizelge 2.7'de belirtilmiştir (Nychas ve diğ., 2007).

Çizelge 2.6: Mikroorganizmaların kıymada gelişimi sonucu gözlemlenen bazı bozulma belirtileri (Url-1).

BOZULMA BELİRTİSİ	**BOZULMA NEDENİ**
H_2S veya NH_3 kokusu; donuk/iç yağımsı tat	Bakteri veya doğal enzimler nedeniyle protein, yağ veya karbonhidratların parçalanması
Kıyma yüzeyinde yapışkan tabaka oluşumu; kötü koku ve acı lezzet oluşumu; yüzeyde renk değişimi; gri, kahverengi veya yeşil renk oluşumu	Bakteri veya maya kaynaklı bozulma
Ekşime, çürüme	Anaerobik bakteri kaynaklı veya vakum pakette bozulma
Yüzeyde renk değişimi; krem,siyah veya yeşil	Küf kolonilerinin gelişmesi

Kıymada yaygın olarak bozulmaya neden olan *Br. thermosphacta,* hem aerobik hem de anaerobik koşullarda aktivite gösterir. Aerobik koşullarda glikoz ve glutamatı enerji kaynağı olarak kullanan *Br. thermosphacta,* amino asitleri metabolize edemez ve kompleks son ürünler oluşturur (Gill ve Newton, 1977).

Gram-pozitif bakterilerin, özellikle LAB'ın, aerobik koşulda depolanan kıymada bozulmadan sorumlu mikroorganizma olmadığı; *Br. thermosphacta*'nın LAB'a oranla daha yaygın bozulma yarattığı; *Pseudomonas* spp.'nin ise aerobik koşulda depolanan kıymada hakim florayı oluşturduğu belirtilmiştir (Nychas ve diğ., 2007).

Çizelge 2.7: *Pseudomonas* spp., *Shewanella putrefaciens* ve *Moraxella* gibi bazı Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen bozulma bileşenleri ve bu bileşenlerin öncül maddeleri (Nychas ve diğ., 2007).

SON ÜRÜN	FAKTÖR	ÖNCÜL MADDE
Kükürtlü bileşikler		
Sülfit	Sıcaklık, düşük glikoz konsantrasyonu	Sistein, sistin, metiyonin
Dimetilsülfit		Metiyonin, metantiyol
Dimetildisülfit		Metiyonin
Metil merkaptan		
Metantiyol		Metiyonin
Hidrojen sülfit	Yüksek pH	Sistin, sistein
Dimetiltrisülfit		Metiyonin, metantiyol
Esterler		
Metil esterler	Düşük glikoz konsantrasyonu	
Etil esterler	Düşük glikoz konsantrasyonu	
Aldehidler		
2-Metilbütanal		izo-Lösin
Alkoller		
Metanol		
Etanol		
2-Metilpropanol		Valin
2-Metilbütanol		izo-Lösin
Diğer bileşikler		
Amonyak	Düşük glikoz konsantrasyonu	Amino asitler

2.2.2 Kıymada pH değişimi

Canlı hayvanda 7,3 olan pH, kesimle birlikte kanın akıtılması sonucu 7,0 dolaylarına iner. Normal bir hayvan kas hücresinde %1 laktik asit birikimiyle hücre pH'ı kesimden 24 saat sonra 7'den 5,4-5,5 değerine gelir (Serdaroğlu, 2010). Olgunlaşma periyodunun sonunda, etin pH'sı genellikle 5,6-6,2 (ideal pH:5,8) arasında

değişmektedir. Ette bozulma etmeni olan bir çok mikroorganizma, bu aralıkta (*Pseudomonas* spp.: 5.5; Enterobacteriaceae: 4,0-5,0; maya ve küfler: 2,0) kolaylıkla gelişebilmektedir (Öztan, 1999). Et ve et ürünleri-Kıyma standardına göre ise kıymada pH üst limit değeri 6,2 olarak belirlenmiştir (TS 11566).

Kıymanın depolanması süresince her aşamada pH önem kazanmakta; gelişen tüm olaylar ortam pH'sına göre farklı sonuçlar meydana getirmektedir. Kesimden sonra başlayan glikoliz ve depolama süresince gerçekleşen mikrobiyal ve biyokimyasal olaylar kıymada pH değişimini hayli farklı limitlerde oluşturur.

Argyri ve diğ. (2011), *Pseudomonas* spp, *Br. thermosphacta* ve Enterobacteriaceae gelişimiyle ilişkili olarak kıymada pH'ın değiştiğini belirtmişlerdir. pH'ta gerçekleşen küçük değişimler sonucunda glikoz ve laktat konsantrasyonu değişerek *Pseudomonas* spp.'ın kıymada gelişimini büyük oranda etkiler.

Bozulma ile açığa çıkan amonyak, hidrojen sülfit ve serbest aminoasitlerin parçalanmasıyla oluşan çeşitli aminlerin kıymada pH yükselmesine neden olduğu belirtilmiştir (Jay ve diğ., 2003). Shelef (1977), mikroorganizmaların besin kaynağı olarak glikozu kullanması sonucunda kıymada glikoz konsantrasyonunun düşmesi ile pH'ın arttığına dikkat çekmiştir.

2.2.3 Kıymada lipid oksidasyonu oluşumu

Lipid oksidasyonu, kıymada renk, lezzet, aroma, tat, doku değişimine ve besleyici değerde azalmaya neden olan önemli kalite değişimlerinden biridir (Fernandez ve diğ, 1997; Jacobsen, 1999; Ulu, 2004; Min ve Ahn, 2005; Ross ve Smith, 2006). Kıymada gözlemlenen lipid oksidasyonu, oksijen ve serbest metal iyonlarının varlığında doymamış yağ asitlerinin oksitlendiği ve acı lezzet ve/veya aromanın oluştuğu kompleks bir kimyasal reaksiyondur (Karabudak, 2003; Min ve Ahn, 2005; Ross ve Smith, 2006). Bu reaksiyonun bazı koşullarında, serbsest radikaller, aldehidler ve kolesterol oksidaz gibi toksik özellik gösteren bileşenlerin oluşma ihtimali de bulunmaktadır (Ferioli ve diğ., 2010).

Lipid oksidasyonunun biricil ürünleri, oldukça kararsız ve kokusuz olan hidroperoksitler; ikincil bileşenleri ise hidroperoksidlerin parçalanması ile oluşan alkan, alken, aldehid, keton, alkol, ester, asit ve hidrokarbonlardır (Ross ve Smith, 2006). Kıymada acı lezzet ve/veya aromanın oluşmasına neden olan temel bileşenin

aldehidler (oktanal, nonanal, pentanal, hekzanal) olduğu ve bunların arasından da hekzanalin yüksek oranda oluştuğu bilinmektedir (Ross ve Smith, 2006).

Lipid oksidasyonu sonucu oluşan çeşitli bileşenlerin ürün üzerinde meydana getirdiği değişiklikler farklılık göstermektedir. Örneğin, tipik bir lipid oksidasyonu ürünü olan alifatik aldehidler ürünlerde koku oluşumunu tetiklemezken yağ asitlerinin oto-oksidasyonu ve mayaların üründeki metabolizmaları sırasında gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar neticesinde oluşan metilketonlar (2-pentanon, 2-hekzanon, 2-heptanon, 2,3-oktandion vb) ve lipid oksidasyonunun tipik ürünleri olan hidrokarbonlar (hekzan, heptan, oktan, dekan vb) yüksek eşikleri sayesinde ürün kokusunu değiştirebilirler (Hierro ve ark, 2004).

Kıymada lipid oksidasyonu, üç yöntem ile ölçülebilir (Wang ve diğ., 2002; Ulu, 2004):

i) TBA (Tiyobarbütirik asit) ile ısıtılan kıymanın kırmızı renk pigmentlerinin santrifüjlenmesi (Distilasyon yöntemi),

ii) Kıymanın BHA (Bütillendirilmiş hidroksi anizol) varlığında saf su ile distilasyonu sonucu oluşan malondialdehidin TBA ile reaksiyona sokulması (1. sulu ekstraksiyon yöntemi),

iii) Kıymanın TCA (Trikloro asetik asit) ile muamele edilmesi sonucu oluşan ekstraktın TBA ile reaksiyonu (2. sulu ekstraksiyon yöntemi).

Malonaldidehit (MDA), gıdalardaki çoklu doymamış lipitlerin oto-oksidasyonu sonucu meydana gelen ikincil bozulma ürünlerinden biridir (Ross ve Smith, 2006). Suda çözünebilen bir bozunma ürünü olan MDA, oksidatif bozulmanın bir indeksi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kıymada lipid oksidasyonu, tiyobarbütirik asidin MDA ile oluşturduğu kırmızı renkli kompleksin spektrofotometrik yöntemle ölçülmesine dayanır (Fernandez ve diğ., 1996; Wang ve diğ., 2002; Ulu, 2004). Lipid oksidasyonu sonucu kıymada acılaşmaya neden olan diğer bir bileşen olan hekzanal oluşumu ile TBA değerleri arasında literatürde yakın bir ilişki bulunduğu tespit edilmiştir (Perez ve diğ., 2008). Ercolini ve diğ. (2009), hekzanalin kıymada koku eşiğinin 0,015 ppm olduğunu belirtmişlerdir.

Genel bir kabul olarak yüksek yağ oranına sahip kıymalar oksidasyona daha yatkındır; fakat doymuş yağ asitlerinin kıymada yüksek oranda bulunması, lipid oksidasyonu hızını azaltır (Wang ve diğ., 1997).

Kıymanın bileşiminde %1 dolayında fosfolipid bulunur. Doymamışlığı daha yüksek olan fosfolipidler lipid oksidasyonunun ilk substratlarındandır ve trigliseridlerden 100 kat daha fazla yüzey alanına sahiptir. Bu nedenle kıymada lipid oksidasyonuna sebep olan en hassas bileşenler sırasıyla fosfolipidler, serbest yağ asitleri ve doymamış yağ asidi içeriği yüksek olan trigliseridlerdir (Min ve Ahn, 2005; Serdaroğlu, 2010). İnsan sağlığında önemli bir yeri olan çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) ω-3, doymamışlık özelliği nedeniyle kıymada acılaşmaya neden olan bir bileşendir (Linares ve diğ., 2007).

Zakrys ve diğ. (2008), depolama ortamında bulunan oksijenin, kıymada lipid oksidasyonu hızlandırıcı etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumda, aerobik koşulda depolanan kıymaların, vakum koşulunda depolananlara oranla; MAP koşulundaki kıymaların ise aerobik koşuldakilere oranla daha yüksek TBA değerlerine sahip olduğu literatürde belirtilmektedir (Linares ve diğ., 2007; Ferioli ve diğ., 2010; Resconi ve diğ., 2012). Resconi ve diğ. (2012), %60-80 seviyesinde yüksek oksijen içeriğine sahip depolama koşullarının kıymada acılaşmayı hızlandırdığını belirtmişlerdir.

Berruga ve diğ. (2005), vakum koşulu veya oksijen içermeyen MAP koşulunda depolama ile ortamda kalıntı olarak bulunan %0-2 seviyesindeki oksijenin lipid oksidasyonu için yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Kıymada gerçekleşen lipid oksidasyonu sonucunda istenmeyen okside koku oluşumu gözlemlenebilir. Okside koku, zamanla tüketiciler tarafından algılanabilecek seviyeye ulaşabilir. Zakrys ve diğ. (2008), 1,0 mg MDA kg^{-1} 'dan düşük TBA değerinin duyusal olarak algılanabileceğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, 0,6-2,0 mg MDA kg^{-1} seviyesinin, koku eşiğine bağlı olarak panelistler tarafından algılanabileceğine; 2,0 mg MDA kg^{-1} seviyesinin algılamada alt seviye olabileceğine değinilmiştir. Ahmad ve Srivastava (2007) ise literatürden elde ettikleri derlemelerden, 0,5-1,0 mg MDA kg^{-1} seviyesinin kıymada okside koku oluşturmadığını; duyusal olarak algılanabilir minimum lipid oksidasyonu limitinin ise 1,0-2,0 mg MDA kg^{-1} olduğunu belirtmişlerdir.

2.2.4 Kıymada koku bileşenlerinin oluşumu

Kıymada aroma, başta genotip olmak üzerere hayvanın yaşı ve beslenme özelliklerine bağlı olarak değişim gösterir. Hakim aroma ise kan/serum benzeri, yağımsı ve metalik olarak algılanır (Van Ruth, 2011). Kıymada lezzet bileşenleri

analiz edildiğinde, temel bileşenlerin hidrokarbon, aldehid, keton, alkol, furan, terpen, pirol, piridin, pirazin, oxazol ve sülfürlü bileşenlerin olduğu ve çoğu lezzet bileşeninin, depolama ve pişirme aşamalarında oluştuğu tespit edilmiştir. Kıymanın pişirilmesi ile oluşan lezzet bileşenlerinin sayısı yaklaşık 1000 civarındadır (Canedo ve diğ., 2011).

pH yükselmesine bağlı olarak kıymada pirazin benzeri azot içeren bileşenler oluşurken lipidlerin parçalanması ile oluşan ürünlerin, kıymada temel lezzet ve aromayı oluşturduğu tespit edilmiştir. Yağ asitlerinin, özellikle de linoleik asit ve araşidonik asidin 9-hidroperoksit ve 11-hidroperokside otooksidasyonu ile oluşan 2,4-dekadienal, 2-nonenal, 1-okten-3-on, 2,4-nonadienal ve 2-oktenal, kıymada lezzet ve aromayı oluşturan ana bileşenler olarak tanımlanmışlardır (Calkins ve Hodgen, 2007). Linares ve diğ. (2007), taze biftekte tespit edilen temel bileşenler ve bu bileşenlere ait karakteristik lezzet-aroma tanımlarına yer vermiştir (Çizelge 2.8).

Soğuk depolama süresince raf ömrünün sonuna yaklaşan kıymada istenmeyen koku bileşenleri oluşmaya başlar. Ercolini ve diğ. (2009), koku bileşenlerinin ağırlıklı olarak mikrobiyal gelişim kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Mikrobiyal kaynaklı koku bileşenleri, bazı gıda grupları için literatürde tespit edilmiştir. Whitfield (2003), kıymada mikrobiyal bozulma ile oluşan koku bileşenlerini ve oluşan kokunun hissedilen tanımına ayrıntılı olarak yer vermiştir (Çizelge 2.9).

Asetat, asetaldehid, etanol, asetoin ve diasetil, vakum ve aerobik koşulda depolanan kıymanın kalitesinin değerlendirilmesinde mikrobiyal gelişim kaynaklı kimyasal indikatör olarak kullanılabilirler (Tsigarida ve Nychas, 2001). Etanol, depolama süresince kıymada tespit edilen önemli alkollerdendir (İsmail ve diğ., 2009). Aerobik koşulda depolanan kıymada *Pseudomonas* spp. gelişimi nedeniyle ortamda etil ve metil ester, kükürt içeren bileşikler oluşurken (Tsigarida ve Nychas, 2001) *Br. thermosphacta* başta olmak üzere çoğu mikroorganizma (*Pseudomonas, Shewanela, Moraxella, Lactobacillus, Leuconostoc* ve *Carnobacterium*) nedeniyle asetion ve diasetil oluşumu gözlemlenir (Nychas ve diğ., 2007). Chung ve diğ. (2002), hidrojen sülfit, bütanol, 2-bütanon, izopentanol, dimetil sülfit ve dimetil disülfidin *Pseudomonas* spp. aktivitesi sonucu oluştuğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 2.8: Taze biftekte tespit edilen temel aroma bileşikleri (Linares ve diğ., 2007).

BİLEŞEN	KARAKTERİSTİK LEZZET/AROMA
Benzaldehid	Acı badem, yanık aromatik lezzet
Benzen	
sec-Bütanamin	Deniz ürünü, yeşil soğan
Bütenal	Maltlı, rosto
n-Kaproik asit	Keçi kokusu
Siklobütanol	Rosto
2,2,6-Trimetilsiklohekzanon	Nane, aseton
2,4-Dekadienal	Yoğun yağ, tavuk lezzeti
Dekanal	Waks, portakal kabuğu
2-Desenal	Donyağı, portakal
1,3-bis(1,1-dimetiletil)benzen	Pişmiş biftek
2-Pentilfuran	Taze fasulye, tereyağı
2,4-Heptadienal	Fındık, yağ
Heptanal	Yağ, okside
5-Metil, 2-heptanamin	
1-Heptanol	Ağaçsı, yağ, biçilmiş çim, şarap, baharat
2-Heptanon	Meyve, baharat, tarçın
6-Metil, 2-heptanon	Karanfil, mentol
2-Heptenal	Sabun, badem, balık
3-Etil, 2-metil, 1,3-hegzadien	
Hekzanal	Çimen, donyağı, yağ
Hekzan	
Hekzanol	Ağaçsı, kesilmiş çim, yağ, zayıf metalik
2-Etil, 1-hekzanol	Reçine, çiçek
2-Hekzen-1-ol	Meyve, olgunlaşmamış muz
3-Metilbütanal	Malt, elma benzeri
2,4-Nonadienal	Yağ, sardunya, karpuz
Nonanal	Yağ, turunçgil
2-Nonanon	Sıcak süt, sabun
2-Nonenal	Mukavva, salatalık
Oktadekanal	Yağ
Oktanal	Portakal kabuğu, limon, bal, sabun
1-Oktanol	Ceviz, yosun, turunçgil, waks, metal
2-Metil, 3-oktanon	Baharat, yağ, reçine, benzin
2-Oktenal	Yağ, ceviz, fındık
1-Okten-3-ol	Mantar
2-Okten-1-ol	Yeşil turunçgil
Pentanal	Badem, malt, acı
Pentan	Okside, pişmiş et kokusu
1-Pentanol	Meyve, balzamik, fuzel
α-Pinen	Çam, meyve, turunçgil, neftyağı
2-Tridekanal	Tatlı, baharat

Çizelge 2.9: Kıymada mikrobiyal bozulma ile oluşan koku bileşenleri (Whitfield, 2003).

MİKROORGANİZMA	OLUŞAN KİMYASAL	KOKU TANIMI
Brochotrix thermosphacta	Diasetil, asetoin	Tereyağı/peynir
Lactobacillus spp.	3-Metilbütanol, 2-Metilpropanol	
Pseudomonas spp., *Pseudomonas fragi*	Etil asetat, etil bütanoat	Tatlı/meyvemsi
Moraxella spp.	Etil hekzanoat, etil oktanoat	
Brochotrix thermosphacta, *Pseudomonas* spp.	Etil 2-metilbütanoat, etil 3-metilbütanoat	Meyvemsi
Pseudomonas perolens, *Pseudomonas taetrolens*	2-Metoksi-3-izopropilpirazin	Küflü
Enterobacteriaceae	Metantiyol, dimetil sülfit, dimetil trisülfit	Sülfit, çürük
Acinetobacter	Alifatik alkoller, aldehidler ve aromatik hidrokarbonlar	Ekşi
Serratia liquefaciens	2-Metilbütanol, 3-Metilbütanol, hidrojen sülfit, metantiyol, dimetil disülfit, dimetil trisülfit, metil tiyoasetat	Çürük
Clostridium etherheticum	Hidrojen sülfit, metantiyol, bütanol, bütil bütanoat, bütil asetat, bütanoik asit, dimetil sülfat.	Meyvemsi

Mayr ve diğ. (2003), vakum paketlenen kıymada en çok etanol ve metanolün; aerobik paketlenende ise metil merkaptan (pişmiş lahana kokusuna yakın), dimetil sülfid ve dimetil disülfidin oluştuğunu belirtmişlerdir. *Pseudomonas* spp. artışına bağlı olarak aerobik koşullarda depolanan kıymada dimetilsülfid oluşumunun arttığını; vakum paketlemede ise ortamda etanolün biriktiğini vurgulamışlardır. Insausti ve diğ. (2002) ise vakum pakette depolanan bifteklerde depolama süresince asidik kokunun oluştuğunu belirtmişlerdir.

Ellis ve Goodacre (2001), kıymada tespit edilen TMAB sayısının 10^7 kob g^{-1} düzeyine ulaşması durumunda hakim kokunun sütane/tereyağımsı/yağsı/peynirimsi; 10^8 kob g^{-1} düzeyinde hafif tatlı/meyvemsi; 10^9 kob g^{-1} düzeyinde ise çürümüş-kokuşmuş olarak tanımlandığı belirtilmiştir. Borch ve diğ.'ne (1996) göre ise çürümeyle birlikte koku oluşumu sırası peynirimsi, ekşi ve çürüktür.

2.2.5 Mikroorganizma sayısı ve kıymada bozulma arasındaki ilişki

Kesim öncesi steril olan et, karkasın parçalanması işleminden sonra 2-4 log kob g^{-1} yüke ulaşır ve depolama süresince bozulmaya açık hale gelir (Irkın ve diğ., 2011). Mikrobiyal gelişim ile çiğ ette gerçekleşen bozulma arasında doğrudan bir ilişki olduğu bilinse de bozulmanın hangi mikrobiyal seviyede ilk olarak başladığı üzerinde kesin bir fikir literatürde bulunmamaktadır. Irkın ve diğ. (2011), bozulma seviyesine gelen kıymada TMAB sayısı limitinin literatürde 6,7; 7 veya 8 log kob g^{-1} gibi farklı kabuller gördüğünü belirtmişlerdir. Berruga ve diğ. (2005), 6-7 log kob g^{-1} seviyesinin et bozulmasında kritik seviye olduğunu vurgulamıştır. Gill ve Newton (1977), Olaoye ve Ntuen (2011)'a göre ise *Pseudomonas* spp. sayısının 7-8 log kob g^{-1}'a ulaşması ile ette kötü koku ve yapışkan yüzey oluşumu ile bozulma görülür. Koutsoumanis ve diğ. (2006) için bu değer ette 7 log kob g^{-1}'dır. Limbo ve diğ. (2010), ette proteolitik aktivitenin $3,2x10^{9}$ kob g^{-1} TMAB sayısı ile başladığını; yapışkan yüzey oluşumunun ise 8 log kob g^{-1} TMAB seviyesinde gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ellis ve Goodacre (2001) kıymada TMAB sayısının 10^{8} kob g^{-1} seviyesine yaklaştığı durumda yüzeydeki besin elementlerinin mikrobiyal üremeyi sınırlandırdığı anda bozulmayla birlikte amonyak, dimetil sülfit ve diasetil gibi kötü kokulu bileşiklerin oluştuğunu belirtmişlerdir.

2.2.6 Kıymada bozulma bileşenlerinin tespiti

Kıymada gözlemlenen mikrobiyal gelişim, kimyasal ve fiziksel değişimler arasında kurulan ilişki, kıymanın kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılabilir (Tsigarida ve Nychas, 2001). Bu nedenle, kıymada gerçekleşen bozulmanın tanımlanmasında kullanılabilecek indikatör bir göstergecin belirlenebilmesi için bozulma sırasındaki tüm değişimlerin gözlemlenmesi önem taşımaktadır (Nychas ve diğ., 2007). Paket tipi, sıcaklık, koruyucu kullanımı gibi farklı engeller; pH ve glikoz konsantrasyonu gibi iç faktörler, mikrobiyal ilişkiyi etkileme yoluyla potansiyel indikatörlerin oluşumunda nitel veya nicel farklılığa neden olabilirler (Nychas ve diğ., 2008). Birden fazla indikatörün aynı anda kullanımıyla bozulmanın en az hatayla tespit edilebileceği tahmin edilmektedir.

Kıymada meydana gelen bozulmaların belirlenmesinde başta organoleptik (duyusal), mikrobiyolojik ve fizikokimyasal olmak üzere çeşitli yöntemlerin geliştirilmesine rağmen çoğu yöntemin pahalı, zaman alıcı olması, eğitilmiş panelistlere ihtiyaç

olması vb nedenlerle matematiksel temellere dayanan yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Biyosensörler (enzimatik reaktör sistemleri), elektronik burun (sensörler dizisi), yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), gaz kromatografi (GC), gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC-MS) ve Fourier transform infrared (FT-IR) spektroskopisi bunlardan bazılarıdır (Nychas ve diğ., 2007).

Et ve et ürünlerinde çeşitli bileşenlerin tespitinde kullanılan test yöntemlerine Çizelge 2.10'de yer verilmiştir.

Çizelge 2.10: Farklı depolama koşullarındaki et ve et ürünlerinin raf ömrü değerlendirilmesinde kullanılabilecek bileşenlerin tespit edilme yöntemleri (Nychas ve diğ., 2007).

BİLEŞEN	TEST YÖNTEMİ	DEPOLAMA KOŞULU
Glikoz	Enzimatik kit	Hava, vakum paket, MAP
Asetat	Enzimatik kit, HPLC	Vakum paket, MAP
Glukonat	Enzimatik kit	Hava, vakum paket, MAP
Toplam laktat	HPLC	Vakum paket, MAP
D-laktat	Enzimatik kit	Vakum paket, MAP
Etanol	Enzimatik kit, GLC	Vakum paket, MAP
Amonyak	Enzimatik, kolorimetrik	Hava
Diasetil, asetoin	Kolorimetrik	Vakum paket, MAP
Biyojen amin	HPLC, sensör, GLC, enzim elektrod	Hava, vakum paket, MAP
Diamin	Enzimatik sistem	Hava
Mikrobiyal aktivite	Mikrobiyal sayım	Hava
Proteoliz	FT-IR, NIR, MIR	Hava, vakum paket, MAP
Uçucu organik bileşen (VOCs)	GC-MS, elektronik burun	Hava, vakum paket, MAP
Aseton, metil etil keton, dimetil sülfit, dimetil disülfit, hidrojen sülfit	GLC, GC-MS	Vakum paket, MAP

2.3 Gıdalarda Raf Ömrü Modellemesi

Prediktif modeller kullanılarak gıdalarda gerçekleşen fiziksel, kimyasal değişimler veya mikroorganizma davranışları sonucu oluşan değişimlerin değerlendirilmesiyle ürünlerin raf ömürleri hakkında tahminler yapılabilir.

Raf ömrünün belirlenmesi karışık bir süreçtir ve kötü depolama koşullarının da bu sürece etki ettiği düşünüldüğünde tahmin yapmak oldukça güçtür. Kullanılan çiğ materyal, ürün formülasyonu, uygulanan işlemler, hijyenik şartlar, paketleme tipi, depolama ve dağıtım koşulları hakkında kesin bilgiler elde edilmesiyle doğru bir tahmin yapılabilir.

Raf ömrü tahminlemesi öncesinde, fiziksel, kimyasal veya mikrobiyal gösterge faktörlerinden hangisinin tahminlemede kullanılacağının önceden tespit edilmesi önemlidir. Gıda türüne bağlı olarak değişmekle birlikte nem kaybı, soğuk zararlanması, renk değişimi ve sıcaklık kaybına bağlı olarak gözlemlenen rekristalizasyon, fiziksel değişim parametresi olarak tahminlemede kullanılabilirken enzimatik bozulmalar, oksidatif reaksiyonlar veya enzimatik olmayan kararma reaksiyonları kimyasal; patojenik veya saprofit mikroorganizmaların davranışları ise mikrobiyal raf ömrü tahminlemede kullanılabilecek indikatif parametrelerdendir (Keyvan ve Özdemir, 2010).

Mikrobiyal raf ömrü belirlemede yaygın olarak kullanılmaya başlanan prediktif (tahmini) mikrobiyoloji ile çevresel faktörlerin etkisiyle üretim, paketleme, muhafaza ve dağıtım aşamalarında gıdalarda oluşan mikroorganizma davranışlarıyla ilgili detaylı bilgiler elde edilebilmektedir. Tahmini mikrobiyoloji, gıdalarda bozulma etkenleri ve patojen mikroorganizmaların popülasyon dinamiklerinin modelleme ile tanımlanmasında kullanılabilir. Bu kullanım, mikroorganizmaların çevresel faktörlere karşı gösterdiği doğal ve tekrarlanabilir cevaplardan kaynaklanmaktadır (Keyvan ve Özdemir, 2010).

Deneysel testler kullanarak sıcaklık, a_w ve pH değeri gibi farklı parametrelerin etkisi altında belirlenen üreme oranı ile mikroorganizma proliferasyonu tahmin edilebilir. Sonuçta elde edilen bilgiler gıda güvenliği ve raf ömrünün değerlendirilmesine olanak sağlayan matematiksel bir model ile birleştirilir (Keyvan ve Özdemir, 2010).

Araştırmaların çoğu, gıda patojenlerinin üreme ve inaktivasyonlarının prediktif modellenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Tahmini mikrobiyoloji, bir gıda ürününün raf

ömrünü kısaltıp bozulmaya yol açan mikroorganizmaların üremesinin tahmini için de kullanılabilir. Bu amaçla, gıdalarda bozulmaya yol açan özellikli mikroorganizmalar seçilerek test amacıyla kullanılır (Keyvan ve Özdemir, 2010).

2.3.1 Tahmini mikrobiyolojide kullanılan modeller

Tahmini mikrobiyolojide modeller, matematiksel ifadelerdir ve gıda kaynaklı bir mikroorganizmanın üremesi, hayatta kalması, inaktivasyonunu tanımlar. Prediktif gıda mikrobiyolojisinde farklı birkaç model sınıflandırılması yapılmıştır (Çizelge 2. 11). Karışıklıkları ortadan kaldırmak amacıyla matematiksel modellemelerde bir sınıflandırma sistemi önerilmiştir. Bu sınıflandırma; birincil, ikincil ve üçüncül olmak üzere üç seviyede açıklanmıştır (McDonald ve Sun, 1999).

Çizelge 2.11: Modellerin sınıflandırılması (McDonald ve Sun, 1999).

BİRİNCİL MODELLER	İKİNCİL MODELLER	ÜÇÜNCÜL MODELLER
Gompertz fonksiyonu	Belehradek modeli (Karekök modeli)	USDA (United States Department of Agriculture Pathogen)
Modifiye Gompertz	Ratskowsky modeli (Karekök modeli)	Modelling Program
Logistic model	Arrhenius modeli	Food MicroModel™
Baranyi modeli	Modifiye Arrhenius modeli (Davey ya da Schoolfield)	Pseudomonas Predictor
First-order Monod model	Olasılık modeli	Expert System
Modifiye Monod modeli	Z-değeri	
Termal inaktivasyon için D-değeri	Polynomial veya Response	
Üç fazlı doğrusal model	Willams-Landel Ferry modeli	

2.3.1.1 Biricil modeller

Birincil modeller, belirli çevresel ve kültürel koşullarda bakteri sayısının zaman ile değişimini tanımlarlar. Toplam bakteri sayısı, toksin üretimi, metabolik ürünler ve eğer mümkünse kaydedilen bakteriyel büyüme eğrisi gibi bilgiler, birincil bir model

kullanarak sağlanabilir. Bu bilgiler bakterilerin jenerasyon zamanı, lag fazı evresi, eksponansiyel büyüme oranı ve maksimum popülasyon yoğunluğu hakkında bilgi verir. Mikroorganizmaların büyüme eğrilerinin belirlenmesinde Gompertz veya Baranyi modellerinin kullanımı daha yaygındır. Bu modellerin kullanılmasının nedeni mikroorganizma büyüme eğrisi gibi dört faza sahip olmalarıdır (McDonald ve Sun, 1999).

2.3.1.2 İkincil modeller

İkincil modeller ise kültürel veya çevresel koşullarda (pH değeri, a_w değeri, E_h, sıcaklık) birincil modellerde oluşan bir ya da daha fazla parametre cevabının (jenerasyon süresi gibi) tanımlanmasını sağlar (McDonald ve Sun, 1999).

2.3.1.3 Üçüncül modeller

Üçüncül modeller, birincil ve ikincil modellerdeki uygulamalar ve kullanımı kolay bir bilgisayar yazılımı ile oluşturulur. Ayrıca bu model sıcaklık, pH değeri ve a_w değeri gibi fonksiyonlarla da birleştirilebilir. Uygun bir veri tabanı oluşturularak farklı koşullarda olan bazı mikroorganizma türleri üzerindeki faktörlerin etkisi de karşılaştırılabilir (Keyvan ve Özdemir, 2010).

İngiltere Tarım, Gıda ve Balıkçılık Bakanlığı, 1988 yılında mikrobiyal patojenlerin üreme ve ölümlerine ilişkin araştırmacılarla ortaklaşa yapılan çalışmalar sonucu toplanan bilgileri bilgisayar ortamına uygun olarak aktarmıştır. Toplanan bu bilgiler, ilk modelleme programı olan Food MicroModelTM'ın temelini teşkil etmiştir. Ayrıca 2003 yılında İngiltere Gıda Standardı Ajansı "Growth Predictor" (www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor) adlı programı geliştirmiştir. İngiltere'deki bu gelişmelere paralel olarak ABD de Pathogen Modelling Programme (PMP: http://pmp.arserrc.gov/PMPOnline.aspx) adlı programı kullanıma sunmuştur (Keyvan ve Özdemir, 2010).

Avustralya'da "Food Spoilage Predictor" olarak ticarileştirilen "*Pseudomonas* Predictor" ise ilk olarak İngiltere'de tasarlanan sıcaklık tabanlı bir modeldir.

"COMBASE", "Sym'Previus", "Decision Support System", "Forecast", "ERH CALC^{TM}", "ChefCad Software", "MIRINZ Software", "Quantitative Risk Assessment" ve "MicroFit", prediktif gıda mikrobiyolojisi uygulamalarında kullanılan diğer bilgisayar yazılımlı programlardır (Keyvan ve Özdemir, 2010).

2.3.2 Ette tahmini mikrobiyal modellerin kullanımı

Ette bozulmaya neden olan en önemli faktör mikrobiyal gelişimdir. Spesifik bir mikroorganizma türü ette bozulmadan sorumlu olabildiği gibi heterojen bir mikrofloranın da bozulma yarattığı bilinmektedir (Dave ve Ghaly, 2011).

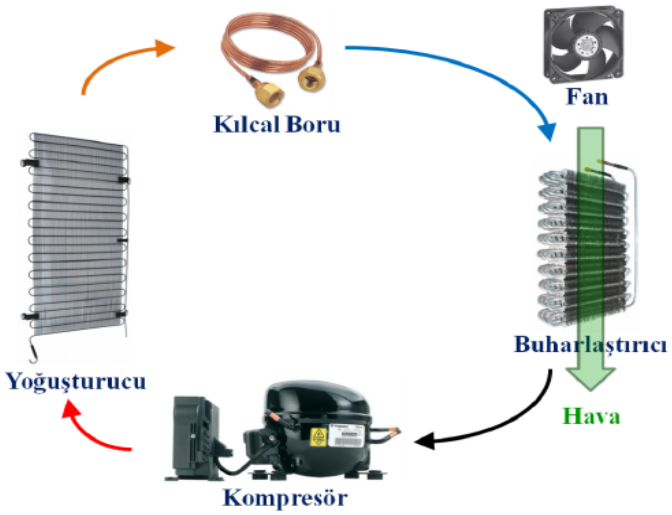
Spesifik mikroorganizmaların tespitinde tahmini modellerin kullanımı yaygınlaşmıştır. *Pseudomonas* spp., *Br. thermosphacta*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *E.coli* gibi mikroorganizmalar için literatürde tahmini modellemelerin uygulandığı bilinmektedir. Mikroorganizmaların büyüme davranışlarının anlaşılmasında iyi birer yol gösterici olan bu modeller, ette raf ömrünün tahminlenmesinde tek başlarına kullanıldığında yeterli olmayabilirler (Koch ve diğ., 2009). Koutsoumanis ve diğ. (2006), aerobik koşulda depolanan ette raf ömrü tahmininde bulundukları çalışmada *Pseudomonas* spp. için mikrobiyal model geliştirmeye çalışmışlardır. Bu modelle birlikte duyusal analiz sonuçlarının kullanılması ile daha doğru bir raf ömrü tahmininde bulunulduğu belirtilmiştir. Limbo ve diğ. (2010) ise ette tahmini mikrobiyal model kullanımyla birlikte renk değişimi, tepeboşluğu gaz kompozisyonu ve TBA değişimini de değerlendirmeye almışlardır. Chounou ve diğ. (2012) ise kıymada tahmini raf ömrünü belirlerken TMAB sayısını değerlendirmeye almış ve 7 log kob g^{-1} üst limit değerine ulaşan örneklerin tazeliklerini yitirdiklerini kabul edilmişlerdir (başlangıç mikrobiyal yükü 4,3 log kob g^{-1}).

2.4 Ev Tipi Buzdolaplarında Soğutma Sistemi

Ev tipi buzdolaplarının buhar sıkıştırmalı soğutma çevriminde, soğutucu akışkanın buharlaştırılması yoluyla soğutulacak kabin içerisinden ısı çekilir (Sakallı, 2012).

Buhar sıkıştırmalı soğutma çevriminin dört ana bileşeni: kompresör, kondenser, kapiler boru ve buharlaştırıcı olarak sıralanabilir. Hermetik kompresörde sıkıştırılarak basıncı yükseltilen gaz fazındaki soğutucu akışkan, yoğuşturucuda ısısını ortama atarak sıvı faza geçirilir; kılcal boruda soğutucu akışkanın basıncı düşürülerek buharlaştırıcıda düşük sıcaklıkta kaynamaya zorlanır ve tamamen gaz fazına geçen soğutucu akışkan, sıkıştırılmak üzere tekrar kompresöre döner (Sakallı, 2012). İki veya daha çok bölmeli olabilen buzdolaplarında bölmeler, farklı

buharlaştırıcılarla soğutulacağı gibi aynı buharlaştırıcı üzerinden geçirilen havanın bölmeler arasında dolaştırılması ile de soğutulabilir (Sakallı, 2012).



Şekil 2.1: Buzdolabında buhar sıkıştırmalı soğutma çevrimi (Sakallı, 2012).

2.4.1 Ev tipi buzdolaplarında sıcaklık dağılımı

Sıcaklık kontrolü, gıdaların belirlenen depolama süresi içinde buzdolaplarında güvenli bir şekilde depolanabilmesi nedeniyle önemlidir. İngiltere'deki düzenlemeler, gıdaların mikrobiyal güvenliği açısından ev tipi buzdolaplarının 5°C'den yüksek sıcaklıklarda çalıştırılmamasını tavsiye etmektedir (James ve James, 2008). James ve James (2008), ev tipi buzdolaplarında sıcaklık dağılımı ile ilgili gerçekleştirilen çalışmaları derlediklerinde, Londra'daki buzdolapların yaklaşık %70'inin soğutucu bölme sıcaklıklarının 5°C üzerinde olduğunu belirtmişlerdir. Kuzey İrlanda'da ise bu oran %71'dir. Yeni Zelanda'da ev tipi 50 buzdolabı ile yapılan çalışmada, buzdolapların %60'ının soğutucu bölme sıcaklığının, tavsiye edilen 0-4°C'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Yunanistan'da ise 136 buzdolabı arasından 10°C üzerinde çalışma sıcaklığına sahip olan buzdolabı oranının %25 olduğu belirlenmiştir. Çin'de, 6°C'nin altında çalışma sıcaklığına sahip buzdolabı oranı sadece %2,3 iken buzdolapların %34,1'inin 8-12°C'de; %34,1'inin 12-14°C'de ve %29,5'inin ise 14 °C üzerinde sıcaklıklarda çalıştıkları tespit edilmiştir (James ve James, 2008). Linares ve diğ. (2010), kıyma gibi dayanıksız gıdalar için tavsiye edilen depolama sıcaklığı 4,3°C olarak verilse de buzdolaplarının sağladığı gerçek koşulun 8,3°C olduğunu belirtmişlerdir. James ve diğ. (2008), ev tipi buzdolaplarının sıcaklık performanslarını analiz ettikleri çalışmada, Fransa'da et ürünlerinin %75'ten

daha fazlasının 4ºC'den daha yüksek sıcaklıklarda, İsveç'te ise kıyma örneklerinin %22'sinin ise 4 ºC'den daha yüksek sıcaklıklarda depolandıklarını tespit etmişlerdir.

2.5 Tepki Yüzey Yöntemi

Tepki yüzey yöntemi, matematik ve istatistik tekniklerinden oluşur; modellemede ve optimizasyonda kullanılır. Uygun deneysel dizayn verilerinin regresyon analizi temeline dayanır. Tepki yüzeyleri ve tasarımları problemlerinde, bağımsız değişken ile tepki arasındaki ilişki bilinmez. Bu nedenle tepki yüzeyleri ve tasarımları problemlerinde ilk adım, bağımsız değişkenler ve tepki arasındaki doğru fonksiyonel ilişkiler için uygun bir yaklaşımın belirlenmesidir. Bu ilişkinin belirlenmesinde genellikle derece fonksiyon polinomlarından yararlanılır. Bağımsız değişkenler ile tepki arasında doğrusal bir ilişki var ise birinci derece modelin uygun olacağı; ancak sistemde bir eğrilik söz konusu ise ikinci ve daha yüksek derece bir modelin uygun olacağı söylenebilir. Tepki yüzeyleri ve tasarımları yaklaşımının esas konusu; optimum işlem koşullarının belirlenmesidir. Tepki yüzeyi metodunda amaç bir çok değişken tarafından etkilenen tepkinin optimum yapılması ve tepkiyi optimum yapan karar değişkenlerinin değerinin belirlenmesidir. Temel ilkesi, başlangıç parametreleri ile ürün parametreleri arasındaki ilişkileri tanımlayan regresyon denklemleri yardımıyla ürün özellikleri ile proses değişkenleri (bağımsız değişkenler) arasındaki bağlantıyı belirlemeye dayanır. Sonuçlar bir özelliğe karşı iki proses parametresi arasındaki ilişkiyi gösteren üç boyutlu grafikle verilerek, bağımsız değişkenin etkisinin nasıl olduğunu ve iki bağımsız değişkenin interaksiyonunu belirlemede kullanılır (Mulvaney ve Rizvi, 1993).

Genel olarak tepki yüzey yöntemi; proses veya ürün için önemli olan kritik faktörlerin belirlenmesi, test edilecek faktörlerin seviye aralıklarının belirlenmesi, deney deseninin, spesifik test örneklerinin belirlenmesi, denemelerin yapılması ve denemelerden elde edilen verilerin tepki yüzey yöntemi ile incelenmesi, grafiklerin çizilmesidir (Mulvaney ve Rizvi, 1993). Tepki yüzey yöntemi geleneksel deney yöntemlerinden daha etkindir. Model denklemlerin oluşturulması için (2.1) no'lu eşitlikte gösterilen ikinci derece veya farklı derecedeki polinom denklemler kullanılır. İkinci derecede model;

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^{2} \sum_{j=i+1}^{3} \beta_{ij} \chi_i \chi_j \qquad \textbf{(2.1)}$$

Eşitlikte yer alan

Y: Tepki

β_0: Kesişim terimi

β_i: Lineer (birinci derece) regresyon katsayısı

β_{ii}: Kuadratik (ikinci derece) regresyon katsayısı

β_{ij}: Etkileşim regresyon katsayısı

X_i ve X_j: Bağımsız değişkenler olarak simgelenmektedir.

Tepki yüzey yönteminin uygulanmasında başlıca üç aşama vardır. Bunlar sırasıyla, deney tasarımı, verilerin analizi ve optimizasyon olarak adlandırılabilir. Tepki yüzeylerinin analiz edilmesi ve modellenmesi büyük ölçüde iyi bir deney tasarımına bağlıdır. Faktör seviye ve aralıkları belirlendikten sonra deney tasarımı yapılabilir. İkinci derece modeller için merkezi komposit tasarımı en yaygın kullanılan deneysel tasarımdır. Veri analizi aşamasında da elde edilen verilerin hangi modele uyduğu ANOVA sonuçları ve regresyon katsayıları ile bulunur. Seçilen eşitlik kullanılarak da tepkilerin faktörlere göre değişimi iki veya üç boyutlu şekillerle gösterilir. Son aşama olan optimizasyonda ise istenen tepkiyi elde edebilmek için gerekli olan optimim faktör seviyeleri belirlenir (Myers ve Montgomery, 2002).

Tepki yüzey yöntemi ile birden fazla faktörün etkilediği birkaç tepkinin optimum değeri alması için optimizasyon yapılabilmektedir. Tepki yüzey yöntemi, deneysel tasarım, regresyon analizi ve optimizasyon gibi yöntemleri göz önüne almaktadır. Tepki yüzeyi, aralarında matematiksel ilişki olan bağımsız değişkenlerle bağımlı değişkenleri aynı anda temsil eden grafiktir. Bu grafik, faktörlerin belli bir tepkiyi nasıl etkilediğini daha açık anlamak için yararlıdır. Bir model kurulmadan optimizasyon problemini çözmek olanaksızdır. Model kurmak için de bir seri deneysel verilere ihtiyaç vardır. Bu tasarım yönteminde üç tür tasarım noktası vardır. Bunlar sırasıyla (Myers ve Montgomery, 2002):

1. İki düzeyli faktöriyel ya da parçalı faktöriyel noktalar: Bunlar -1 ve +1 düzylerinin tüm olası kombinasyonlarını içerir. Bu noktalar 2^n ile gösterilir. Burada "n" bağımsız değişken sayısıdır. -1 ve +1 ile gösterilen düzeyler, bağımsız değişkenin sırasıyla minimum ve maksimum değerlerini gösterir. İki bağımsız değişkenin olduğu durumda 4 faktöriyel tasarım noktası vardır. Bu noktalar; (-1, -1), (+1, -1), (-1, +1), (+1, +1) şeklinde gösterilir.

2. Eksenel noktalar: Eksenel noktalar, merkezi nokta (0) ve -/+α değerlerini alarak oluşturulan noktalardır. Bu nokta 2n ile gösterilir. Eksenel noktalar iki bağımsız değişken için (-α, 0) (+α, 0) (0, -α) (0, +α) şeklinde yazılabilir. $(2^n)^{1/4}$ eşitliği ile elde edilen α minimum ve maksimum değerlerin dışında bir değerdir ve genellikle 1'den büyüktür. α'nın değeri, eksenel noktaların konumunu belirler. Bu noktalar modelin eğriliğini belirlemede kullanılır.

3. Merkezi noktalar: Seçilen bağımsız değişkenlerin 0 seviyesindeki noktalarıdır. 0 ile gösterilen düzey, bağımsız değişkenler için belirlenen minimum ve maksimum değerlerin ortalaması alınarak bulunur. Merkezi noktalar (0,0), genellikle 4 ya da 6 kez, deneysel hataları tespit etmek için kullanılır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Malzemeler

Kıyma örnekleri, Maret A.Ş.'den (İstanbul) temin edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerde seyreltimlerde fizyolojik tuz çözeltisi (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), TMAB sayımında Tryptic Soy Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *Pseudomonas* spp. sayımında Cetremide Agar ve zenginleştirici olarak gliserol (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır.

HS/SPME yöntemiyle kıymada uçucu organik bileşenlerin (VOCs) tespitinde SPME fiber, vial ve PTFE/silikon septumlar (Agilent, USA) kullanılmıştır.

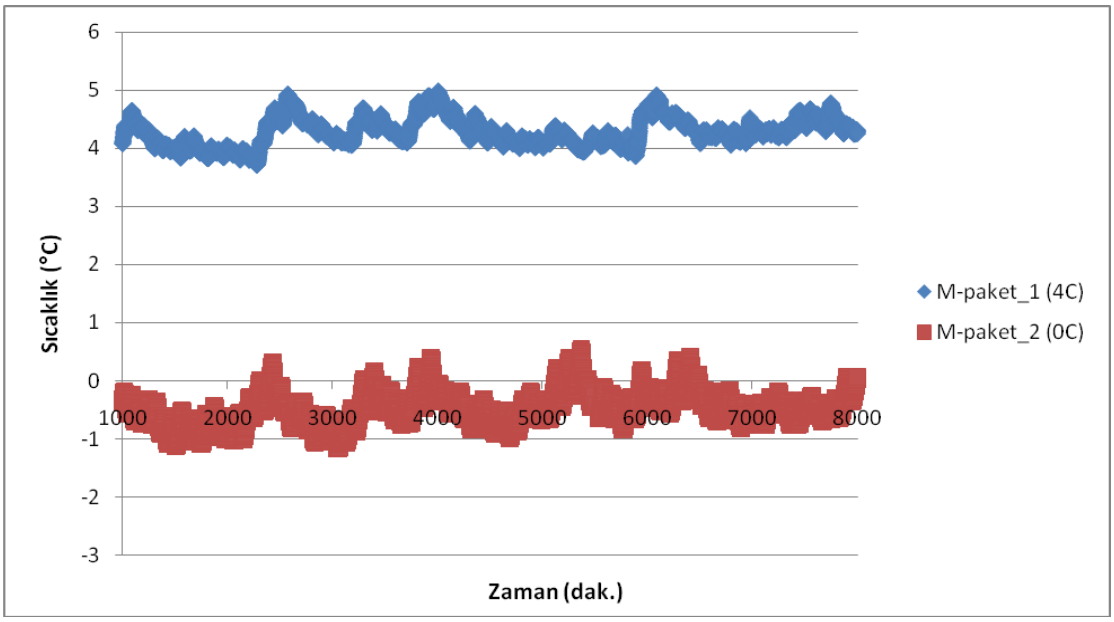
3.1.2 Ambalaj materyali

Vakum paketlemede Volved Elektronik Ltd Şti'den (İstanbul) temin edilen 23°C'de 52,4 ml/m^2/gün O_2 geçirgenliğine sahip (PET/PA, 20x30 cm) paketler kullanılmıştır. Aerobik paketleme materyali olarak ise Korozo Ambalaj San. ve Tic. A.Ş.'den (İstanbul) temin edilen ambalaj (HDPE, 20x30 cm) kullanılmıştır.

3.1.3 Test paketleri

Isı aktarımı ile ilgili deney parametrelerinin soğutma sırasındaki davranışının belirlenebilmesi için kıymanın gösterdiği davranış profiline benzer özellik gösteren test paketleri (M-paket-MADI Type 1250, -1°C) (Milano, İtalya) kullanılmıştır (Şekil 3.1).

M-paketlerin geometrik merkezlerine yerleştirilen bir sıcaklık sensörü, ölçüm süresi boyunca sıcaklık bilgilerinin kaydedilebilmesini sağlar. Kullanılan M-paketler 10cmx10cmx5cm ölçüsünde olup paket ağırlıkları 500 g'dır.



Şekil 3.1: Test paketlerinin soğuma profilleri.

3.2 Metot

3.2.1 Kıymaların hazırlanması

Vakumlu pakette Maret A.Ş.'den temin edilen dana bonfileden 2 kere çekilmiş kıyma örnekleri, soğutmalı kap ile taşınarak 2 saat içerisinde laboratuvara getirilmiş ve analize kadar geçen süre içinde 4°C'de muhafaza edilmiştir. Aseptik koşullar altında 100'er g parçalara ayrılan kıyma örnekleri, vakum pakete konulduktan sonra vakum cihazı yardımıyla (Issue, Volved Elektronik LTD ŞTİ, İstanbul) vakumlanmıştır (400 mbar). Aerobik olarak paketlenen kıyma örneklerinde ise paket içindeki fazla hava çıkarıldıktan sonra ambalajın ağzı kapatılmıştır. Hazırlanan kıyma örnekleri analiz süresince, sıcaklık salınımı kontrol edilen ve sıcaklık değerleri ayarlanmış buzdolaplarında depolanmıştır. Tüm analizler, iki tekrar ve iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir (N=2x2).

3.2.2 Mikrobiyolojik analiz

3.2.2.1 Örnek hazırlama ve sayım

Aseptik olarak tartılan (25 g) kıyma örnekleri 225 ml fizyolojik tuz çözeltisi içinde bir dakika süreyle "stomacher"da (IUL, S.A., Barcelona, Spain) homojenize edildikten sonra ileri seyreltimler yapılmış, örneklerde TMAB sayımı ve *Pseudomonas* spp. sayımları gerçekleştirilmiştir.

Ekimi yapılan petriler, TMAB sayımda 30˚C'de 48 saat, *Pseudomonas* spp. sayımında ise 25˚C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gerçekleştirilen koloni sayımları log kob g^{-1} birimine çevrilerek yorumlanmıştır.

3.2.3 pH ölçümü

pH tayini için 10 g kıyma örneği tartılıp üzerine 100 ml damıtık su ilave edilip manyetik karıştırıcıda yaklaşık 10 dak. karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir (Serdaroğlu, 2010). Karışımın pH değeri, pH metrede (WTW Inolab marka Terminal 740 model, WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Weilheim, Germany) okunmuştur.

3.2.4 Tiyobarbutirik asit (TBA) sayısının belirlenmesi

TBA sayısının belirlenmesi, yağların oksidasyon ürünlerinin 2-Tiyobarbutirik asit ile pembe renk oluşturması reaksiyonuna dayanmaktadır (Linares ve diğ., 2007; Rhee ve Myers, 2003).

15 g kıyma örneği tartılarak bir beherde 30 ml %7.5 TCA eklenerek 1 dak. boyunca 5000 rpm'de homojenize edilir. Karışım daha sonra Whatman No 1 filtre kağıdı yardımıyla süzülür. Toplanan süpernatanttan vidalı kapaklı tüplere 5'er ml aktarılır ve üzerine 5 ml 20 mM TBA (0,72 g TBA+250 ml su) çözeltisinden eklenerek kuvvetlice çalkalanır. Tanık için başka bir deney tüpüne 15 ml su+30 ml %7,5 TCA eklenerek diğer işlemler aynen uygulanır. Tüpler, 45 dak. boyunca 85°C'lik su banyosunda bekletilir. Oda sıcaklığında soğutulan tüpler, spektrofotometre tüplerine aktarılarak Lambda 35 UV VIS. Spektrofotometrede (Perkin Elmer, Inc, USA) 538 nm dalga boyunda tanığa karşı absorbansları okunur. TEP çözeltisinin %7.5 TCA içerisinde hazırlanması ile standart eğri oluşturulur. Okunan absorbans değerleri standart eğriden belirlenen katsayı (K) ile çarpılarak TBA sayısı kg örnekte mg malonaldehid olarak hesaplanır (Pikul ve diğ., 1989).

3.2.5 HS/SPME GC-MS

3.2.5.1 HS/SPME

Kıymada uçucu organik bileşenlerin tespiti (Volatile organic compounds: VOCs), "headspace" (HS) katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi (HS/SPME) kullanılarak tespit edilmiştir. VOCs adsorpsiyonu için CARBOXEN/PDMS (75 μm

film kalınlığı, 1 cm iğne uzunluğu ve 24 ga iğne boyutu) fiber (Agilent, USA) kullanılmıştır.

HS/SPME yöntemiyle VOCs tespitinde Perez ve diğ. (2008) metodu kullanılmıştır. Analizlerde, kıyma örneği cam şişeye konulmuş ve şişe ağzı hermetik olarak PTFE/silikon (20 mm, Agilent) septum ile kapatılmıştır. Tepe boşluğundaki gazın sıcaklığın etkisiyle konsantre edilmesi ve sıcaklığın şişe yüzeyinde homojen dağılımının sağlanması amacıyla ekstraksiyon ve adsorpsiyon işlemleri süresince şişeler, elektrikli ısıtıcı üzerine yerleşirilen sıcak su banyosunda tutulmuştur. 40°C'deki sıcak su banyosunda 30 dak. süreyle ekstraksiyon işleminin ardından şişe tepe boşluğuna fiber verilerek aynı sıcaklıkta 60 dak. adsorpsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Fiberin şişe tepe boşluğundaki yüksekliği analiz süresince sabit tutulmuştur. Uçucu bileşenlerin desporpsiyonu ise GC-MS enjektör inletinde 10 dak. sürede gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2 GC-MS

GC-MS analizleri, Agilent 7890A gaz kromatografisi ve Agilent 5975C kütle spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Agilent, USA). Taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dak. akış hızında He kullanılmıştır. Enjeksiyon portunda kullanılan SPME linerın (0.75 mm x 6.35 mm x 78.5 mm, Agilent) analizlere uygunluğuna dikkat edilmiştir. Enjeksiyon portu split modunda "1/10" split oranında çalıştırılmıştır. Ayrılmanın gerçekleştirildiği silika kapiler kolon DB-5MS'in uzunluğu 30 m, iç çapı 0,25 mm ve film kalınlığı 0,25 μm'dir (Agilent, USA). Fırın ön sıcaklığı, 40°C' de 5 dak. tutulduktan sonra 4°C/dak. hızıyla 150°C'ye çıkar; daha sonra 30°C/dak. hızıyla 250°C'ye çıkıp burada 5 dak. bekleyecek şekilde programlanır. Transfer hattı sıcaklığı ise 250°C'dir. Kütle spektroskopisi, elektron impact modunda 70 eV elekron enerjisi ve 25-400 m/z mass range (3,85 scans/s scan rate, 1 gain factor, 1200 V) MS "source" ve "source quadrupole" sıcaklıkları ise sırasıyla 230°C ve 150°C'ye ayarlanmıştır.

Ette bozulmanın yorumlanmasında, 8×10^5 (arbitrary units)'in altında pik alanına sahip bileşenler değerlendirmeye alınmamıştır.

Uçucu bileşenlerin kalitatif tespitinde WILEY ve NIST kütüphanelerinden yararlanmıştır.

3.2.6 Duyusal analiz

Kıymanın duyusal yönden analizleri, Arçelik A.Ş. çalışanlarından oluşan 6 kişilik eğitimli panelist grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Tüm panelistler, belirli aralıklarla eğitime alınarak çiğ ette koku oluşumu ve renk değişimi konusunda bilgilendirilmişlerdir.

Duyusal analizler, ISO 8589 standardına (ISO, 1988) uygun özellikteki Arçelik A.Ş. duyusal laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Vakum ve aerobik ambalajda depolanan kıyma örnekleri, buzdolabından çıkarıldıktan sonra ortam sıcaklığında (25°C) paketsiz olarak 5 dak. bekletilip duyusal analize alınmıştır. Kıyma örneklerinin duyusal analizlerinde koku, renk, parlaklık, genel dış görünüm ve genel tüketilebilirlik gibi kalite özellikleri değerlendirmeye alınmıştır. Duyusal analizlerde kullanılan forma Ek 1A'da yer verilmiştir.

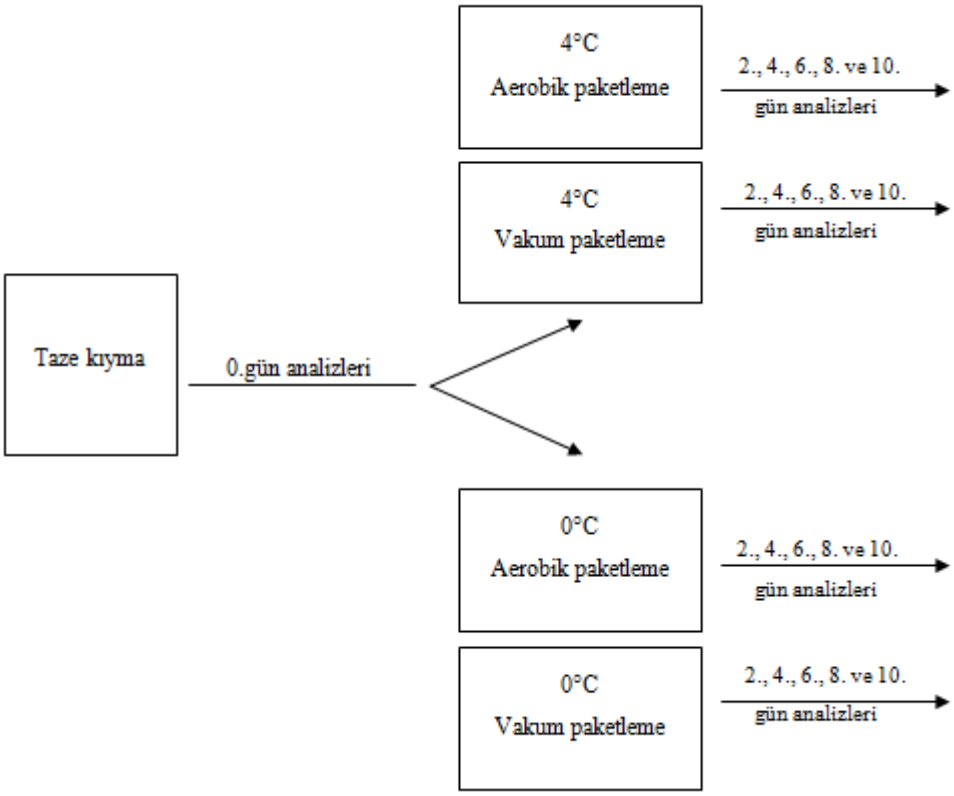
3.2.7 Deneysel tasarım

Çalışma kapsamında ilk bölümde, farklı sıcaklıkta depolamanın kıyma kalitesi üzerine etkisinin incelenmesi için çalışma sıcaklıkları 0 ve 4°C olarak belirlenmiştir. Paket tipinin etkisinin belirlenebilmesi için de aerobik ve vakum pakette depolama yapılmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde izlenen deney planı Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

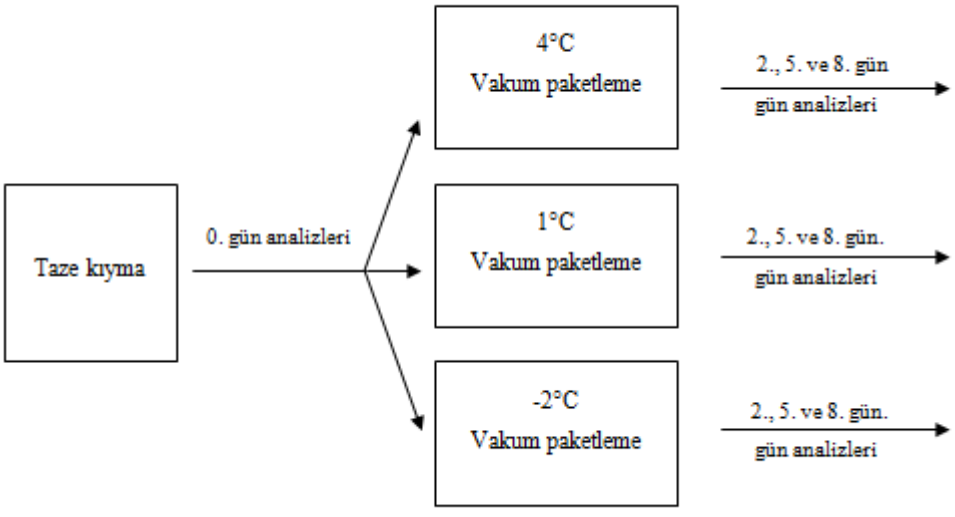
İkinci bölümde ise vakum pakette depolamada, depolama sıcaklığı ve depolama süresi faktörlerinin etkisinin incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesi amacıyla Tepki Yüzey Yöntemi'nin iki faktörlü, üç seviyeli Central Composite Face Design'dan yararlanılmıştır. Central Composite Face Design'da kullanılan faktörler ve seviyeleri Çizelge 3.1 ile gösterilmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde izlenen deney planı ise Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Central Composite Face Design için kullanılan faktörler ve seviyeleri.

Bağımsız değişkenler	**Semboller**	**Kullanılan seviyeler**		
		-1	**0**	**1**
Depolama sıcaklığı (°C)	T	-2	1	4
Depolama süresi (gün)	t	2	5	8



Şekil 3.2: Deneysel prosedürde ilk bölümde izlenen yönteme ait akış şeması.



Şekil 3.3: Deneysel prosedürde ikinci bölümde izlenen yönteme ait akış şeması.

3.2.8 İstatistiksel analiz

Çalışmanın ilk bölümünde farklı sıcaklık, depolama süresi ve paketlemenin soğuk depolamada kıymanın kalite parametrelerine etkisinin istatistiksel değerlendirmesinde Minitab (Minitab 16 Statistical Software for Windows®, Minitab Inc., Pennsylvania, USA) paket programı kullanılmıştır. Karşılaştırmalarda genel doğrusal modelleme (GLM) yöntemi ile varyans analizi (ANOVA) yapılmış ve ikili, üçlü interaksiyonların varlığı incelenmiştir. Tukey ikili karşılaştırma testiyle %95, p (0,05), güven düzeyinde ikili karşılaştırmalar yapılarak depolama sıcaklığı, depolama süresi ve paketleme (vakum veya aerobik paketleme) etkisinin sonuçlar üzerinde istatistiksel olarak önemli olup olmadığına karar verilmiştir. Pearson korelasyonu uygulanarak p (0,05) güven düzeyinde parametreler arası ilgi incelenmiştir. Analiz sonuçları ve interaksiyon tabloları Ek A2'deki çizelgelerde verilmiştir.

İkinci bölümde, optimum koşulların belirlenmesi amacıyla Central Composite Face Design kullanılarak Modde 5.0 (Umetrics, İsveç) programıyla deney tasarımı oluşturulmuştur. Seçilen reaksiyon parametreleri olan sıcaklık ve sürenin kıymanın kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deney tasarımına göre elde edilen veriler Modde 5.0 (Umetrics, İsveç) programında kullanılarak istatistiksel açıdan analiz edilmişlerdir. Çoklu regresyon yöntemi kullanılarak en uygun kuadratik (ikinci derece) modelin oluşturulması sağlanmıştır. Elde edilen tepkiler için geliştirilen modellerde aşağıda yer alan (3.1) ikinci derece polinom denklem kullanılmıştır:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i=1}^{2} \sum_{j=i+1}^{3} \beta_{ij} \chi_i \chi_j \quad \textbf{(3.1)}$$

Eşitlikte yer alan

Y: Tepki

β_0: Kesişim terimi

β_i: Lineer (birinci derece) regresyon katsayısı

β_{ii}: Kuadratik (ikinci derece) regresyon katsayısı

β_{ij}: Etkileşim regresyon katsayısı

X_i ve X_j: Bağımsız değişkenler olarak simgelenmektedir.

Varyans analizi (ANOVA) ile elde edilen modelin, tepkiler ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi tahminlemek için uygun olup olmadığı tespit edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Deneysel çalışmalarda, dana bonfileden iki kere çekilmiş kıyma kullanılmıştır. Arçelik A.Ş. Ar-Ge laboratuvarında yapılan analizler ile kıymanın %2,0 yağ içeriğine ve 0,95 (24,7°C'de) su aktivitesi (a_w) değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına Ek A2'de ayrıntılı olarak yer verilmiştir.

4.1 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.1.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı

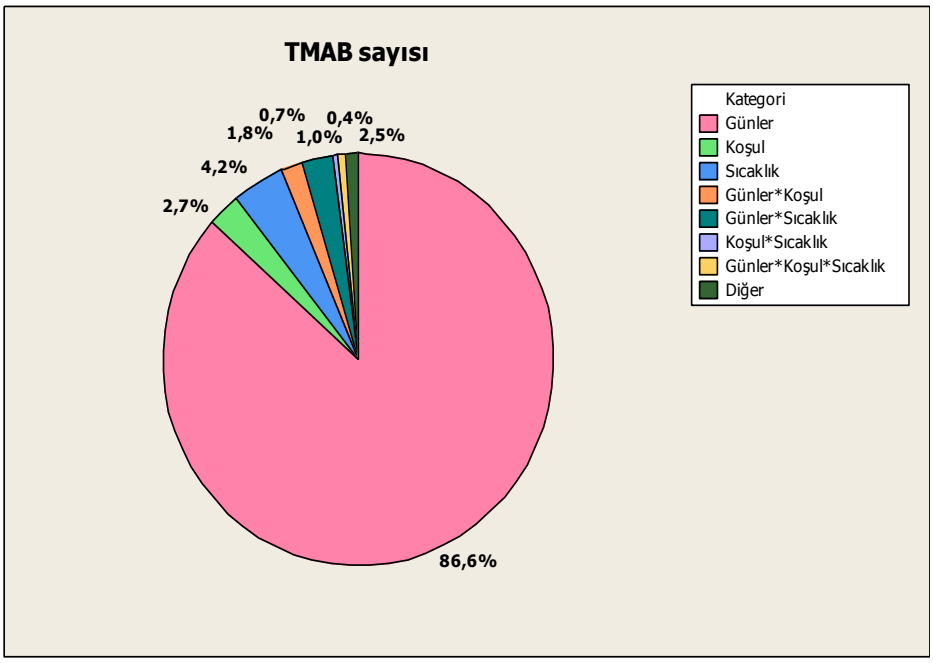
TMAB sayısının değişiminde etkili olan parametrelere ait interaksiyonlara Şekil 4.2'de; interaksiyonlara ait etki yüzdelerine ise Şekil 4.1'de yer verilmiştir.

İstatistiksel analizlere göre R^2 değeri %98,97 olarak olarak bulunmuş; kurulan doğrusal model ile değişkenliğin %98,97'si açıklanabilmiştir (Ek A2).

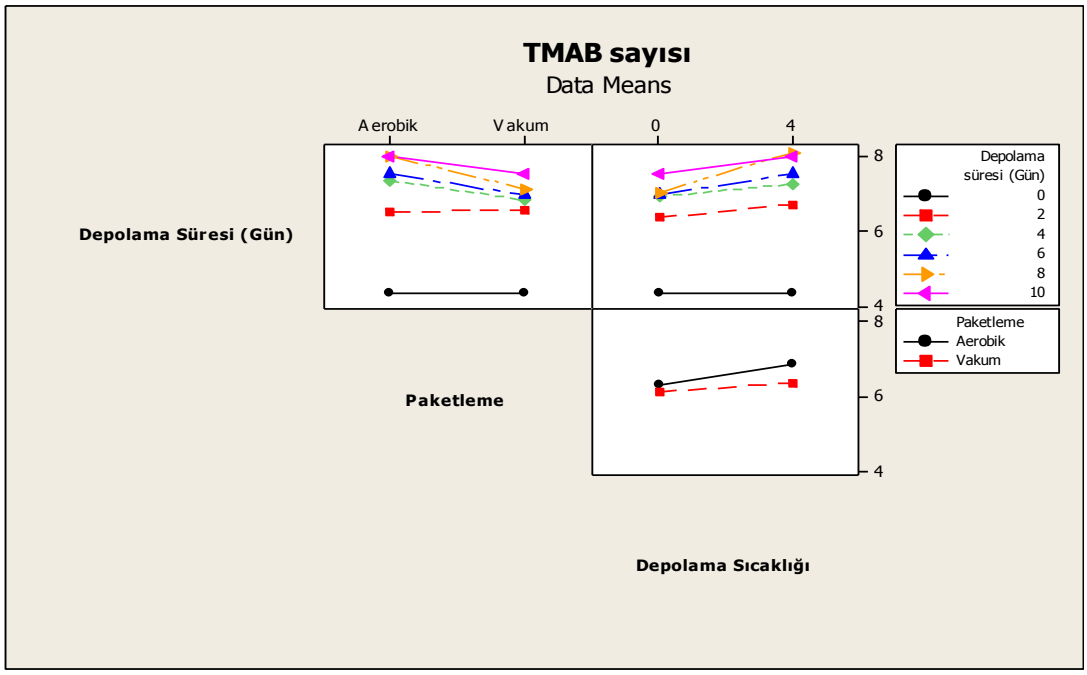
Kıyma örneklerine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde depolama süresi, farklı sıcaklık ve vakum-aerobik paket uygulamalarının tekli, ikili ve üçlü etkileşimlerinin depolama boyunca kıyma örneklerinde TMAB sayısı değişiminde önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Şekil 4.1 incelendiğinde, depolama süresinin %86,6 etki yüzdesiyle TMAB sayısının değişiminde en etkili parametre olduğu görülmektedir.

Kullanılan paketlerde oksijen seviyesi arttıkça (aerobik paketleme) daha yüksek TMAB sayısına ulaşılmıştır (Şekil 4.2). Depolama boyunca, günler arasındaki farkın genel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Buzdolabı sıcaklığında (4°C) depolanan kıymalar, düşük sıcaklıkta (0°C) depolanan örneklerle karşılaştırıldıklarında yüksek sıcaklıkta daha yüksek TMAB sayısı tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

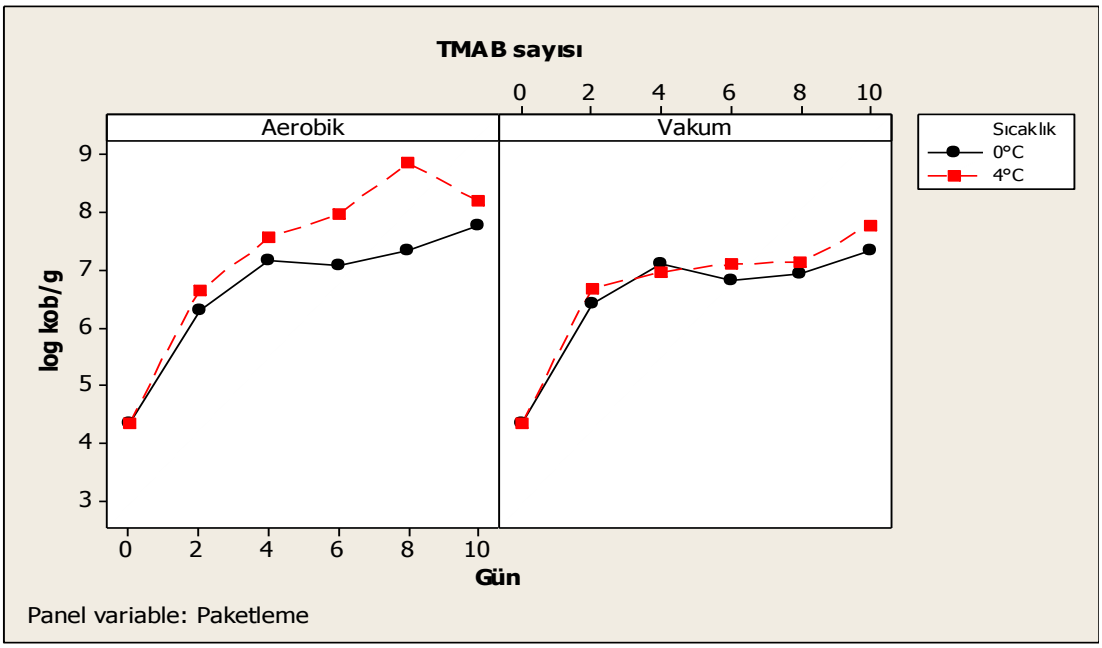


Şekil 4.1: Kıymada TMAB sayısı değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.



Şekil 4.2: Kıymada TMAB sayısı değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi.

4°C'de depolamada, aerobik pakette depolanan kıyma örneklerindeki TMAB sayısı artışı, vakum pakette depolananlara oranla daha yüksek olmuştur. 0°C'de ise aerobik ve vakum paketlenmiş örnekler arasında belirgin farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Farklı depolama koşullarında kıyma örneklerinde tespit edilen TMAB sayım sonuçları.

Kıyma örneklerinde toplam canlı sayısı sonuçlarının depolama süresince değişimi Tukey testi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Örneklerin başlangıç TMAB sayıları ilgili gıda grupları ile karşılaştırıldığında uyumluluk göstermektedir (Limbo ve diğ., 2010; Chounou ve diğ., 2012; Blixt ve Borch, 2002). Ancak tüm gruplarda TMAB sayıları 2. günden itibaren yüksek seviyelere (4°C, aerobik pakette 6,8; vakum pakette ise 6,7 log kob g^{-1}) ulaşmıştır. Ercolini ve diğ. (2006) ise 5°C'de aerobik pakette depolanan kıymalarda TMAB sayısının 2. günde 2,77'den 4,30 log kob g^{-1} seviyesine ulaştığını ve 6,38 log kob g^{-1} seviyesine ancak 6. günde ulaşıldığını belirtmişlerdir. Çalışmada, vakum pakette 0°C'de depolanan kıymalarda depolamanın 6. gününde 6,8 log kob g^{-1} TMAB sayısı (başlangıç 4,4 log kob g^{-1}) tespit edilmiştir. Gök ve diğ. (2007), çalışmada belirlenenin aksine vakum paketli kıymalarda depolama süresince daha düşük TMAB sayıları tespit etmişlerdir. (-1)-1°C'de vakum pakette depolanan ve başlangıç TMAB değeri 3,9 log kob g^{-1} olan kıymalarda, depolamanın 7. gününde ancak 0,6 artışla 4,5 log kob g^{-1} değeri elde edilmiştir (Gök ve diğ., 2007). Başlangıç bakteri sayısının olabildiğince düşük seviyede olması, örneklerde bozulmanın daha geç gözlemlenmesine neden olmaktadır.

Çizelge 4.1 incelendiğinde, iki farklı sıcaklıkta depolanan aerobik paketli örneklerin TMAB sayıları arasında 6. ve 8. günler arasında fark olduğu gözlenmektedir. Aynı günlerdeki vakum paketli örneklerin TMAB sayılarında ise sıcaklığa bağlı olarak fark tespit edilememiştir.

Çizelge 4.1: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait TMAB sayım ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları.

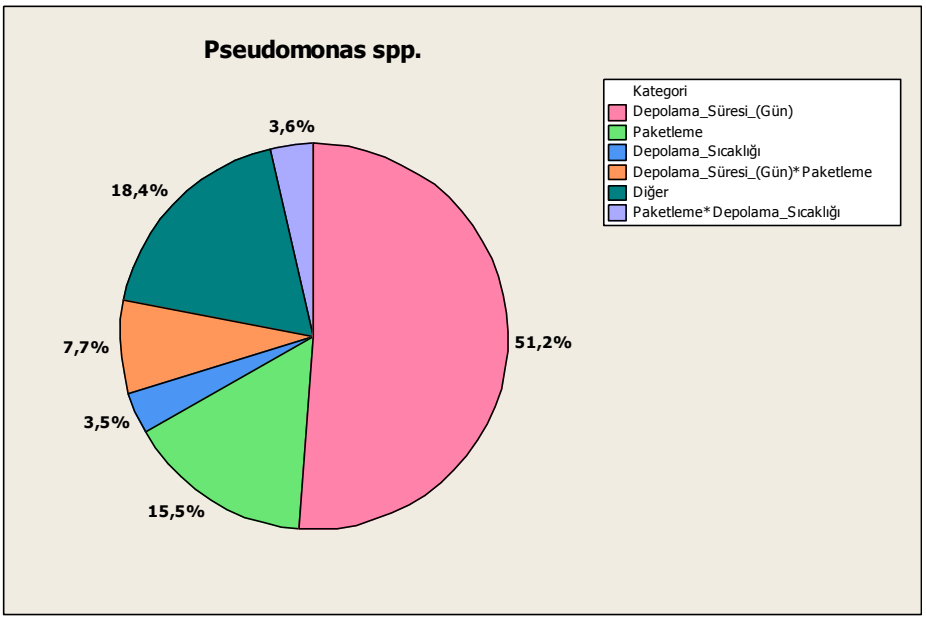
Depolama süresi (gün)	TMAB sayısı (log kob g^{-1})[1]			
	4°C		0°C	
	Aerobik	Vakum	Aerobik	Vakum
0	$4,4_A^{d}$	$4,4_A^{d}$	$4,4_A^{c}$	$4,4_A^{c}$
2	$6,8_A^{c}$	$6,7_A^{c}$	$6,3_A^{b}$	$6,4_A^{c}$
4	$7,6_A^{b}$	$7,0_{BC}^{bc}$	$7,2_{AB}^{a}$	$6,7_C^{b}$
6	$8,0_A^{b}$	$7,1_B^{bc}$	$7,1_B^{a}$	$6,8_B^{ab}$
8	$8,9_A^{a}$	$7,3_B^{ab}$	$7,2_B^{a}$	$6,9_B^{ab}$
10	$8,2_A^{ab}$	$7,8_A^{a}$	$7,8_A^{a}$	$7,3_A^{a}$

[1]Aynı sütunda ayrı (a-e) üst harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).
Aynı satırda ayrı (A-C) alt harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).

Yüksek sıcaklıkta (4°C) depolanan örneklere ait TMAB sayıları incelendiğinde depolamanın 4. gününde aerobik-vakum paketli örnekler arasında 0,6; 6. gününde 0,9 ve 8. gününde ise 1,6 log kob g^{-1} düzeyinde önemli farklılık tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıkta depolama ile aerobik-vakum paketli örneklerin TMAB sayısında farklılık tespit edilememiştir. Literatür çalışmaları değerlendirildiğinde Irkin ve diğ. (2011), 4°C'de depolanan aerobik ve vakum paketli kıymaların TMAB sayılarında farklılık tespit edememişlerdir. Mayr ve diğ. (2003) ise 4°C'deki aerobik-vakum paketli bifteklerin toplam canlı sayıları arasında 11.günde 3,2 log kob g^{-1} fark tespit etmişlerdir. Toplam canlı sayıları değerlendirildiğinde, vakum paketli örneklerde beklenenin üstünde sayım sonuçları elde edilmiştir. Bu durumun, uygulamadan kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

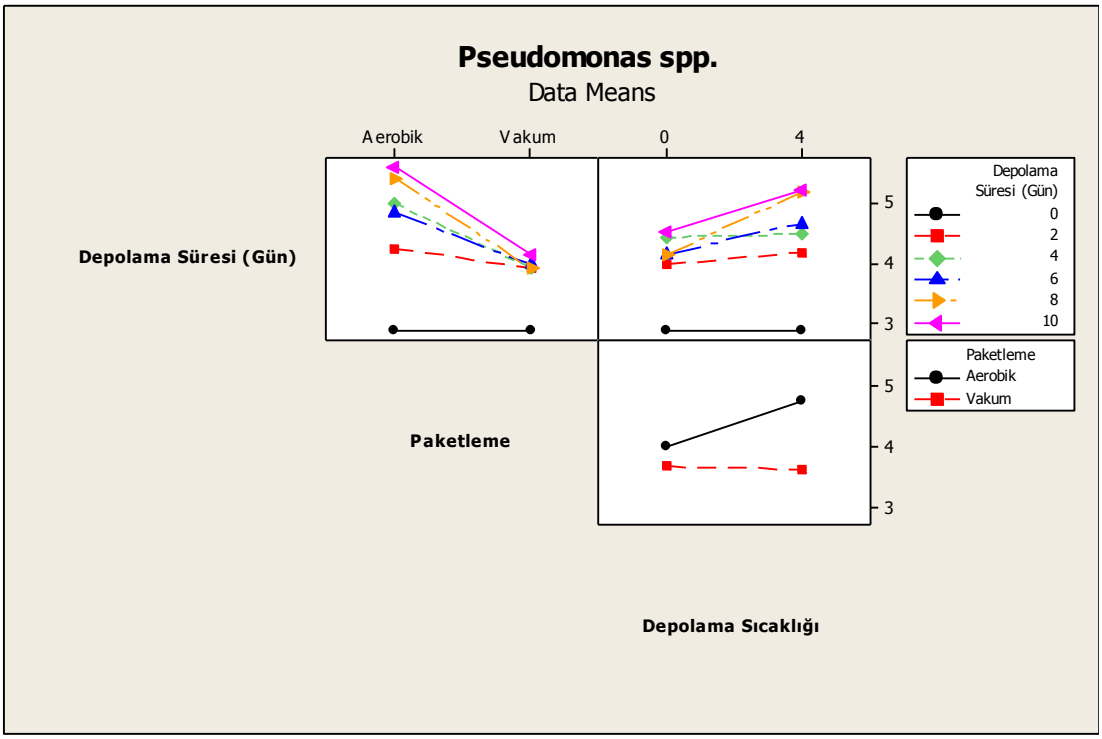
4.1.2 *Pseudomonas* spp. gelişimi

Pseudomonas spp. gelişimi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, TMAB sayısı değişimine benzer şekilde farklı sıcaklık ve paketlerde 10 gün süreyle depolanan kıyma örneklerinde tüm parametrelerin tekli ve ikili etkilerinin *Pseudomonas* spp. gelişimi üzerinde %95 güven düzeyinde etkili olduğu belirlenmiştir (R^2=%83,97) (Ek A2). *Pseudomonas* spp. gelişimi üzerinde en etkili parametre, %51,2 seviyesiyle depolama süresi olmuştur (Şekil 4.4).



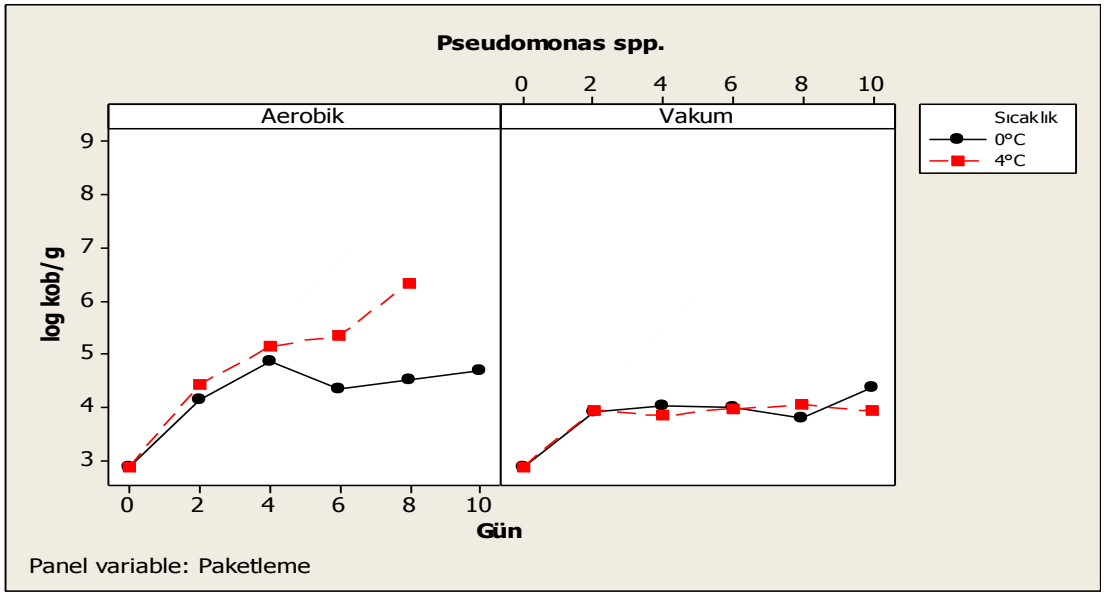
Şekil 4.4: Kıymada *Pseudomonas* spp. gelişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.

Depo ortamında oksijenin sınırlanması durumunda *Pseudomonas* spp. gelişimi, aerobik paketlenen örneklere göre daha düşük seviyede tespit edilmiştir. Farklı iki depolama sıcaklığının *Pseudomonas* spp. gelişimi üzerindeki etkisi TMAB sayısındaki değişime göre daha belirgin olmuştur. *Pseudomonas* spp. gelişimi, depolama süresince artış göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Kıymada *Pseudomonas* spp. gelişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi.

4 ve 0°C'de aerobik pakette depolanan örneklerin *Pseudomonas* spp. sayıları, depolamanın 6. gününde birbirlerinden farklılık göstermiştir (Şekil 4.6). Aynı sıcaklık koşullarındaki vakum paketli örneklerin *Pseudomonas* spp. sayıları ise zamana bağlı olarak değişiklik göstermemiştir (Şekil 4.6). Aynı sıcaklıkta depolanan aerobik ve vakum paketli örnekler karşılaştırıldığında ise örneklerin *Pseudomonas* spp. sayılarında, yüksek sıcaklıkta depolama (4°C) ile daha belirgin farklılık tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Farklı depolama koşullarında kıyma örneklerinde tespit edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları.

Kıyma örneklerinde *Pseudomonas* spp. sonuçlarının depolama süresince değişimi Tukey testi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Çalışma ile örneklerde tespit edilen başlangıç *Pseudomonas* spp. sayıları, literatürde belirlenen değerlerden düşüktür (Mayr ve diğ., 2003; Argyri ve diğ., 2011). 0°C'de depolanan örneklerin *Pseudomonas* spp. sayıları, aerobik ve vakum paketlemede farklılık göstermemiştir. 4°C'de depolamada ise aerobik ve vakum paketli örneklerin *Pseudomonas* spp. sayılarında depolamanın 6.günden itibaren önemli farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2). Vakum pakette 4°C'de depolanan örneklere ait *Pseudomonas* spp. sayıları ise D'Agata ve diğ. (2008) tarafından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde farklı sıcaklık uygulamasının (4 ve 0°C), vakum paketli örneklerin *Pseudomonas* spp. sayılarında farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklıkta (4°C) aerobik pakette depolanan örneklerde, düşük sıcaklıkta (0

°C) depolananlara oranla depolamanın 6. gününde 1,1 log kob g^{-1} ve 8. gününde ise 1,8 log kob g^{-1} daha yüksek *Pseudomonas* spp. sayıları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait *Pseudomonas* spp ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları.

Depolama süresi (gün)	***Pseudomonas* spp (log kob g^{-1})[1]**			
	4°C		**0°C**	
	Aerobik	**Vakum**	**Aerobik**	**Vakum**
0	$2,9_A{}^c$	$2,9_A{}^a$	$2,9_A{}^b$	$2,9_A{}^a$
2	$4,4_A{}^b$	$4,0_A{}^a$	$4,0_A{}^{ab}$	$3,9_A{}^a$
4	$5,1_A{}^{ab}$	$3,8_A{}^a$	$4,8_A{}^a$	$4,0_A{}^a$
6	$5,4_A{}^{ab}$	$4,0_B{}^a$	$4,3_B{}^{ab}$	$4,0_B{}^a$
8	$6,3_A{}^a$	$4,0_B{}^a$	$4,5_B{}^{ab}$	$3,8_B{}^a$
10	$6,5_A{}^a$	$4,0_B{}^a$	$4,7_{AB}{}^a$	$4,4_{AB}{}^a$

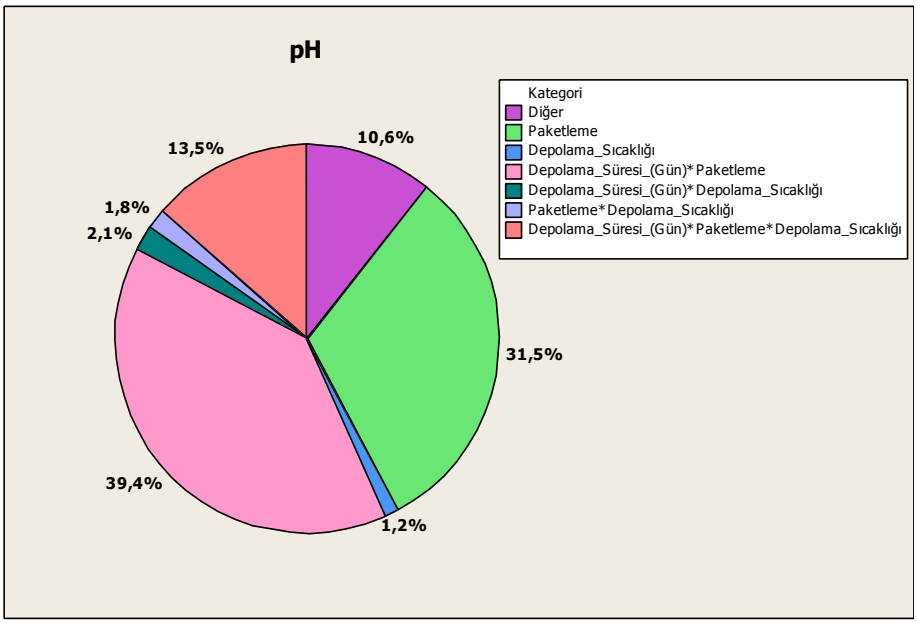
[1] Aynı sütunda ayrı (a-c) üst harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).
Aynı satırda ayrı (A-B) alt harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).

4°C'de aerobik pakette depolanan örneklerde tespit edilen *Pseudomonas* spp. sayıları, Ercolini ve diğ. (2006) ve Esmer ve diğ. (2012) tarafından gerçekleştirilen deneysel sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

4.2 Kıymada pH Değişimi

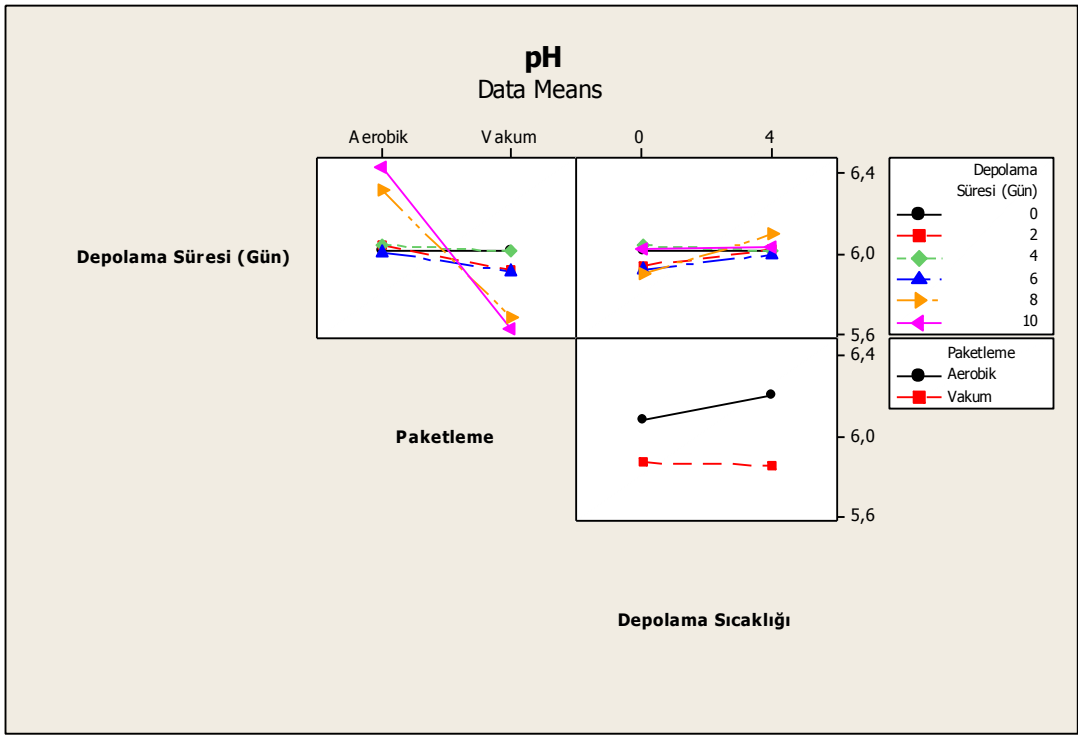
Kıymada farklı depolama koşullarının pH üzerindeki etkisi birlikte değerlendirildiğinde, farklı sıcaklık ve paketlerde 10 gün süreyle depolanan örneklerde pH değişimi üzerinde depolama süresi, depolama sıcaklığı ve paketlemenin üçlü etkisi ve tüm ikli etkiler önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama süresi*paket tipi etkileşimi pH değişimi üzerinde %39,4 seviyesinde etkiliyken paketleme tipi %31,5; depolama süresi*paket tipi*depolama sıcaklığı etkileşimi ise %13,5 seviyesinde etkili olmuştur (Şekil 4.7). Depolama süresinin pH değişimi üzerinde tek başına etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Kurulan doğrusal model ile değişkenliğin %90,36'sı açıklanabilmiştir (Ek A2).



Şekil 4.7: Kıymada pH değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.

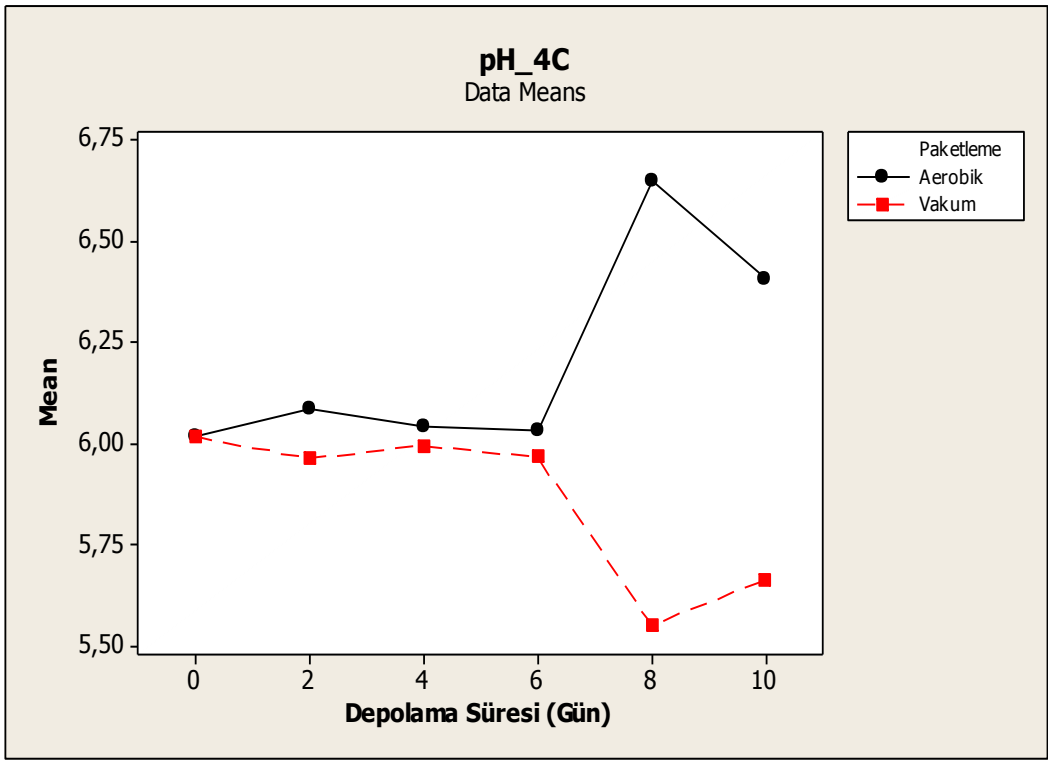
Depolamanın belirli gününden itibaren aerobik paketteki kıyma örneklerine ait pH değerlerinin, vakum pakettekilere göre zamana bağlı olarak artış gösterdiği; yüksek sıcaklıkta depolama ile gün bazında daha yüksek pH değerlerinin elde edildiği ve aerobik paketlenen örneklerin, vakum örnekleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek pH değerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Kıymada pH değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi.

Yüksek sıcaklıkta (4°C) aerobik ve vakum pakette depolanan kıyma örneklerine ait pH değişimleri farklılık göstermektedir. Her iki paketleme türünde de 6-8 ve 8-10. günler arasında eş zamanlı olarak değişimler gözlemlenmiştir.

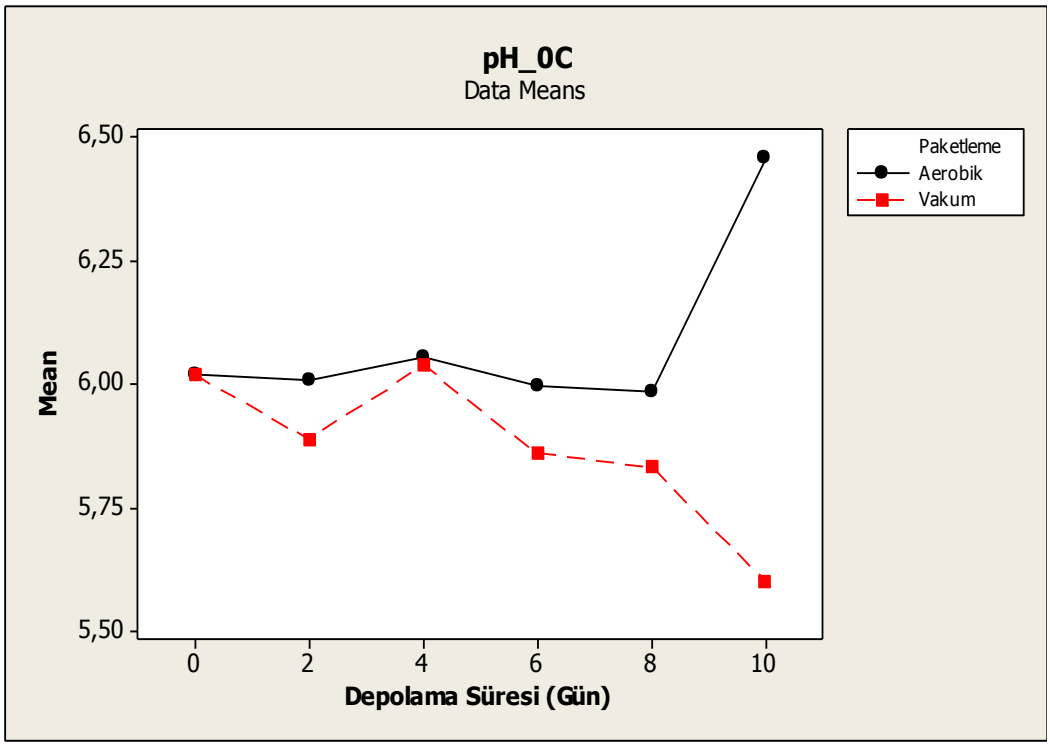
4°C'de depolama ile zamana bağlı olarak aerobik paketlenen kıymaların pH değerinde artış; vakum paketlilerde ise azalma olduğu belirlenmiştir. Başlangıçta 6,02 olan pH değeri, depolamanın 10. gününde aerobik paketlenen kıymalarda 6,41 değerine ulaşırken vakum örneklerinde ise 5,66'ya düşmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: 4°C'de kıymada pH değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi.

Aerobik paketlenen örneklerde, düşük sıcaklıkta (0°C) depolama ile 4°C'de depolamaya benzer olarak pH değerinin arttığı; vakum örneklerinde ise azaldığı dikkati çekmektedir (Şekil 4.10).

0°C'de depolanan aerobik ve vakum paketli örneklerde pH değerinde gözlemlenen önemli artış ve azalmanın 8-10. günler arasında gerçekleştiği gözlemlenmektedir. Aerobik ve vakum paketlenen kıymaların pH değerleri, depolamanın 10. gününde sırasıyla 6,46 ve 5,60 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

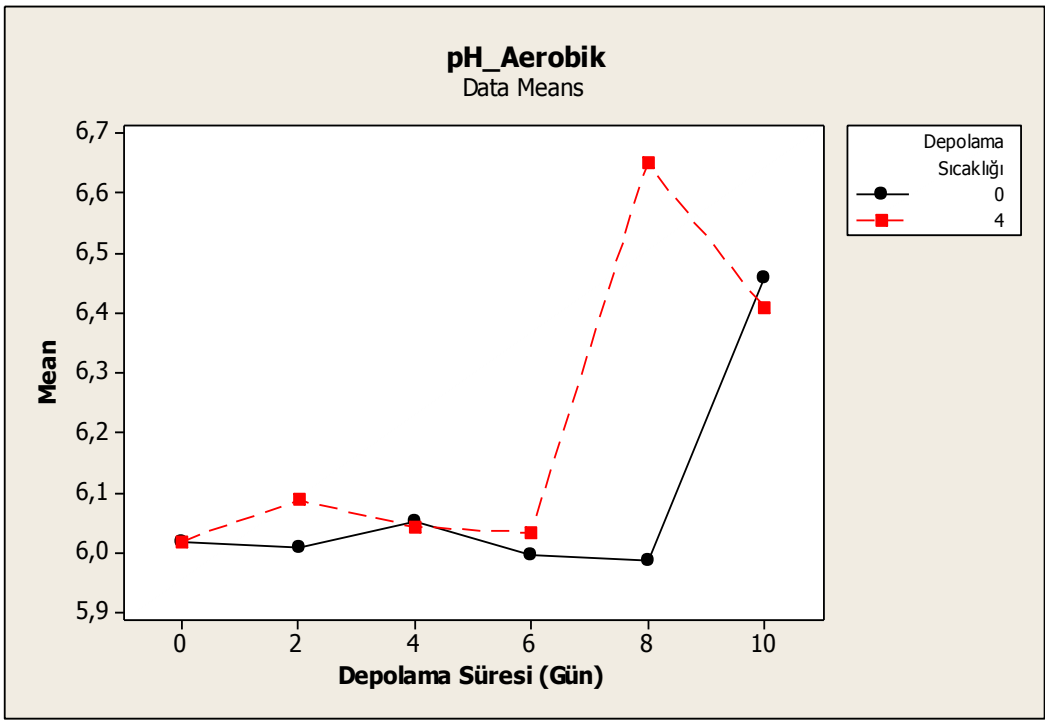


Şekil 4.10: 0°C'de kıymada pH değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi.

Oksijen varlığında depolama ile kıymada asitliğin azaldığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.11). Literatürde de konuyla ilgili benzer sonuca rastlanmıştır (Argyri ve diğ., 2011). Ercolini ve diğ. (2011) ise 5°C'de aerobik pakette depolanan kıymaların pH değerlerinde depolama süresince önemli seviyede farklılık oluşmadığını tespit etmişlerdir.

Şekil 4.11 incelendiğinde, yüksek sıcaklığın düşük sıcaklığa göre aerobik paketli örneklerde pH değerinde daha hızlı artışa neden olduğu gözlemlenmektedir. pH değerindeki artış, 4°C'de 0°C'ye göre depolamanın 6-8. günleri arasında daha belirgindir (Şekil 4.11). Alomirah ve diğ. (1998) ise 4°C'de aerobik koşulda depolanan kıymada pH değerindeki artışın depolamanın 4. gününden sonra gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Aerobik pakette depolanan kıymada gelişen çeşitli mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu oluşan amonyak, hidrojen sülfit ve serbest aminoasitlerin parçalanmasıyla oluşan aminler nedeniyle kıymada pH yükselmesinin gözlemlendiği tahmin edilmektedir.

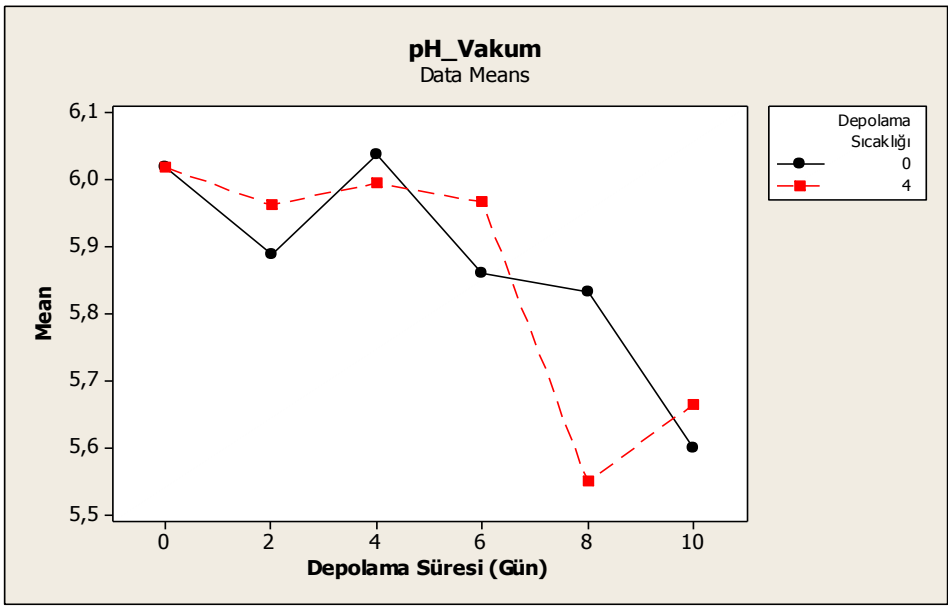


Şekil 4.11: Aerobik pakette pH değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

Vakum koşulunda depolamanın, her iki depolama sıcaklığında da kıymanın pH değeri üzerinde düşürücü etkisi olduğu Şekil 4.12'de gözlemlenmektedir.

Vakum koşulunda depolama ile ortamda sınırlı miktarda kalan oksijen etkisiyle *Pseudomonas* spp. gelişimi gözlemlense de laktik asit bakterilerinin bu koşulda hakim mikroflorayı oluşturduğu bilinmektedir (Blixt ve Borch, 1999; 2002; Doulgeraki ve diğ., 2012; Ercolini ve diğ., 2006). Vakum paketlemede gözlemlenen bu pH düşüşünün, laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asitten kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Koutsoumanis ve diğ., 2006; Gök ve diğ., 2009; Argyri ve diğ., 2011).

Et ve Et Ürünleri-Kıyma standardına göre pH değeri 6,2 olan ürünlerin hemen tüketilmesi gerektiği belirtilmektedir (TS 11566). 4°C'de aerobik pakette depolanan kıyma örnekleri, TS 11566'da belirtilen 6,2 pH limitini 6. günden; 0°C'de depolananlar ise 8. günden sonra aşmışlardır (Şekil 4.11). Vakum pakette depolanan kıyma örneklerinde ise her iki depolama sıcaklığında da depolama süresince limit pH değerine ulaşılmamış; tüm örneklerin pH değerleri depolama süresince azalarak 5,6 değerine yaklaşmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Vakum pakette pH değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

Farklı koşullarda muhafaza edilen kıyma örneklerinde pH değerlerinin değişiminin tespit edilmesi amacıyla Tukey testi uygulanmıştır (Çizelge 4.3). Aerobik pakette depolanan kıymaların pH değerleri 6,0-6,65; vakum paketli örneklerin ise 6,0-5,60 arasında değişim göstermektedir. En yüksek pH değerlerinin, 4°C'de aerobik pakette depolanan kıyma örneklerine ait olduğu dikkat çekmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait pH ortalamalarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları.

Depolama süresi (gün)	pH ortalamaları[1]			
	4°C		0°C	
	Aerobik	Vakum	Aerobik	Vakum
0	$6,02_A^c$	$6,02_A^a$	$6,02_A^b$	$6,02_A^a$
2	$6,09_A^{bc}$	$5,96_B^a$	$6,01_B^b$	$5,89_C^b$
4	$6,04_A^c$	$6,00_A^a$	$6,05_A^b$	$6,04_A^a$
6	$6,03_A^c$	$5,97_B^a$	$6,00_{AB}^b$	$5,86_C^b$
8	$6,65_A^a$	$5,55_C^b$	$6,00_B^b$	$5,83_B^b$
10	$6,41_A^{ab}$	$5,66_B^a$	$6,46_A^a$	$5,60_B^c$

[1] Aynı sütunda ayrı (a-c) üst harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$). Aynı satırda ayrı (A-C) alt harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).

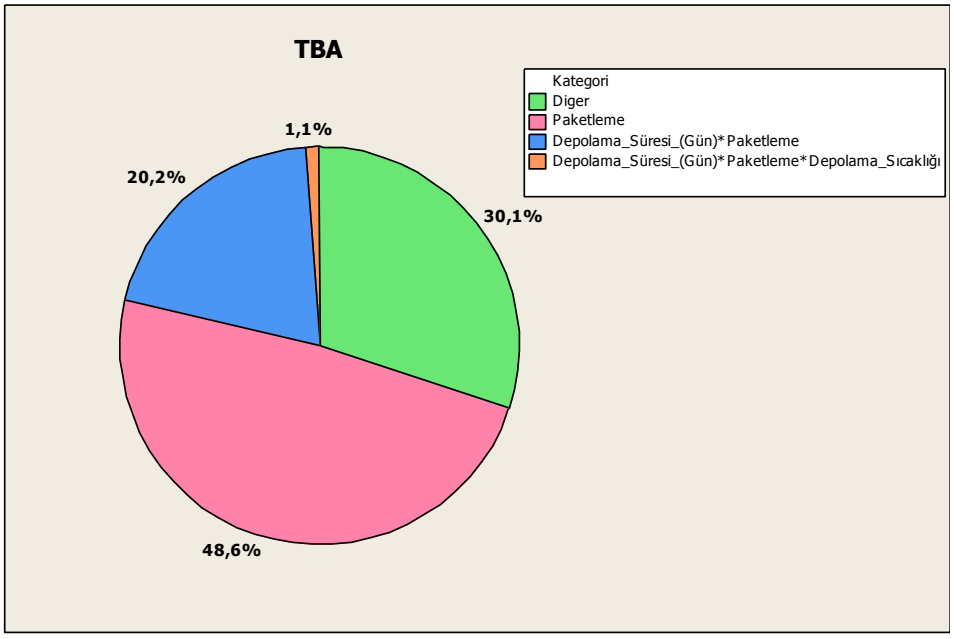
Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinin pH değerlerinin, literatüre benzer şekilde vakum pakette depolananlara oranla daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir (D'Agata ve diğ., 2008; Irkin ve diğ., 2011).

4.3 Kıymada Tiyobarbutirik asit (TBA) Sayısı Değişimi

TBA sayısı, gıdalarda lipit oksidasyonunun derecesini belirlemede kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem ile lipit oksidasyonunun ilerleyen aşamalarında oluşan keton ve aldehid gibi karbonil bileşiklerinin konsantrasyonları ölçülmektedir. Bu bileşikler, yağlı gıdalarda çeşitli kötü tat ve kokuların oluşmasına neden olur. Artan TBA sayısı, ürünün kabul edilemez duruma gelmesine neden olur.

Analiz sonuçları değerlendirildiğinde (Şekil 4.13), farklı sıcaklık ve paketlerde 10 gün süreyle depolanan kıyma örneklerinde TBA sayısının değişimi üzerinde paketleme tipi (%48,6 etki yüzdesi), depolama süresi*paketleme tipi (%20,2 etki yüzdesi) ve depolama süresi*depolama sıcaklığı*paketleme tipi (%1,1 etki yüzdesi) etkileri önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

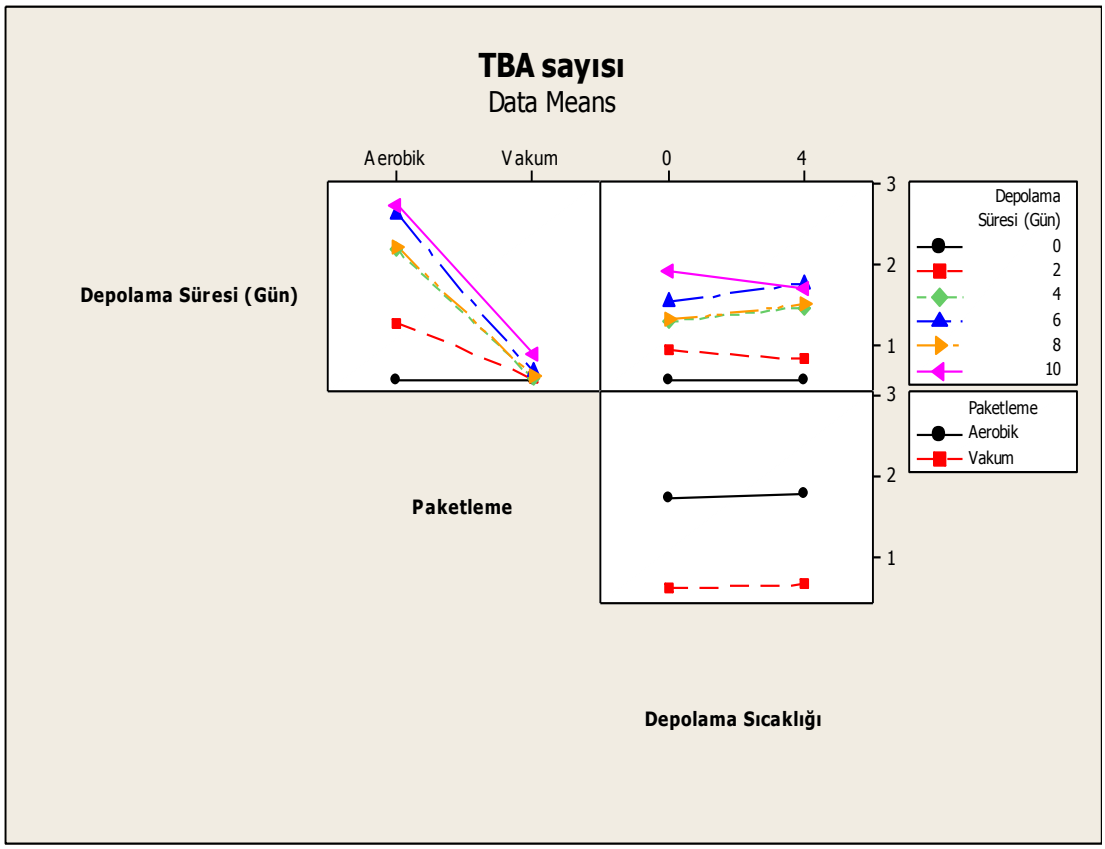
İstatistik analizlerine göre R^2 değeri %99,13 olarak olarak bulunmuştur. Bu durum, kurulan doğrusal model ile değişkenliğin %99,13'ünün açıklanabildiğini göstermektedir (Ek A2).



Şekil 4.13: Kıymada TBA değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.

Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerine ait TBA değerlerinin, vakum paketlekilere göre her gün daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14).

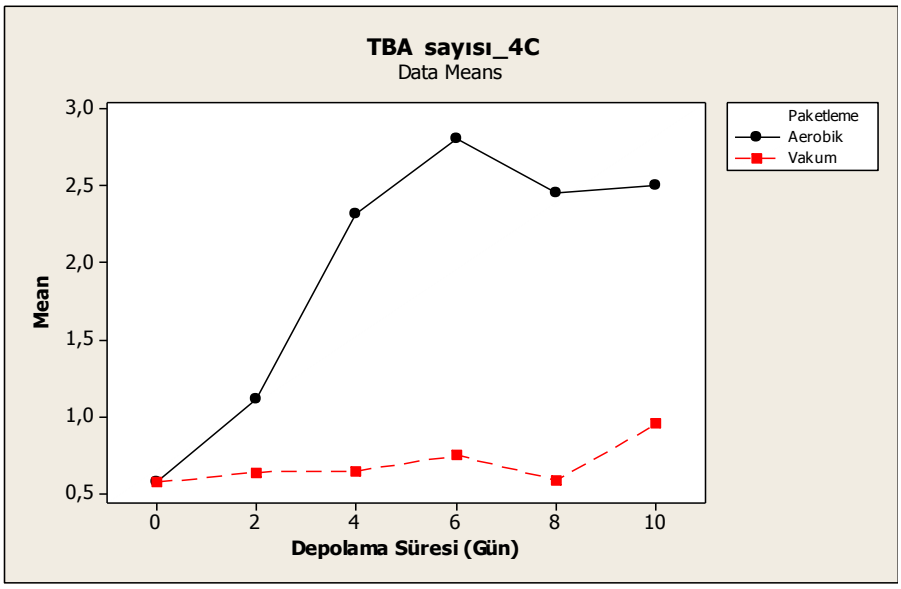
Yüksek sıcaklıkta depolanan kıymaların düşük sıcaklıktakilere oranla gün bazında daha çok okside olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: Kıymada TBA değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi.

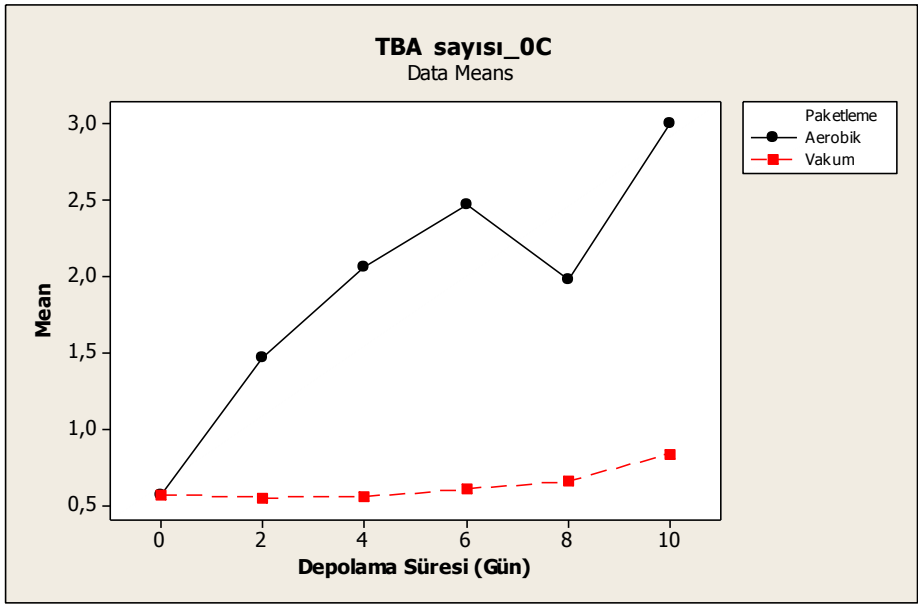
4°C'de aerobik pakette depolanan kıyma örneklerine ait TBA değeri depolamanın ilk 6 gününde hızla artarak 2,81 mg MDA kg^{-1} seviyesine gelmiştir (Şekil 4.15).

Vakum örneklerinde ise benzer artış tespit edilememiş; TBA değeri, 10 günün sonunda yaklaşık 0,95 mg MDA kg^{-1} olarak belirlenmiştir (Şekil 4.15). 4°C'de farklı paketlerde depolanan örneklere ait TBA değerleri arasındaki farklılık anlamlı ($p<0,05$) bulunmuştur.



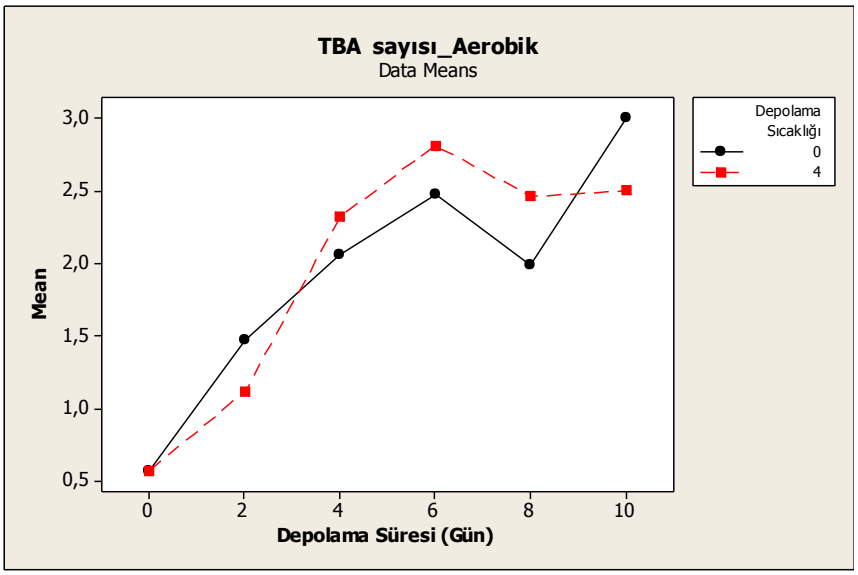
Şekil 4.15: 4°C'de kıymada TBA değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi.

Düşük sıcaklıkta ve aerobik pakette depolanan kıymada lipit oksidasyonu hızla artarak depolamanın 6. gününde 2,47 mg MDA kg^{-1}; 10. gününde ise 3,0 mg MDA kg^{-1} seviyesine ulaşmıştır (Şekil 4.16). Vakum depolamada ise oksidasyonun aerobik koşula göre daha yavaş olduğu; depolamanın 10. gününde ancak 0,84 mg MDA kg^{-1} seviyesine ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.16). 4°C'de depolamaya benzer şekilde 0°C'de depolama koşulunda da aerobik ve vakum paketlere ait TBA değerleri arasındaki farklılık önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.



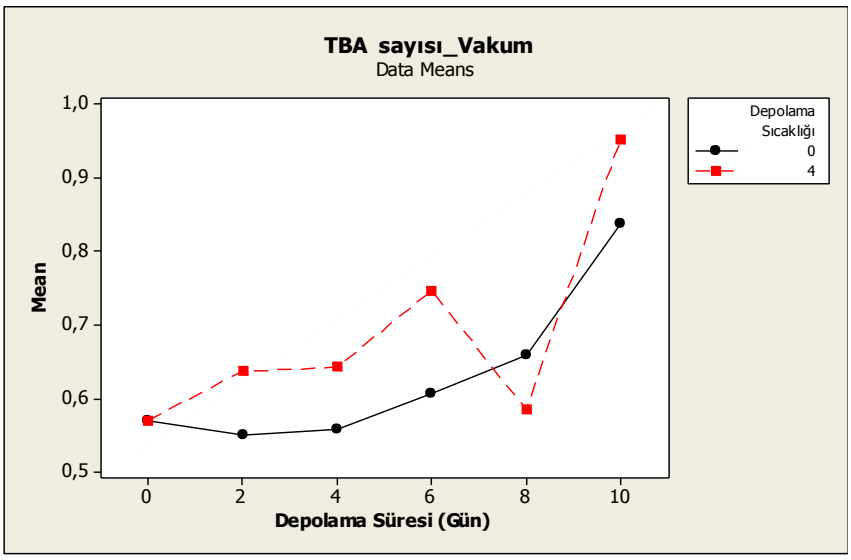
Şekil 4.16: 0°C'de kıymada TBA değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi.

Farklı sıcaklıklarda aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde ise depolamanın ilk 6 gününde, 4°C'de depolamada daha yüksek TBA artışı tespit edilmiştir (Şekil 4.17). Her iki depolama sıcaklığında da aerobik paketteki örneklerin TBA değerleri, gün bazında farklılık göstermiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.17: Aerobik pakette TBA değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

Şekil 4.17 ve Şekil 4.18 birlikte değerlendirildiğinde, aerobik paketlenen örneklerin, oksijenle temasından dolayı vakum örneklerine göre daha yüksek TBA sayısına sahip olduğu dikkati çekmektedir. 4°C'de depolamada bu fark ortalama 2,6 kat iken 0°C'de ise 3,5 kattır.



Şekil 4.18. Vakum pakette TBA değişiminde depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

Farklı koşullarda muhafaza edilen kıyma örneklerinde TBA değerlerinin depolama süresince değişiminin tespit edilmesi amacıyla Tukey testi uygulanmıştır (Çizelge 4.4). Örneklere ait başlangıç TBA değeri 0,57 mg MDA kg^{-1} olarak tespit edilmiştir. Bu değer, Chounou ve diğ. (2012) tarafından tespit edilen değerden daha düşüktür. Tespit edilen düşük TBA değeri ile analizde kullanılan kıymaların okside olmadığı, iyi kalitede olduğu söylenebilir.

Çalışmada, aerobik paketlerde depolanan örneklerde, vakum paketlerde depolananlara oranla daha yüksek TBA değerlerinin elde edildiği dikkati çekmiştir (Çizelge 4.4). Aerobik koşulda depolanan örneklerin TBA değerleri 0,5-3,0 mg MDA kg^{-1} arasında değişirken vakum paketli örneklerde bu seviye 0,5-1,0 mg MDA kg^{-1}'tir (Çizelge 4.4). Vakum paketli örneklerde tespit edilen düşük TBA değerleri, literatür sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (Chasco ve diğ., 2003; Gök ve diğ., 2009).

Çizelge 4.4: Farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait TBA ortalamalarının (mg MDA kg^{-1}) Tukey testi karşılaştırma sonuçları.

Depolama süresi (gün)	TBA ortalamaları (mg MDA kg^{-1})[1]			
	4°C		0°C	
	Aerobik	Vakum	Aerobik	Vakum
0	$0,57_A^d$	$0,57_A^c$	$0,57_A^e$	$0,57_A^b$
2	$1,14_B^c$	$0,67_C^c$	$1,47_A^d$	$0,55_C^b$
4	$2,32_A^b$	$0,64_C^c$	$2,06_B^c$	$0,56_C^b$
6	$2,81_A^a$	$0,75_C^b$	$2,47_B^b$	$0,61_C^b$
8	$2,49_A^b$	$0,58_C^c$	$1,98_B^c$	$0,66_C^b$
10	$2,50_B^b$	$0,95_C^a$	$3,00_A^a$	$0,84_C^a$

[1]Aynı sütunda ayrı (a-e) üst harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).
Aynı satırda ayrı (A-C) alt harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).

Çizelge 4.4. incelendiğinde her iki depolama sıcaklığındaki vakum paketli örneklerin TBA değerlerinde hem zamana hem de sıcaklığa bağlı olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). TBA değerleri, farklı sıcaklıktaki (4 ve 0 °C) aerobik paketli örneklerde zamana bağlı olarak artış göstermiştir. Bu sonuç, Ferioli ve diğ. (2010) tarafından yapılan çalışma sonucu ile benzerlik göstermektedir.

Yüksek sıcaklık uygulaması (4°C) ile aerobik paketli örneklerde 0°C'de depolamaya göre aynı günde daha yüksek TBA değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

TBA'nın duyusal olarak algılanabildiği seviye 2,0 mg MDA kg^{-1} olarak kabul edilmektedir (Zakrys ve diğ., 2008). 4°C'de aerobik paketleme ile bu seviyeye 2-4 gün; 0°C'de aerobik paketleme ile de 4. gün ulaşılmıştır (Çizelge 4.4). Vakum paketli örneklerin TBA değerleri ise her iki depolama sıcaklığında algılama limitinin altında kalmıştır (Çizelge 4.4).

4.4 Kıymada GC-MS ile Koku Bileşenlerinin Tespiti

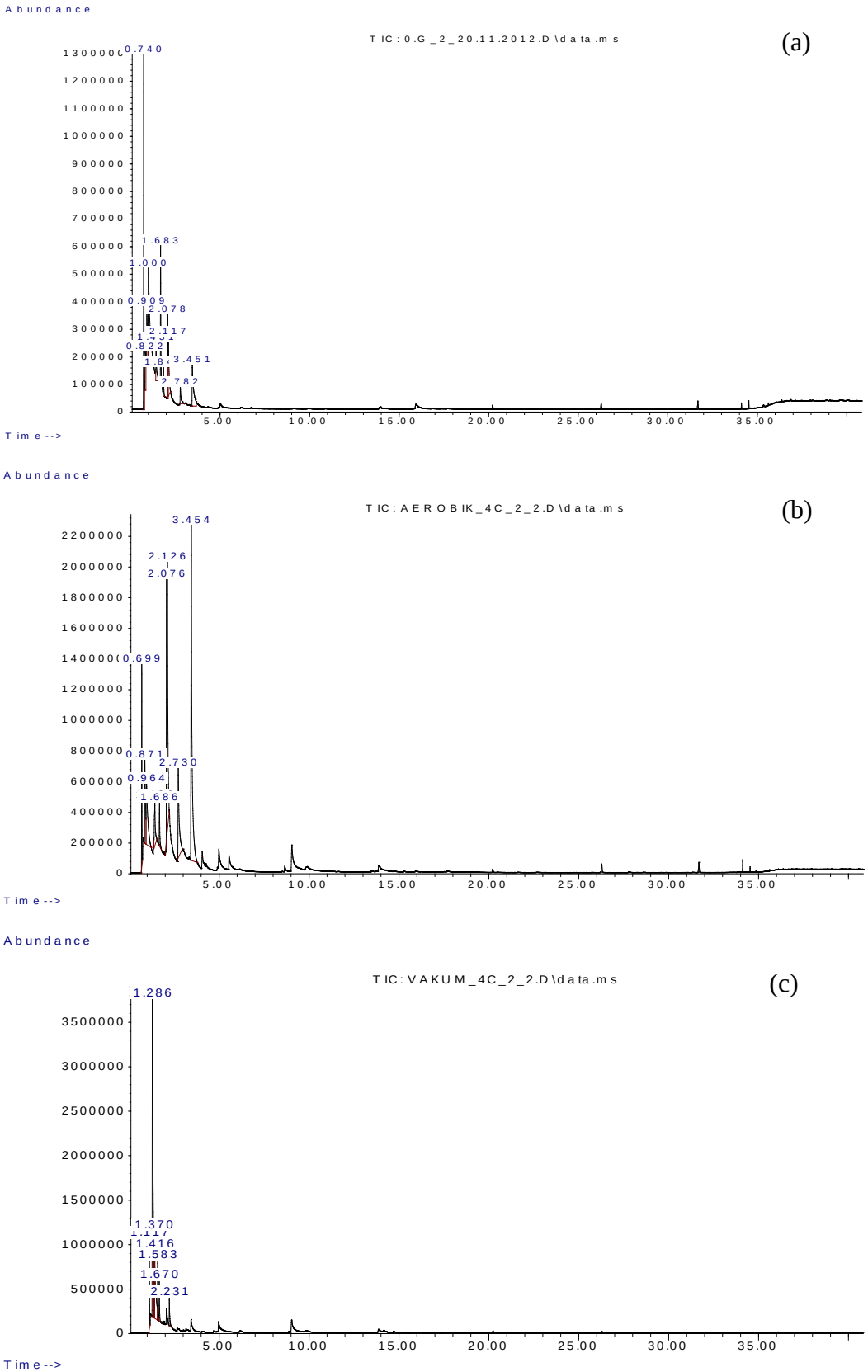
Aerobik ve vakum paketlerde 4 ve 0°C'de depolanan kıyma örneklerinde head space (HS) katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) GC-MS ile tespit edilen bazı önemli uçucu organik bileşenlere (VOCs) Çizelge 4.5'te yer verilmiştir.

Çizelge 4.5 ile paketleme tipi ve depolama sıcaklığına göre depolama süresince bazı VOCs'ların kıymada bulunma/bulunmama durumları gösterilmiştir.

4°C'de aerobik ve vakum pakette depolanan örneklerde tespit edilen uçucu bileşen ve miktarlarına Çizelge 4.6'da; 0°C'de depolananlara ise Çizelge 4.7'de yer verilmiştir.

Tespit edilen bileşenlerin, kıymanın bozulması ile ortaya çıkan önemli indikatif bileşenler olduğu tahmin edilmektedir.

Şekil 4.19 ile gösterilen kromatogramlarda, farklı paketlerde depolanan kıymada bozulma ile açığa çıkan örnek koku profillerine yer verilmiştir.



Şekil 4.19: HS/SPME GC-MS ile kıymada 0.gün (a); 4°C'de depolanan 6 günlük kıymada aerobik paketleme (b) ve vakum paketleme (c) ile görülen uçucu bileşenlere ait örnek profil.

Çizelge 4.5: Aerobik ve vakum pakette 4 ve 0°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu GC-MS (HS/SPME-GC-MS) ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenler (VOCs).

Bileşen	Aerobik (4°C)						Vakum (4°C)						Aerobik (0°C)						Vakum (0°C)					
	Gün						Gün						Gün						Gün					
	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10	0	2	4	6	8	10
Etanol	+[1]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Etil asetat	-[2]	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3-Bütandion (Diasetil)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-Hekzanol	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
3-Hidroksi-2-bütanon (Asetoin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3-Metilbütanol	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
2-Metilpentan	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
1-Pentanol	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Hidroperoksit-1-metiletil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Metil merkaptan	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dimetildisülfit	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[1] + ile işaretlenen günde bileşen tespit edilmiştir, [2] – ile işaretlenen günde bileşen tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.6: Aerobik ve vakum pakette 4°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu GC-MS (HS/SPME-GC-MS) ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenlere ait kromatografik alanlar (Ab*s×10^6)[1].

Bileşen	**4°C**											
	Aerobik						**Vakum**					
	Gün						**Gün**					
	0	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**0**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**
Etanol	10,82	19,31	38,09	14,27	16,36	-	10,82	29,6	73,7	141,7	143,45	126,0
Etil asetat	-[2]	-	12,88	62,73	27,08	6,21	-	-	-	6,21	7,48	9,08
2,3-Bütandion (Diasetil)	5,39	45,50	60,48	57,29	60,53	40,69	5,39	26,87	20,10	1,51	10,58	18,95
1-Hekzanol	-	-	19,51	26,62	18,65	-	-	10,32	-	-	-	-
3-Hidroksi-2-bütanon (Asetoin)	7,82	60,37	146,87	166,70	186,65	129,91	7,82	50,92	7,77	8,36	5,02	3,63
3-Metilbütanol	-	-	-	38,26	42,77	18,33	-	-	-	-	-	-
2-Metilpentan	-	-	-	-	-	-	-	-	8,2	-	-	-
1-Pentanol	-	-	6,13	5,11	6,56	15,40	-	-	-	-	-	-
Metil merkaptan	-	-	-	-	-	38,30	-	-	-	-	-	-
Dimetil disülfit	-	-	-	-	-	75,34	-	-	-	-	-	-

[1] Ab*s, kromatografide hesaplanan alanı ifade eder, [2] – ile işaretlenen günde bileşen tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.7: Aerobik ve vakum pakette 0°C'de 10 gün süreyle depolanan kıymada "head space" katı faz mikroekstraksiyonu GC-MS (HS/SPME-GC-MS) ile tespit edilen bazı uçucu organik bileşenlere ait kromatografik alanlar (Ab*s×10^6)[1].

Bileşen	**0°C**											
	Aerobik						**Vakum**					
	Gün						**Gün**					
	0	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**0**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**
Etanol	10,82	11,58	14,10	17,02	9,82	9,02	10,82	8,99	25,96	22,41	60,87	90,21
Etil asetat	-[2]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3-Bütandion (Diasetil)	5,39	42,62	60,30	54,87	51,97	38,65	5,39	24,27	15,41	23,08	5,98	1,93
1-Hekzanol		-	14,21	15,64	12,31	16,20	-	9,28	13,34	13,76	12,68	18,73
3-Hidroksi-2-bütanon (Asetoin)	7,82	28,38	124,67	141,28	153,18	166,35	7,82	42,56	16,67	47,77	4,95	1,32
3-Metilbütanol	-	-	-	-	11,91	24,00	-	-	-	-	-	21,65
2-Metilpentan	-	-	6,97	9,47	-	-	-	-	-	7,05	-	-
1-Pentanol	-	-	-	-	-	16,66	-	-	-	-	-	-
Hidroperoksit-1-metiletil	-	8,17	-	-	-	-	-	13,34	-	-	-	

[1] Ab*s, kromatografide hesaplanan alanı ifade eder, [2] – ile işaretlenen günde bileşen tespit edilmemiştir.

Farklı koşullarda depolama ile kıymada önemli düzeylerde keton (asetion, diasetil); alkol (etanol, 1-bütanol-3-metil, 1-pentanol, 1-hekzanol) ve ester (etil asetat) bileşikleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7). Bazı bileşikler, depolamanın tüm günlerinde oluşurken bazı bileşiklerin ise ilerleyen sürelerde oluştuğu veya depolamanın ilk zamanlarında oluşup ileri zamanlarda tespit edilemediği dikkati çekmektedir (Çizelge 4.5).

Örneklere ait miktarsal değişim de yine zamana bağlı olarak artış-azalış göstermektedir. Örnek miktarlarındaki gün bazlı değişimin nedeni literatürde tam olarak açıklanamamış olup genellikle bozulmadan sorumlu spesifik mikroorganizmalardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Blixt ve Borch, 1999).

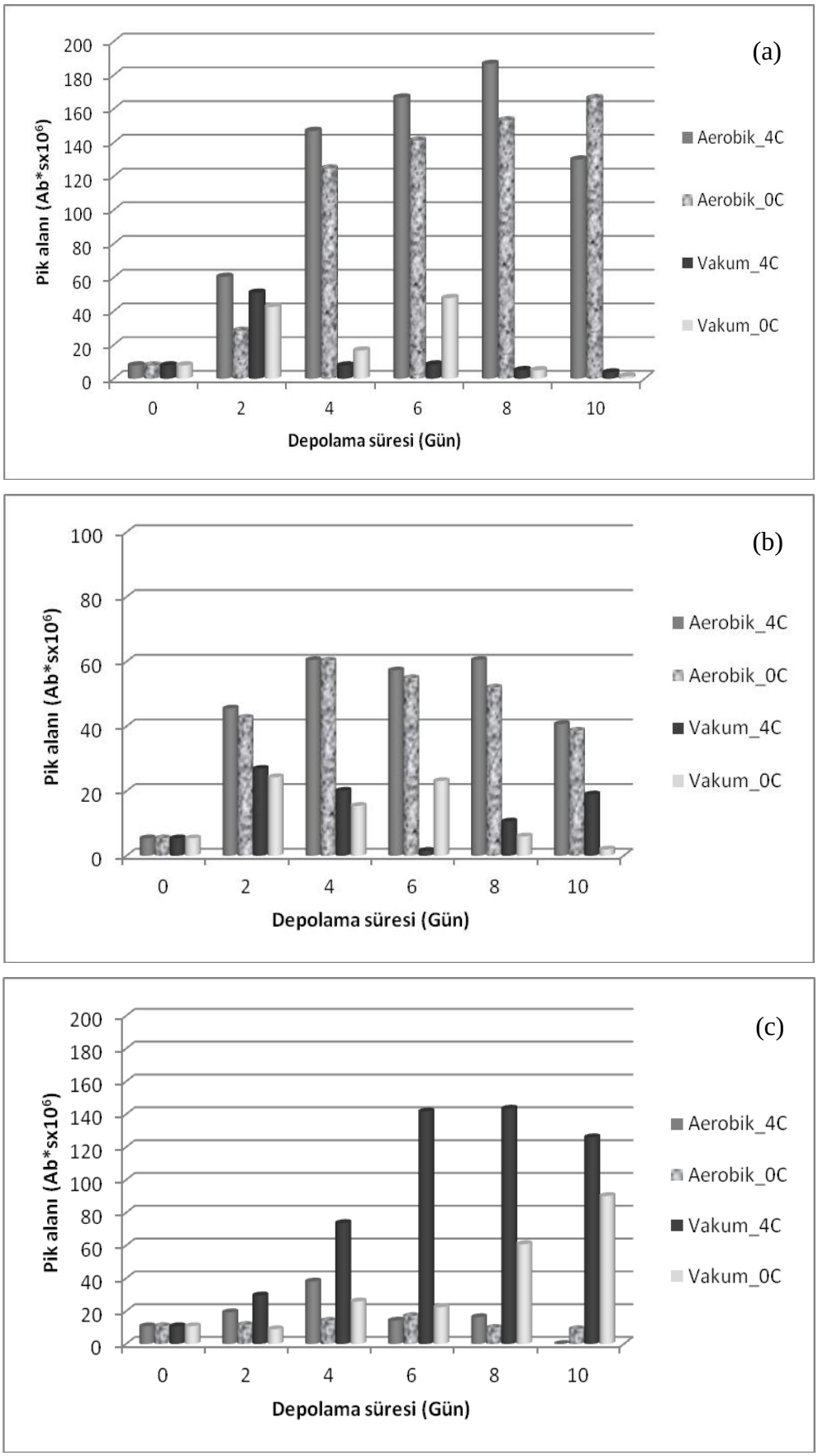
4°C'de aerobik pakette depolanan kıymada, zamana bağlı olarak etanol, etil asetat, diasetil, asetoin, 1-hekzanol, 1-pentanol ve 3-metilbütanal miktarında önemli değişim gözlemlenirken aynı sıcaklıktaki vakum paketlenen örneklerde etanol, etil asetat, asetoin ve diasetil miktarları değişmiştir (Çizelge 4.6). Aerobik pakette depolamanın 10. gününde ise ileri bozulma ürünleri olan metil merkaptan ve dimetil disülfitin yüksek seviyelerde oluştuğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6).

Etanol, asetoin, diasetil ve 1-hekzanol miktarları, 0°C'de depolanan her iki paketleme tipinde gün bazında değişim göstermiştir (Çizelge 4.7).

Her iki depolama sıcaklığı ve paketleme tipinde özellikle asetoin, diasetil ve etanol miktarlarındaki değişimin önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20).

Asetion miktarındaki değişim incelendiğinde, Şekil 4.20 (a), aerobik paketlenen örneklerdeki asetoin seviyesinin, vakum paketlenenlere oranla gün bazında daha yüksek olduğu ve aerobik pakette depolanan örneklerin asetoin miktarının, depolamanın 4. gününde daha hızlı arttığı (4°C'de 1,43 kat) belirlenmiştir.

Şekil 4.20 (a) incelendiğinde aerobik pakette yüksek sıcaklıkta depolama ile asetoin miktarının arttığı görülmektedir. Başlangıçta asetoin alanı 7,82 iken 0°C'de, aerobik pakette depolamanın 2. gününde bu değer 28,38'e ve 4. gün 124,67'ye ulaşmıştır. 4°C'de depolamada ise bu değerler sırasıyla 60,37 ve 146,87 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: Farklı depolama koşullarında örneklerde asetoin (a), diasetil (b) ve etanol (c) miktarındaki değişim.

Diasetilin depolama sıcaklığı ve paket tipine bağlı olarak değişim özelliği asetoine benzemektedir; aerobik paketlenen örneklerdeki miktar, vakum paketlenenlere göre daha yüksek bulunmuştur Şekil 4.20 (b).

Aynı paket tipinde yüksek sıcaklıkta depolama ile diasetil miktarında önemli seviyede değişim olmazken aynı koşulda depolanan örneklerin diasetil miktarının asetoinden daha düşük olduğu çıkarımı yapılabilir. Örneğin 0°C'de aerobik pakette depolanan örneklerin diasetil miktarı 60,30 iken asetoin miktarı 124,67; 4°C'de ise sırasıyla 60,48 ve 146,87 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.17).

Şekil 4.20 (c) ile kıymada tespit edilen etanol miktarının, vakum pakette önemli düzeyde olduğu dikkati çekmektedir. Vakum pakette depolamada, yüksek sıcaklığın etanol miktarında artışa neden olduğu gözlemlenmektedir. Başlangıçta 10,82 olan etanol alanı, 4°C'deki vakum paketlerde, depolamanın 2. gününde 29,6 olarak tespit edilirken 4. ve 6. günlerde sırasıyla 73,7 ve 141,7 olarak belirlenmiştir. Bu koşulda depolanan örneklerde, depolamanın 4. günündeki etanol artış hızı 1,5 kat iken 6. günde 0,92 olarak hesaplanmıştır.

Kıymada bozulma ile oluşan koku bileşenlerinin önemli bir kısmını literatüre benzer şekilde keton ve alkollerin oluşturduğu tespit edilmiştir (Resconi ve diğ., 2012). Literatüre benzer şekilde, aerobik pakette depolanan kıymada asetion ve diasetil oluşumunun önemli olduğu belirlenmiştir.

Perez ve diğ. (2008), benzer şekilde, asetoin ve diasetilin aerobik koşulda (4°C) depolanan kıymada önemli bileşenler olduğunu ve depolama süresince yüksek seviyede tespit edildiğini vurgulamışlardır. Ercolini ve diğ. (2011) de aerobik koşulda depolanan biftekte depolama süresince asetoin miktarının önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir.

Gerçekleştirilen çalışma sonucunda, vakum paketli kıyma örneklerinde yüksek seviyede etanol oluştuğu dikkat çekmiştir. Tsigarida ve Nychas (2001) da benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

İsmail ve diğ. (2009), 4°C'de depolanan biftekte depolamanın 7. gününden sonra alkol miktarında; özellikle etanol miktarında önemli seviyede artış tespit etmiştir. Ercolini ve diğ. (2011) ise vakum paketlenen biftekte bütanoik asit oluşumunun üzerinde durmuştur.

4.5 Kıymada Duyusal Analiz Sonuçları

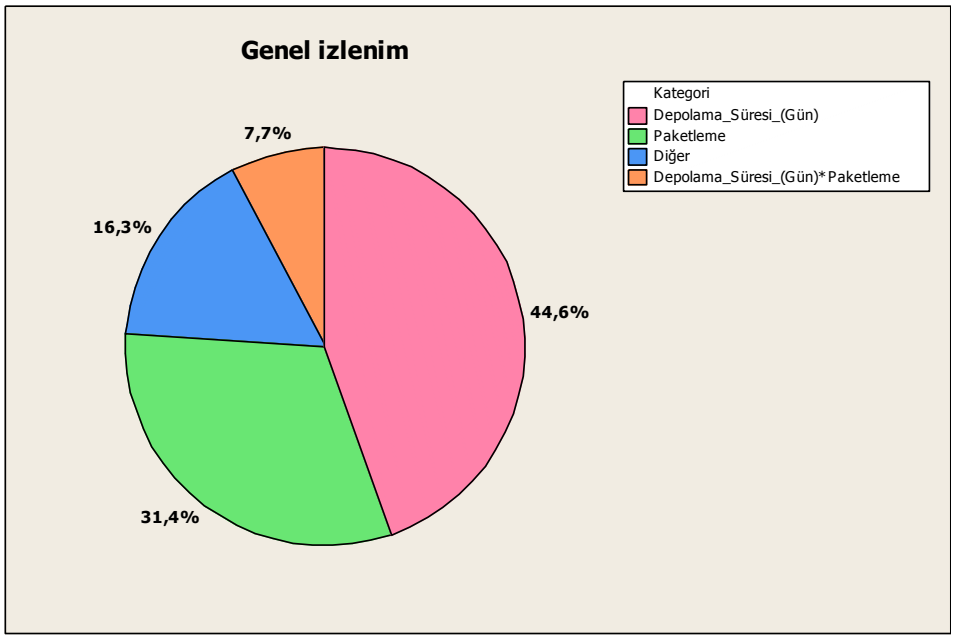
Arçelik A.Ş. çalışanlarından oluşan 6 kişilik eğitimli panelist grup tarafından gerçekleştirilen duyusal analizler sonucunda, farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerinde "genel izlenim" ve "duyusal kötü koku oluşumu" sonuçları istatistiksel olarak incelenmiştir.

4.5.1 Genel izlenim sonucunun değerlendirilmesi

Duyusal analizlerde, koku karakteri ve görünüş özellikleri sonucunda panelistlerden "genel izlenim" değerlendirmesi yapmaları istenmiştir. Genel izlenim değerlendirmesinde 0-5 (çok kötü-çok iyi) skalası kullanılmıştır.

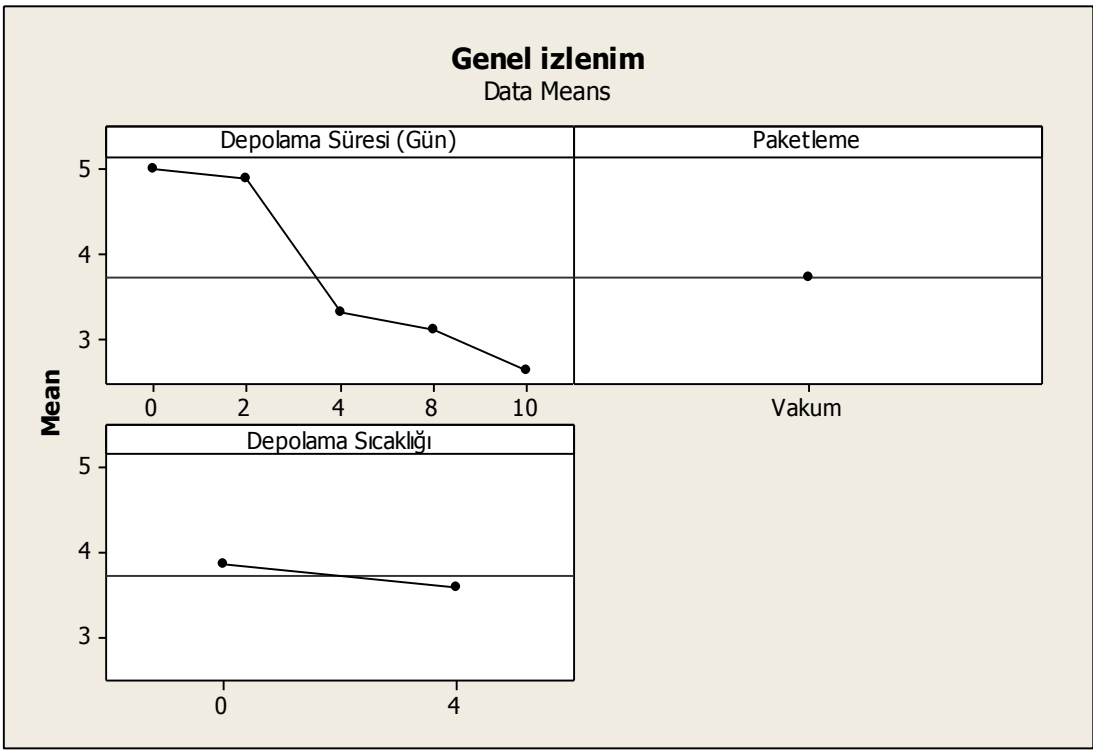
Yapılan varyans analizinde, panelistlerin genel izlenim değerlendirmesinde depolama süresinin %44,6; paketleme tipinin %31,4; depolama süresi*paketleme tipi etkileşiminin ise %7,7 seviyesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21).

İstatistik analizlerine göre elde edilen R^2 değeri %85,39 olarak bulunmuştur (Ek A2).



Şekil 4.21: Kıymada "genel izlenim" değişiminde interaksiyonların etki yüzdesi.

Genel izlenim değerlendirmesinde, farklı sıcaklık uygulamasının etkisi gözlemlenmezken örneklere ait genel beğeni zamana bağlı olarak azalma göstermiştir (Şekil 4.22). Vakum paketlenen örnekler, aerobik paketlere göre daha iyi olarak puanlanmışlardır (Şekil 4.22).



Şekil 4.22: Kıymada "genel izlenim" değişiminde depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının genel etkisi.

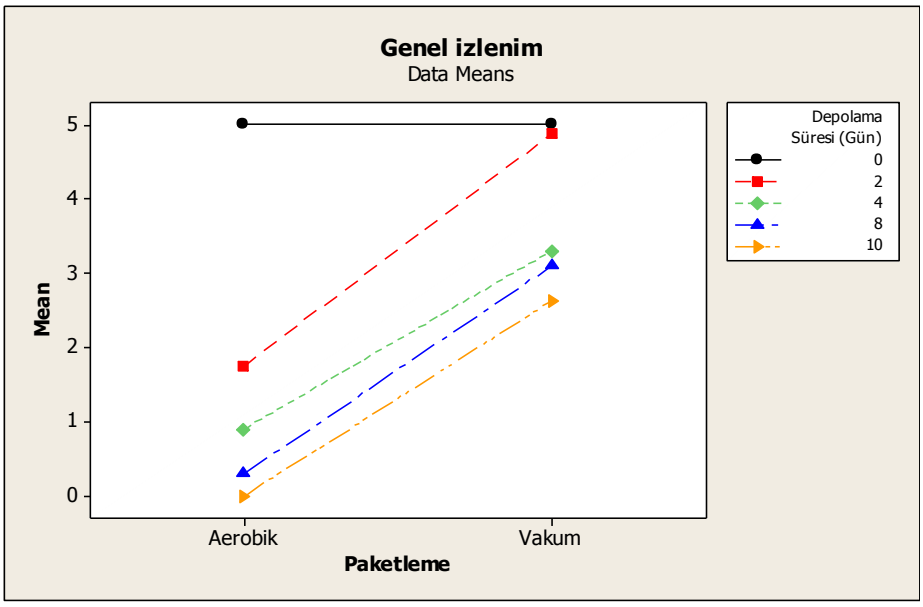
Depolama süresi ve paket tipi etkileşiminde, tüm kıyma örneklerinde genel izlenim puanları zamana bağlı olarak azalma gösterse de vakum örneklerinin aerobik örneklere göre daha iyi durumda olduğu dikkati çekmektedir (Şekil 4.24).

Tüm duyusal sonuçları değerlendirildiğinde vakum paketli örneklerin, aerobik paketlilere oranla daha yüksek genel izlenim puanları aldığı tespit edilmiştir. Bu durumun, vakum paketli örneklerin depolama süresince parlak kırmızı rengini korumasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Aerobik ve vakum paketli kıymaların, depolamanın 10. gününe ait görünümlerine Şekil 4.23'te yer verilmiştir.



(a) (b)

Şekil 4.23: Vakum (a) ve aerobik paketli (b) kıymaların 10. güne ait görünümleri.



Şekil 4.24: Kıymada "genel izlenim" değişiminde depolama süresi ve paketlemenin interaksiyon etkisi.

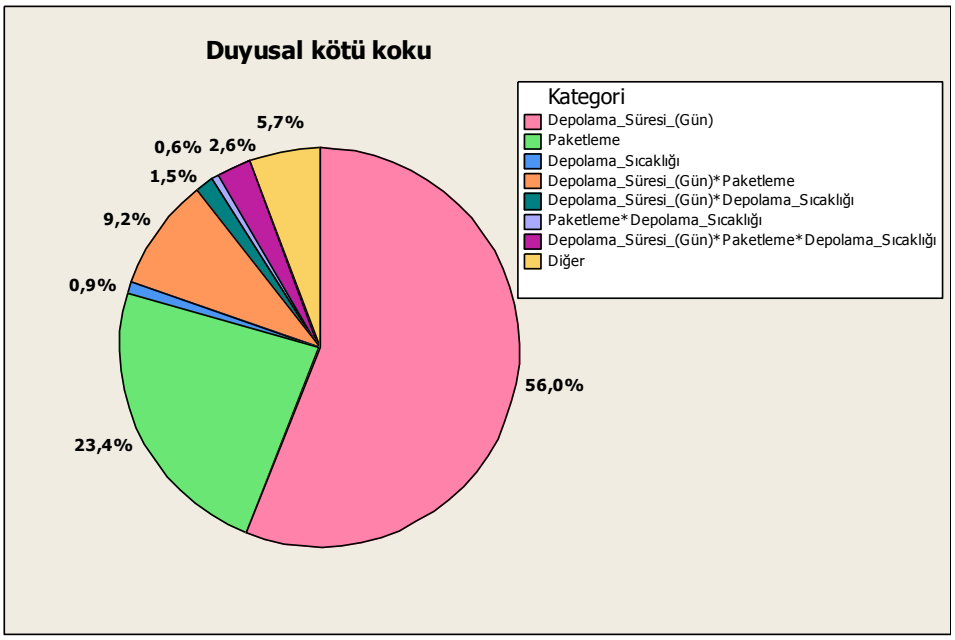
Genel izlenim (0-5/çok kötü-çok iyi) değerlendirmesinde sınır koşul "3 puan" olarak değerlendirildiğinde aerobik paketlenen örneklerin depolamanın 2. gününden; vakum paketlenen örneklerin ise 4. günden itibaren kalitelerini kaybetmeye başladığı yorumu yapılabilir (Şekil 4.24). Yine Şekil 4.24'e göre, vakum paketlenen örneklerin, aerobik paketlenen örneklere göre gün bazında ortalama 2 birim fazla puana sahip olduğu dikkati çekmektedir.

4.5.2 Duyusal kötü koku oluşumunun değerlendirilmesi

Duyusal analizlerde panelistlere, farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerinde koku karakteri olarak "taze et kokusu, kötü koku, metalik (okside) koku, asidik (ekşi) koku ve çürük (kükürtlü) koku algısı 0-5 (mevcut değil-çok kuvvetli) skalası ile sorulmuştur. Panelistler, taze et kokusunu ve kötü koku oluşumunu fark edebilmiş; fakat ayrıntılı koku tanımlaması yapamamışlardır. Bu nedenle, duyusal koku algısında "kötü koku" oluşumu sonuçları değerlendirmeye alınmıştır.

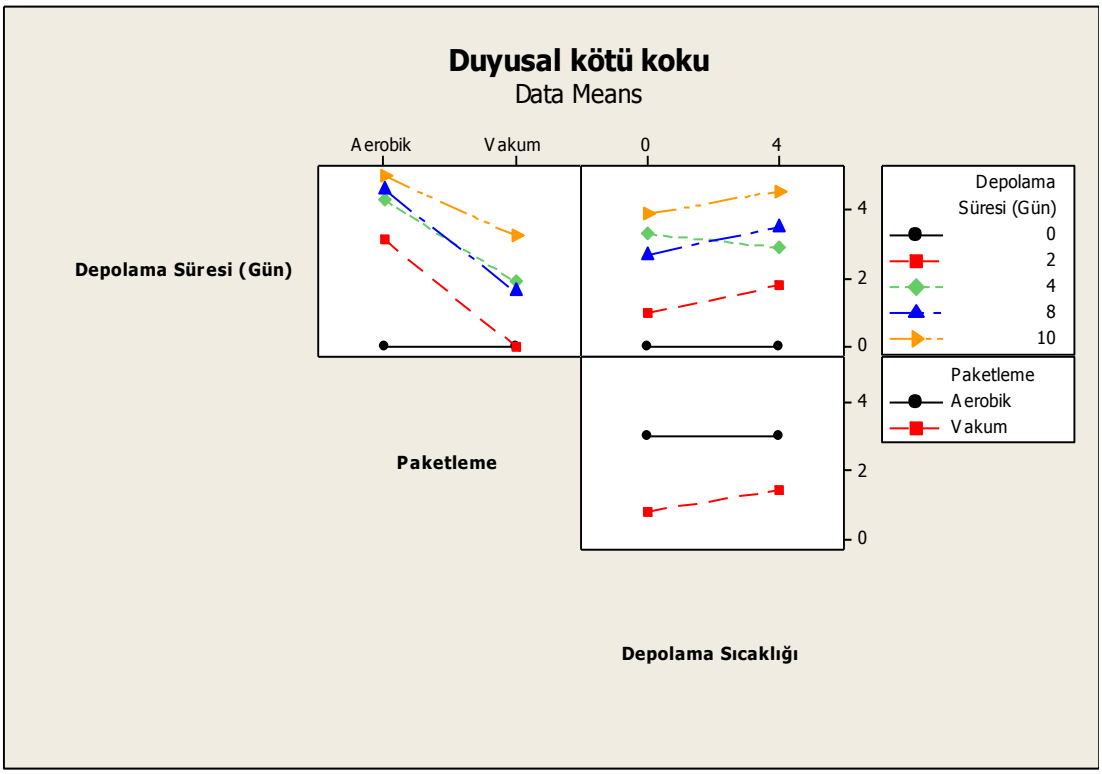
Duyusal analiz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, farklı sıcaklık ve paketlerde 10 gün süreyle depolanan kıyma örneklerinde tüm parametrelerin tekli, ikili ve üçlü etkilerinin duyusal kötü koku oluşumunda etkisi önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama süresi, %56,0 etki yüzdesi ile duyusal kötü koku oluşumunda en etkili parametre olmuştur (Şekil 4.25).

Kurulan model ile değişkenliğin %94,13'ü açıklanabilmiştir (Ek A2).



Şekil 4.25: Kıymada duyusal kötü koku oluşumunda interaksiyonların etki yüzdesi.

Düşük sıcaklıkta depolama ile yüksek sıcaklığa nazaran kötü koku oluşumunun daha az olduğu; aerobik paketleme ile de vakum paketli örneklere göre daha yüksek seviyede istenmeyen kokunun oluştuğu ve zamana bağlı olarak duyusal kötü koku oluşumunun her koşulda arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26: Kıymada duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi, paketleme ve depolama sıcaklığının interaksiyon etkisi.

Depolama süresince, farklı koşullarda muhafaza edilen kıyma örneklerinde duyusal olarak tespit edilen kötü kokunun, depolamanın hangi gününden itibaren oluştuğunun tespit edilmesi amacıyla Tukey testi uygulanmıştır (Çizelge 4.8).

4°C'de aerobik paketlenen örneklerde, depolamanın 2. gününde kuvvetli kötü oluşumu (4 puan) tespit edilirken 0°C'deki aerobik örneklerde 4. günde çok kuvvetli kötü koku (4,8 puan) oluştuğu belirlenmiştir.

4°C'de depolanan vakum örneklerinde, depolamanın 10. gününde kuvvetli kötü koku oluştuğu gözlemlenirken 0°C'deki vakum örneklerinde aynı sürede ancak orta seviyenin altında kötü koku oluştuğu tespit edilmiştir.

Genel bir değerlendirme ile vakum paketlenen örneklerin, aynı sıcaklıktaki aerobik paketlenen örneklerin koku seviyesine ulaşması için gereken ortalama sürenin 8 gün olduğu dikkati çekmektedir (Çizelge 4.8).

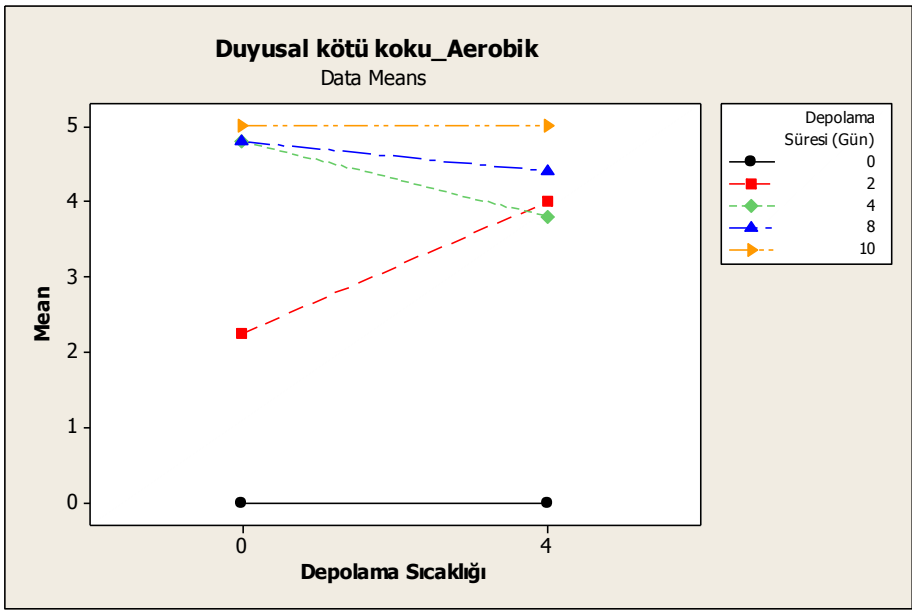
Çizelge 4.8: Depolama süresince farklı koşullarda depolanan kıyma örneklerine ait ortalama duyusal kötü koku puanlarının Tukey testi karşılaştırma sonuçları.

Depolama süresi (gün)	**Duyusal "kötü koku" puanı ortalaması[1]**			
	4°C		**0°C**	
	Aerobik	**Vakum**	**Aerobik**	**Vakum**
0	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}
2	$4,0^{b}$	0^{c}	$2,25^{b}$	0^{c}
4	$3,8^{b}$	$2,0^{b}$	$4,8^{a}$	$1,8^{ab}$
8	$4,4^{ab}$	$2,6^{b}$	$4,8^{a}$	$0,6^{bc}$
10	$5,0^{a}$	$4,0^{a}$	$5,0^{a}$	$2,5^{a}$

[1]Aynı sütunda ayrı (a-c) üst harfle işaretlenen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p< 0.05$).

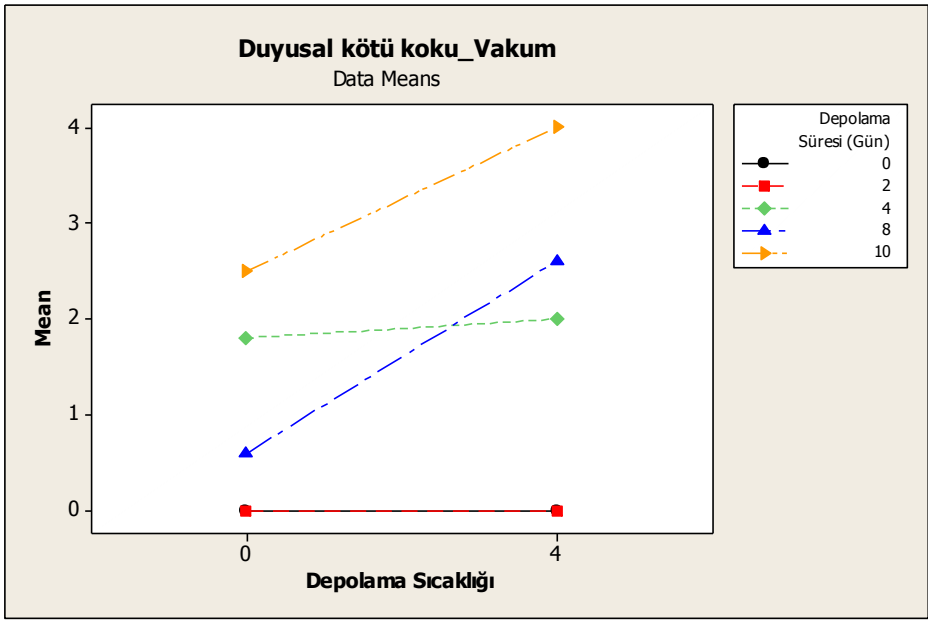
Oksijen varlığında depolanan (%20,2 O_2) kıyma örneklerinde algılanan duyusal kötü koku seviyesi, her iki sıcaklıkta da gün bazında artış göstermiştir.

Yüksek sıcaklıkta depolamada 2.; düşük sıcaklıkta ise 4. günden itibaren kuvvetli kötü koku oluşumu (4 puan ve üzeri) tespit edilmiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27: Aerobik pakette, duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

Depolama ortamında oksijen varlığının sınırlanması durumunda, kötü koku oluşumu daha geç algılanmıştır. Aerobik paketlenen örneklerde gözlemlendiği gibi vakum paketlenen örneklerde de depolama süresince kötü koku şiddetinin arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.28). 4°C'de depolanan vakum örneklerinde kuvvetli kötü koku oluşumu (4 puan ve üzeri) 10. günde tespit edilirken 0°C'de depolamanın 10. gününde bu değer yaklaşık 2,5 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.28: Vakum pakette, duyusal kötü koku oluşumunda depolama süresi ve sıcaklığın interaksiyon etkisi.

4.6 Bağımlı Değişkenler Arasında Korelasyonun İncelenmesi

Çalışma kapsamında değerlendirmeye alınan TBA sayısı, pH değeri, TMAB ve *Pseudomonas* spp. gelişimi, VOCs oluşumu, duyusal genel beğeni ve duyusal kötü koku oluşumu sonuçlarının incelenmesi sonucunda birbirleriyle ilgili olduğu düşünülen bazı çıktılar için %95 güven düzeyinde Pearson korelasyonu uygulanarak ilişkinin varlığı istatistiksel olarak tespit edilmeye çalışılmıştır. Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde yüksek korelasyona sahip ikili bağımlı değişkene ait Pearson korelasyonu katsayısına (r) Çizelge 4.9'da yer verilmiştir.

Çizelge 4.9: Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde ikili ilgi tespit edilen bağımlı değişkenler ve Pearson korelasyon katsayıları.

Korelasyon tespit edilen bağımlı değişkenler	**Pearson korelasyon katsayısı (r)**
Duyusal genel izlenim-Duyusal dış renk	1
Duyusal kötü koku oluşumu- TMAB sayısı	0,939
Duyusal genel izlenim-VOCs (Asetoin)	-0,910
Duyusal kötü koku oluşumu-VOCs (Asetoin)	0,874
VOCs (Asetoin)- TMAB sayısı	0,864
Duyusal kötü koku oluşumu-*Pseudomonas* spp. sayısı	0,835

Aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde duyusal genel izlenim ile örnek dış rengi ve yine duyusal genel izlenim ile asetoin konsantrasyonu arasında yüksek ilişki olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Duyusal analizlerde, kıyma örneklerinin renkleri kırmızıdan kahverengiye dönüştükçe panelistlerin örnekler hakkındaki olumlu izlenimleri azalmıştır. GC-MS yöntemi ile örneklerde tespit edilen asetoin konsantrasyonu arttıkça da benzer şekilde duyusal analizlerde örneklere ait genel izlenim puanları azalmıştır. Gerçekleştirilen duyusal analizler ile renk ve kokunun, tüketici tercihini etkileyen en önemli faktörler olduğu tespit edilmiştir.

Panelistlerin kötü koku oluşumunu tespit ettikleri kıyma örneklerinde TMAB sayısının da artış gösterdiği dikkat çekmektedir (r=0,939). Asetoin konsantrasyonunun artışına paralel olarak aerobik depolanan örneklerde TMAB sayısında da artış gözlemlenmiştir (r=0,864).

Çizelge 4.10: Vakum pakette depolanan kıyma örneklerinde ikili ilgi tespit edilen bağımlı değişkenler ve Pearson korelasyon katsayıları.

Korelasyon tespit edilen bağımlı değişkenler	Pearson korelasyon katsayısı (r)
Duyusal genel izlenim-Duyusal dış renk	0,994
Duyusal kötü koku oluşumu-VOCs (Etanol)	0,819
Duyusal genel izlenim-VOCs (Etanol)	-0,689

Vakum pakette depolanan kıyma örneklerinde, aerobik örneklerine oranla daha az sayıda ikili bağıntı tespit edilmiştir. Aerobik paketlenen örneklerde de gözlemlendiği üzere en yüksek korelasyonun örnek dış rengi ile duyusal genel izlenim arasında olduğu tespit edilmiştir (r=0,994). Etanol konsantrasyonunun artması, örneklerde istenmeyen koku olarak değerlendirilmiştir (r=0,819).

4.7 İkincil Depolama Koşullarının Tepki Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu

Raf ömrü son derece kısa olan kıyma için vakum pakette depolamada ideal depolama sıcaklığı ve süre belirlenmeye çalışılmıştır. Depolama koşullarının optimizasyonu, seçilen depolama parametreleri olan depolama süresi (t, gün) ve depolama sıcaklığı (T, °C) ile Tepki Yüzey Yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deney tasarımı ile elde edilen koşulların ürün üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Modde 5.0 (Umetrics, İsveç) programı yardımıyla geliştirilen 2 faktörlü, 3 seviyeli Central Composite Face Design ve deney noktalarında gözlemlenen tepkiler (etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerleri) Çizelge 4.11'de yer almaktadır.

Tasarımda, 3'ü merkez noktası olmak üzere toplam 11 adet deney noktası oluşturulmuştur (Çizelge 4.11).

En uygun kuadratik modelin elde edilmesi için çoklu regresyon analizi yapılmıştır. Elde edilen modelin gözlenen tepkilere (etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerleri) ait regresyon katsayıları (β) ve önem dereceleri (P değeri) istatistiksel olarak hesaplanmış ve aşağıda yer alan Çizelge 4.12, Çizelge 4.13, Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.11: Tepki Yüzey Yöntemi ile geliştirilen deney tasarımı ve gözlenen tepkiler[1].

DENEY NO	BAĞIMSIZ DEĞİŞKENLER		TEPKİLER			
	t (gün)	T (°C)	Etanol ($Ab*sx10^6$)	TMAB sayısı (log kob g^{-1})	Duyusal kötü koku[2]	Duyusal tüm izlenim[2]
1	2	-2	16,2	6,1	0,8	3,7
2	8	-2	12,3	6,5	0,3	3,5
3	2	4	28,8	6,5	2,3	3,7
4	8	4	31,5	6,5	3,9	1
5	2	1	19,6	6,1	0,6	4,2
6	8	1	34	6,3	2,9	2,1
7	5	-2	18,7	5,6	0,8	3,8
8	5	4	43,2	6,6	3,8	1,1
9	5	1	23,8	6,1	2,0	3,0
10	5	1	20,6	6,2	2,0	1,5
11	5	1	20,7	6,4	1,5	2,5

[1] Verilen değerler, ikili paralel çalışma sonuçlarının ortalamalarıdır.

[2] Duyusal kötü koku algısı 0-5 (mevcut değil-çok kuvvetli) skalası; duyusal tüm izlenim ise 0-5 (çok kötü-çok iyi) skalası ile sorulmuştur.

Çizelge 4.12: Etanol miktarına ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.

Bağımsız değişkenler	Regresyon katsayıları (β)	P değeri (önem derecesi)
Kesişim/Sabit	24,616	0,0009
Lineer (1. derece)		
T	9,383	0,0191
t	2,200	0,4605
Kuadratik (2.derece)		
t*t	-2,190	0,6274
T*T	1,961	0,6630
Etkileşim		
T*t	1,650	0,6453

Çizelge 4.12 incelendiğinde, $p<0,05$ önem düzeyinde, birinci derece terim olan sıcaklığın etanol oluşumunda etkisinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.13: TMAB sayısına ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.

Bağımsız değişkenler	**Regresyon katsayıları (β)**	**P değeri (önem derecesi)**
Kesişim/Sabit	6,163	0,0000
Lineer (1. derece)		
T	0,233	0,0767
t	0,100	0,3843
Kuadratik (2.derece)		
t*t	0,142	0,4191
T*T	0,042	0,8047
Etkileşim		
T*t	-0,100	0,4716

TMAB sayısında da etanol miktarına benzer şekilde birinci derece terim olan sıcaklığın etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.14: Duyusal kötü koku oluşumuna ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.

Bağımsız değişkenler	**Regresyon katsayıları (β)**	**P değeri (önem derecesi)**
Kesişim/Sabit	1,915	0,0008
Lineer (1. derece)		
T	1,350	0,0014
t	0,567	0,0444
Kuadratik (2.derece)		
t*t	-0,290	0,4162
T*T	0,261	0,4614
Etkileşim		
T*t	0,525	0,0995

p<0,05 önem düzeyinde, birinci derece terimlerden olan sıcaklık ve depolama süresinin duyusal kötü koku oluşumunda pozitif yönde etkili olduğu belirlenmiştir. 2. derece terimler olan t*t ve T*T terimlerinin ve etkileşim terimi olan T*t'nin duyusal kötü koku oluşumunda etkili olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.15: Duyusal tüm izlenim değerlerine ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.

Bağımsız değişkenler	**Regresyon katsayıları (β)**	**P değeri (önem derecesi)**
Kesişim/Sabit	2,395	0,0008
Lineer (1. derece)		
T	-0,867	0,0213
t	-0,833	0,0246
Kuadratik (2.derece)		
t*t	0,663	0,1618
T*T	-0,037	0,9310
Etkileşim		
T*t	-0,625	0,1092

Çizelge 4.15 incelendiğinde de 1. derece terimlerin, duyusal tüm izlenim değerleri üzerinde anlamlı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu terimlerin etkileri ise negatif yönde olmuştur.

Elde edilen modellerin uygunluğu, varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.16 ile gösterilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçları için elde edilen modellerin tahminleme için uygun olup olmadıkları belirlenmeye çalışılmıştır. Buna göre, %95 güven aralığında, kurulan modelin etanol miktarı ve TMAB sayısı için uygun olmadığı (p>0,05); duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçları için uygun olduğu (p<0,05) belirlenmiştir. Modelin elde edilen verilere uygunluğu, model yetersizliği ile de tespit edilebilmektedir. Model yetersizliği, modelin deneysel bölgelerde bulunan ve regresyonda yer almayan noktalardaki verileri göstermedeki başarısızlığının bir ölçütüdür. Duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerleri için elde edilen modellerin model yetersizliği P değerleri (0,179; 0,714)>0,05 olduğundan duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerlerine ait modellerin verilerle uyumlu olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.16: Etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları.

Etanol miktarı	**SD[1]**	**KT[2]**	**KO[3]**	**F değeri**	**P değeri[4]**
Toplam	11	7410,8	673,71		
Sabit	1	6597,85	6597,85		
Toplam düzeltilen	10	812,95	81,30		
Regresyon	5	585,53	117,11	2,58	0,161
Hata	5	227,43	45,49		
Model yetersizliği	3	220,80	73,60	22,24	0,043
Tekrar hatası	2	6,62	3,31		
TMAB sayısı	**SD**	**KT**	**KO**	**F değeri**	**P değeri**
Toplam	11	432,39	39,31		
Sabit	1	431,56	431,56		
Toplam düzeltilen	10	0,83	0,08		
Regresyon	5	0,50	0,10	1,50	0,334
Hata	5	0,33	0,07		
Model yetersizliği	3	0,28	0,09	4,05	0,204
Tekrar hatası	2	0,05	0,02		
Duyusal kötü koku	**SD**	**KT**	**KO**	**F değeri**	**P değeri**
Toplam	11	55,33	5,03		
Sabit	1	39,71	39,71		
Toplam düzeltilen	10	15,62	1,562		
Regresyon	5	14,27	2,85	10,55	0,011
Hata	5	1,35	0,27		
Model yetersizliği	3	1,19	0,40	4,74	0,179
Tekrar hatası	2	0,17	0,08		
Duyusal tüm izlenim	**SD**	**KT**	**KO**	**F değeri**	**P değeri**
Toplam	11	95,83	8,71		
Sabit	1	82,36	82,36		
Toplam düzeltilen	10	13,47	1,35		
Regresyon	5	11,40	2,28	5,53	0,042
Hata	5	2,06	0,41		
Model yetersizliği	3	0,90	0,30	0,51	0,714
Tekrar hatası	2	1,17	0,58		

[1]SD: Serbestlik derecesi;[2]KT: Kareler toplamı; [3]KO: Kareler ortalaması; [4]P: Olasılık değeri.

Duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerleri için oluşturulan modellere en iyi uyan denklemlere aşağıda yer verilmiştir.

Aşağıda yer alan (4.1) ve (4.2) denklemlerinde bulunan "T" depolama sıcaklığını ve "t" depolama süresini ifade etmektedir.

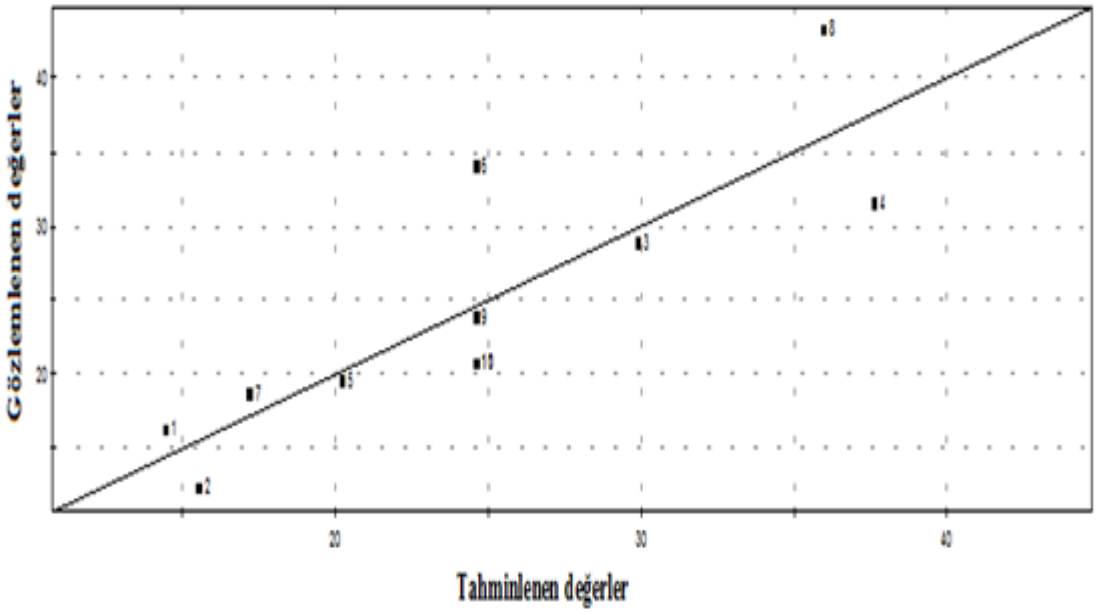
$$\textit{Duyusal kötü koku} = 1{,}915 + 1{,}350T + 0{,}567t \quad \textbf{(4.1)}$$

$$\textit{Duyusal tüm izlenim} = 2{,}395 - 0{,}867T - 0{,}833t \quad \textbf{(4.2)}$$

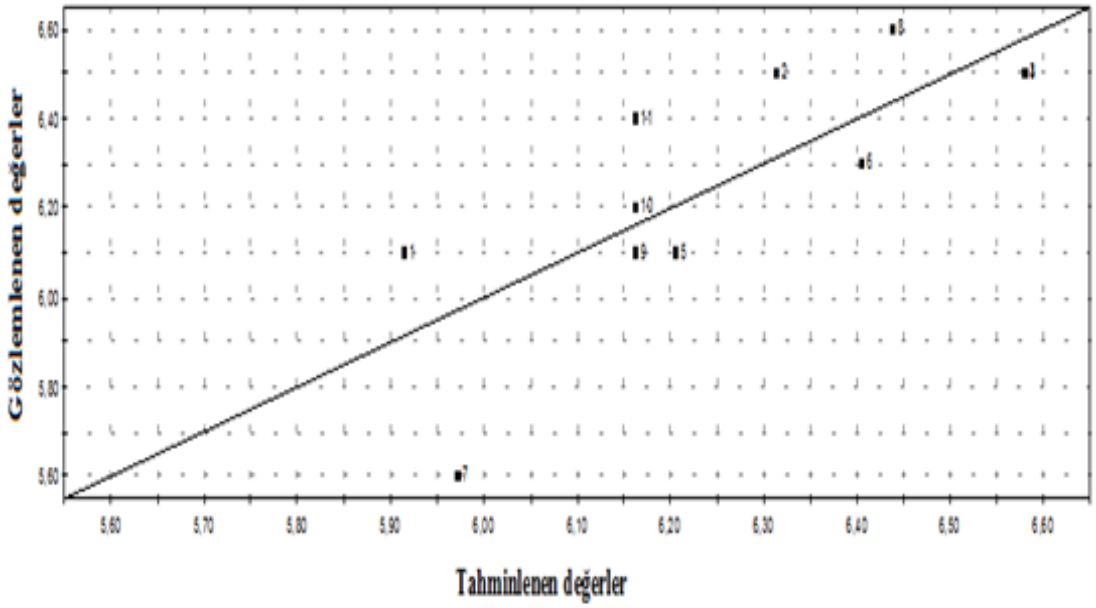
Varyans analizi sonuçları incelendiğinde, etanol miktarı için geliştirilen modele ait R^2 değerinin 0,72 olduğu belirlenmiştir.

TMAB sayısı, duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçları için elde edilen R^2 değerleri ise sırasıyla 0,60, 0,91, 0,85 olarak tespit edilmiştir.

Modellerden tahminlenen değerler ile elde edilen veriler (gözlemlenen) arasındaki ilişkiler, Şekil 4.29, Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32 'deki grafiklerde gösterilmiştir.

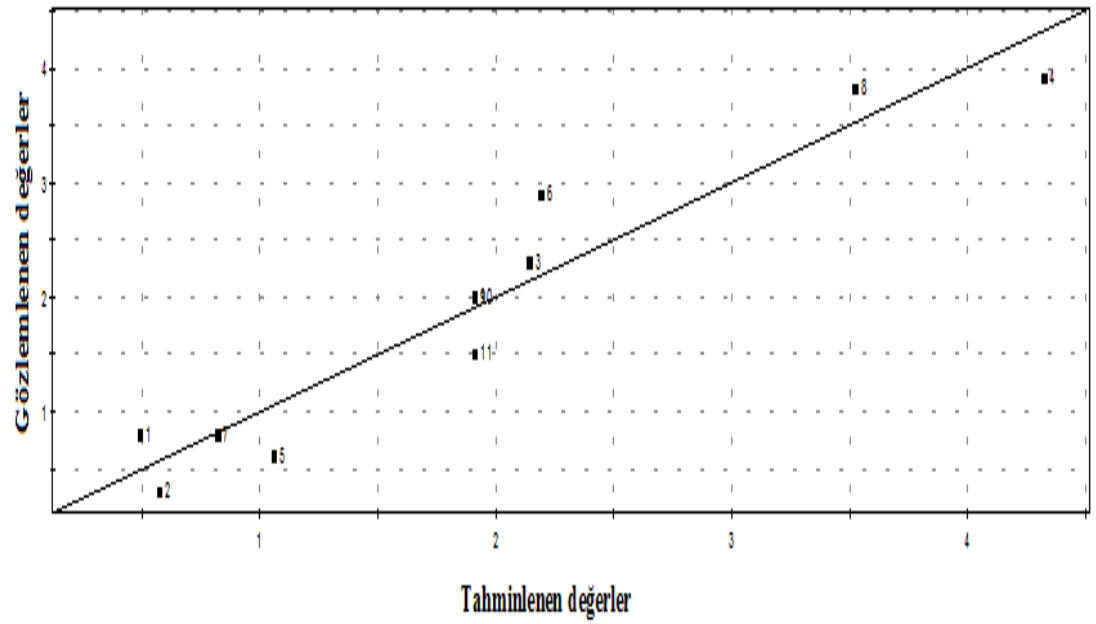


Şekil 4.29: Reaksiyon sonuçları ile etanol oluşumuna ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.

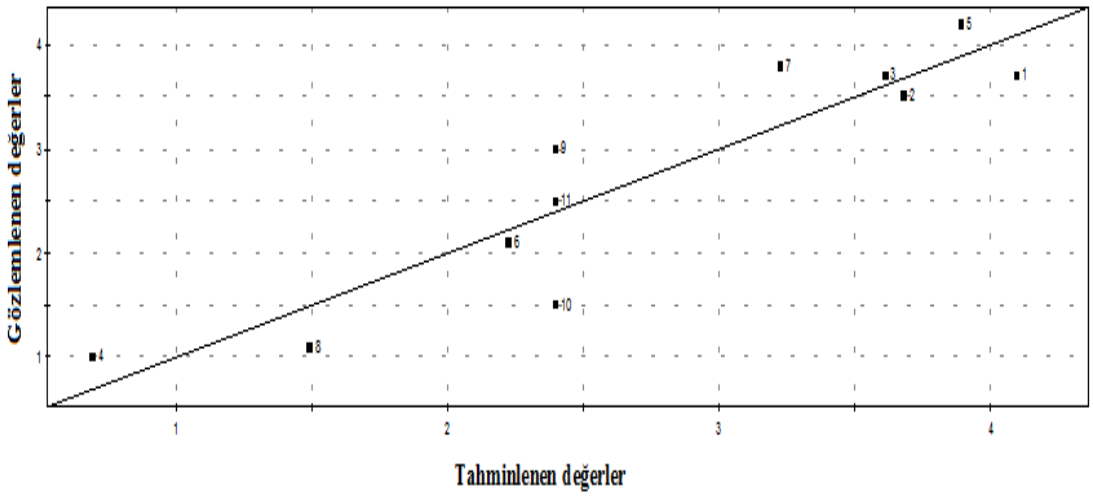


Şekil 4.30: Reaksiyon sonuçları ile TMAB sayısına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.

Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'deki grafiklerden de görüldüğü üzere, deney sonucunda gözlemlenen değerler ile modellerden tahminlenen değerler arasında lineerlik göstermemektedir. Bu durum, modelin, reaksiyon parametreleri ile tepki arasındaki gerçek ilişkiyi temsil etmediğini gösterir.



Şekil 4.31: Reaksiyon sonuçları ile duyusal kötü koku sonuçlarına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.

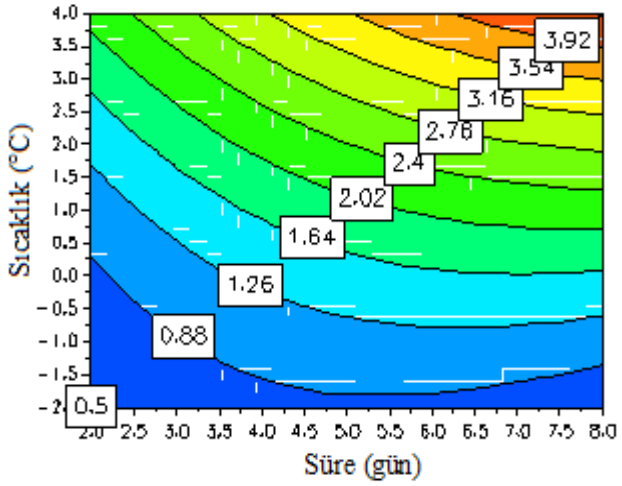


Şekil 4.32: Reaksiyon sonuçları ile duyusal tüm izlenim sonuçlarına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.

Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'deki grafiklerden de görüldüğü üzere, deney sonucunda gözlemlenen değerler ile modellerden tahminlenen değerler arasındaki ilişki lineerlik göstermektedir. Bu, aynı zamanda modelin çoğunlukla, reaksiyon parametreleri ile tepki arasındaki gerçek ilişkiyi temsil ettiğinin bir göstergesidir.

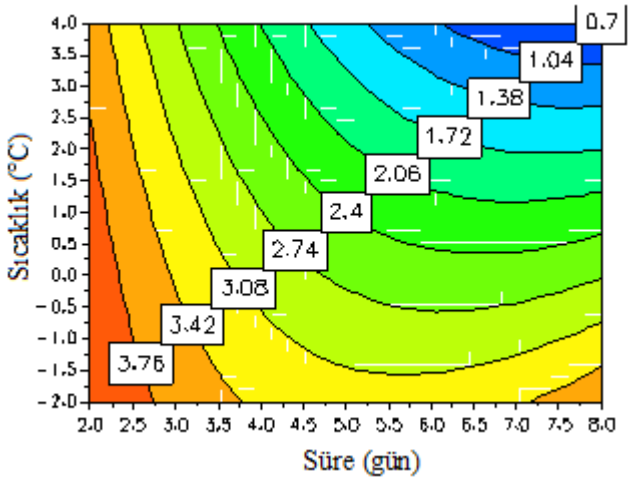
4.7.1 Sonuçların izdüşüm grafikleriyle yorumlanması

Belirlenen regresyon katsayıları ve varyans analizi sonuçlarına göre R^2 ve model doğruluk değerleri yüksek olan duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim değerlerinin reaksiyon parametreleri ile olan ilişkileri izdüşüm grafikleriyle incelenmiştir. Duyusal kötü koku oluşumuna ait izdüşüm grafiğine Şekil 4.33'de; duyusal tüm izlenim değerlerine ait grafiğe ise Şekil 4.34'de yer verilmiştir.



Şekil 4.33: Duyusal kötü koku oluşumunun sıcaklık ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği.

Şekil 4.33 incelendiğinde, depolama sıcaklığının, süreden bağımsız olarak duyusal kötü koku oluşumunda etkili olduğu görülmektedir. Sıcaklık artışıyla birlikte duyusal olarak hissedilen kötü koku oluşumu daha hissedilir olmaktadır. 0-5 (mevcut değil-çok kuvvetli) skalası ile sorulan koku algısında sınır koşul "3 birim" olarak kabul edilmiştir. Yaklaşık olarak 2,5°C'nin altındaki depolama sıcaklığında elde edilen gün bazındaki duyusal kötü koku değerlerinin sınır değerin altında olduğu görülmektedir. "4 birim" (kuvvetli kötü koku) duyusal kötü koku değerlerine ise 4°C civarında, 5. günden sonra ulaşılmaktadır. 4°C'de depolamada sınır koşulun (3 birim) ise 4.günde oluştuğu görülmektedir.



Şekil 4.34: Duyusal tüm izlenim değerlerinin sıcaklık ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği.

Şekil 4.34'de ise duyusal tüm izlenim değerlerinin sıcaklık ve süre ile değişimi gösterilmiştir. Genel izlenim (0-5/çok kötü-çok iyi) değerlendirmesinde de sınır koşul olarak "3 puan" alınmıştır. Grafikten de görüleceği üzere, sıcaklık ve süredeki artış duyusal tüm izlenim değerlerinde azalmaya neden olmaktadır. -2°C'de depolamada tüm örnekler sınır değerin üzerinde değerlendirilmektedir. 1°C'de depolamada, depolamanın 3,5. gününden; 4°C'de ise 2,5. günden sonra örneklerin sınır değerin altında olduğu görülmektedir. Örneklere ait en düşük duyusal tüm izlenim değerlerine 3,5-4°C'de depolamada depolamanın 6-8. günleri arasında ulaşılmaktadır.

Düşük duyusal kötü koku ve yüksek duyusal tüm izlenim puanına sahip hedeflenen özellikte örnek (0,30 duyusal kötü koku puanı ve 4,3 duyusal tüm izlenim puanı) eldesi için belirlenen optimum koşullar: -2°C depolama sıcaklığı ve 2 gün depolama

süresi olarak bulunmuştur. Bu koşullarda, modelden tahminlenen değerler duyusal kötü koku için 0,5 ve duyusal tüm izlenim için ise 4,1 olmuştur. -2°C depolama sıcaklığı ve 8 günlük depolama süresi sonunda örneklerden elde edilen değerler ise sırasıyla 0,58 duyusal kötü koku puanı ve 3,7 duyusal tüm izlenim olarak bulunmuştur. Deney parametrelerinin etkileşimini gösteren tepki yüzey grafikleri incelendiğinde, -2°C'de depolama ile örnek kalitesinin 8 günlük depolama süresince korunduğu gözlemlenmiştir.

5. SONUÇ

Farklı depolama sıcaklığı (4 ve 0°C), paketleme tipi (aerobik ve vakum) ve depolama süresinin tüm ikili (sıcaklık*paket; sıcaklık*süre; paket*süre) ve üçlü (sıcaklık*paket*süre) etkilerinin çoğu kalite parametresinin değişiminde etkili olduğu belirlenmiştir.

Aerobik pakette depolanan kıymalar, vakum pakette depolananlara göre kalitelerini daha daha kısa sürede yitirmişlerdir. Ancak, hem aerobik hem de vakum paketli örneklerin TMAB sayıları literatür ile karşılaştırıldığında tüm koşullarda örneklerin TMAB sayıları çok hızlı artış göstermiştir. 4°C'deki aerobik ve vakum paketli örnekler, Türk Gıda Kodeksi üst limit değeri olan 6,7 log kob g^{-1} seviyesini 2. günde aşarken 0°C'deki örnekler için bu süre 4 gün olmuştur. *Pseudomonas* spp. sayısındaki değişim de TMAB sayımına benzer olarak aerobik paketli örneklerde daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. 4°C'de depolama ile aerobik-vakum paketli örneklerin TMAB ve *Pseudomonas* spp. sayıları arasında fark gözlemlenirken 0°C'nin fark oluşturmadığı belirlenmiştir.

Örneklerde pH değişimi incelendiğinde, her iki depolama sıcaklığında da aerobik paketli kıymalarda pH değerinin depolama süresince arttığı; vakum paketli örneklerde ise azaldığı belirlenmiştir. En yüksek pH değerleri, 4°C'de aerobik pakette depolanan kıyma örneklerinde tespit edilmiştir.

Aerobik paketlenen örneklerin vakum paketli örneklere göre daha yüksek TBA sayısına sahip olduğu dikkat çekmektedir. Yüksek sıcaklığın (4°C) oksidasyonda daha etkili olduğu da belirlenmiştir. TBA'nın duyusal olarak algılanabildiği seviye olan 2,0 mg MDA kg^{-1} değerine, 4°C'de aerobik paketleme ile 2-4 gün; 0°C'de aerobik paketleme ile 4. gün ulaşılmıştır. Vakum paketli örneklerin TBA değerleri ise her iki depolama sıcaklığında duyusal algılama limitinin altında kalmıştır.

Duyusal analiz sonuçları ele alındığında, 4°C'de aerobik paketlenen örneklerde, depolamanın 2. gününde, vakum paketli örneklerde ise 10. gün kuvvetli kötü koku

oluşumu (4 puan) tespit edilmiştir. 0°C'deki aerobik paketli örneklerde 4. günde çok kuvvetli kötü koku (4,8 puan) oluştuğu belirlenirken aynı sıcaklıktaki vakum paketli örneklerde aynı sürede; ancak orta seviyenin altında kötü koku oluştuğu panelistlerce tespit edilmiştir. Genel bir değerlendirme ile vakum paketlenen örneklerin, aynı sıcaklıktaki aerobik paketlenen örneklerin koku seviyesine ulaşması için gereken ortalama sürenin 8 gün olduğu tespit edilmiştir. Genel izlenim değerlendirmesinde ise farklı sıcaklık uygulamasının etkisi gözlemlenmemiştir. Genel izlenim (0-5/çok kötü-çok iyi) değerlendirmesinde sınır koşul "3 puan" olarak değerlendirildiğinde aerobik paketlenen örneklerin depolamanın 2. gününden; vakum paketlenen örneklerin ise 4. günden itibaren kalitelerini kaybetmeye başladığı belirlenmiştir.

Aerobik ve vakum paketlerde 4 ve 0°C'de depolanan kıyma örneklerinde "head space" (HS) katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) GC-MS ile 4°C'de aerobik pakette depolanan kıymada, zamana bağlı olarak etanol, etil asetat, diasetil, asetoin, 1-hekzanol, 1-pentanol ve 3-metilbütanal miktarında önemli değişim gözlemlenirken aynı sıcaklıktaki vakum paketlenen örneklerde etanol, etil asetat, asetoin ve diasetil miktarları değişmiştir. Aerobik pakette depolamanın 10. gününde ise ileri bozulma ürünleri olan metil merkaptan ve dimetil disülfit yüksek seviyelerde oluşmuştur. Etanol, asetoin, diasetil ve 1-hekzanol miktarları, 0°C'de depolanan her iki paketleme tipinde gün bazında değişim göstermiştir. VOCs bileşenlerinden aerobik pakette depolanan kıymada asetoin ve diasetilin; vakum depolamada ise etanolün bozulma göstergeci olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Deneysel çalışma sonucu elde edilen çıktılara ait ikili ilişkiler incelendiğinde, aerobik pakette depolanan kıymalarda, asetoin konsantrasyonu ile duyusal genel izlenim arasındaki korelasyonun (r=-0,910) kıymada raf ömrü tahminlemesinde önemli olduğu tespit edilmiştir. GC-MS yöntemi ile örneklerde tespit edilen asetoin konsantrasyonu arttıkça panelistlerin örneklere verdikleri genel izlenim puanları düşmüştür. Panelistlerin kötü koku oluşumunu tespit ettikleri kıyma örneklerinde TMAB sayısının da artış gösterdiği dikkat çekmiştir (r=0,939). Kıyma örneklerinin renkleri kırmızıdan kahverengiye dönüştükçe de panelistlerin örnekler hakkındaki olumlu izlenimleri azalmıştır (r=1). Vakum pakette depolanan kıyma örneklerinde aerobik pakette depolananlara göre daha az sayıda ikili bağıntı tespit edilse de artan etanol konsantrasyonu ile panellerde tespit edilen kötü koku oluşumu arasındaki

korelasyonun (r= 0,819) vakum pakette depolanan kıyma örneklerinin raf ömrü değerlendirmesinde önemli bir yol gösterici olabileceği tespit edilmiştir.

Ayrıca, seçilen reaksiyon parametreleri olan depolama sıcaklığı (T, °C) ve depolama süresinin (t, gün) vakum pakette depolanan kıyma kalitesi üzerindeki etkisini incelemek üzere Tepki Yüzey Yöntemi kullanılarak 2 faktörlü, 3 seviyeli Central Composite Face Design gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar sonucunda seçilen tepkiler (etanol miktarı, TMAB sayısı, duyusal kötü koku oluşumu ve duyusal tüm izlenim) için "çoklu regresyon" yöntemi uygulanarak uygun kuadratik modeller elde edilmiştir.

Optimizasyon kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, kurulan modelin duyusal kötü koku ve duyusal tüm izlenim sonuçları için uygun olduğu belirlenmiştir. Düşük duyusal kötü koku ve yüksek duyusal tüm izlenim puanına sahip hedeflenen özellikte örnek (0,30 duyusal kötü koku puanı ve 4,3 duyusal tüm izlenim puanı) eldesi için belirlenen optimum koşullar: -2°C depolama sıcaklığı ve 2 gün depolama süresi olarak bulunmuştur. Bu koşullarda modelden tahminlenen değerler duyusal kötü koku için 0,5 ve duyusal tüm izlenim için ise 4,1 olmuştur. -2°C depolama sıcaklığı ve 8 günlük depolama süresi sonunda örneklerden elde edilen değerler ise sırasıyla 0,58 duyusal kötü koku puanı ve 3,7 duyusal tüm izlenim olarak bulunmuştur. Deney parametrelerinin etkileşimini gösteren izdüşüm grafikleri incelendiğinde -2°C'de depolama ile örnek kalitesinin 8 günlük depolama süresince korunduğu gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, soğuk depolama süresince kıymanın kalitesinde gözlemlenen mikrobiyal, kimyasal, duyusal ve fiziksel değişimler bütünsel bir yaklaşımla incelenmiştir. Mikrobiyal gelişim, kıymanın metabolik profilinin tespiti amacına yönelik olarak ele alınan TBA sayısı, pH değeri, VOCs oluşumu, duyusal genel beğeni ve duyusal kötü koku oluşumu gibi analizlerle birlikte incelenmiştir. HS/SPME GC-MS analizleri, farklı koşullarda depolanan kıymaların dinamik koku profilinin oluşturulmasında yararlı olmuş ve bu yöntem kullanılarak depolama koşullarına spesifik indikatör koku bileşenleri tespit edilmiştir. Çalışma sırasında ele alınan çoğu kalite parametresinin korelasyonu ile bozulmanın en hızlı şekilde tespitine yönelik indikatör bozulma göstergeleri araştırılmıştır. Çalışmanın farklı özellikte (pH, yağ bileşimi, renk, başlangıç TMAB sayısı vb.) kıyma kullanımıyla tekrarlanmasının, oluşturulan yöntemin ve sonuçların doğrulanması için faydalı

olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca birden fazla indikatörün aynı anda kullanımıyla kıymada kalite kaybının en az hatayla tespit edilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Adams, M. R. ve Moss, M. O. (1995). Food microbiology. *The royal society of Chemistry*, Cambridge. New Age International Publishers.

Ahmad, S. ve Srivastava, P. K. (2007). Quality and shelf-life evaluation of fermented sausages of buffalo meat with different levels of heart and fat, *Meat Science*, **75**, 603–609.

Alomirah, H. F., Alli, I. ve Gibbs, B. F. (1998). Identıfıcation of proteolytic products as indicators of quality in ground and whole meat, *Journal of Food Quality*, **21**, 299-316.

Anonim (2013). Türk gıda kodeksi yönetmeliği, Çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımları tebliği, Resmi gazete tarih: 07.07.2006, Sayı:26221.

Argyri, A. A., Doulgeraki, A. I., Blana, V. A., Panagou, E. Z. ve Nychas, G. J. E. (2011). Potential of a simple HPLC based approach for the identification of the spoilage status of minced beef stored at various temperatures and packaging systems, *International Journal of Food Microbiology*, **150**, 25–33.

Baxter, N. J. (2000). The bacteria involved in meat spoilage and the effect of environmental factors on their growth. *PhD thesis*, Victoria University of Technology.

Berruga, M. I., Vergara, H. ve Gallego, L. (2005). Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat, *Small Ruminant Research*, **57**, 257–264.

Blixt, Y. ve Borch, E. (1999). Using an electronic nose for determining the spoilage of vacuum packaged beef, *International Journal of Food Microbiology*, **46**, 123–134.

Blixt, Y. ve Borch, E. (2002). Comparison shelf-life of vacuum-packed beef and pork, *Meat Science*, **60**, 371-378.

Borch, E., Kant-Muemansb, M. L. ve Blixt Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Internation Journal of Food Microbiol*, **33**, 103-120.

Calkins, C. R. ve Hodgen, J. M. (2007). A fresh look at meat flavor, *Meat Science*, **77**, 63-80.

Cañedo, A. R., Juez-Ojeda, C., Nuñez, M. ve Fernández-García, E. (2011). Volatile compounds in ground beef subjected to high pressure processing: A comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction, *Food Chemistry*, **124**, 1201–1207.

Chasco, J., Alzueta, M. J., Beriain, M. J. ve Insausti, K. (2003). Estimate of the shelf-life of beef under vacuum packaging by objective and subjective measurements, *Journal of Food Quality*, **26**, 499-509.

Chounou, N., Chouliara, E., Mexis, S. F., Stavros, K., Georgantelis, D. ve Kontominas, M. G. (2012). Shelf-life extension of ground meat stored at 4 °C using chitosan and an oxygen absorber: early view *International Journal of Food Science and Technology*, 1-7.

Chung, M. S., Lee, J. H. ve Min, D. B. (2002). Effects of *Pseudomonas putrifaciens* and *Acinetobacter spp.* on the flavor quality of raw ground beef, *Journal of Food Science*, **67**, 77-83.

Dainty, R. H., Edwards, R. A. ve Hibbard, C. M. (1985). Time course of volatile compound formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air. *Journal of Applied Bacteriology*, **59**, 303-309.

Dainty, R. H., Edwards, R. A. ve Hibbard, C. M. (1987). Volatile compounds produced by meat pseudomonads and relate reference strains during growth on beef stored in air at chill temperatures, *Journal of Applied Bacteriology*, **62**, 403-12.

Dainty, R. H., Edwards, R. A. ve Hibbard, C. M. (1989a). Spoilage of vacuum packed beef by *Clostridium spp*., *Journal of the Science Food and Agriculture*, **49**, 473-486.

Dainty, R. H., Edwards, R. A., Hibbard C. M. ve Marnewick, J. J. (1989b). Volatile compounds associated with microbial growth on normal and high pH beef stored at chill temperatures, *Journal of Applied Bacteriology*, **66**, 281-289.

D'Agata, M., Nuvoloni, R., Pedonese, F., Russo, C., D'Ascenzi, C. ve Preziuso, G. (2008). Effect of packaging and storage time on beef qualitative and microbial traits, *Journal of Food Quality*, **33**, 352–366.

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

Doyle, M. E. (2007). Microbial food spoilage-losses and control strategies, PhD thesis, *Food Research Institute*, University of Wisconsin–Madison.

Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F. ve Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions, *International Journal of Food Microbiology*, **157**, 130–141.

Ellis, D. I. ve Goodacre, R. (2001). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends, *Trends in Food Science and Technology*, **12**, 414–424.

Ercolini, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P. ve Villani, F. (2006). Changes in the spoilage related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions, *Applied and Environonmental Microbiology*, **72**, 4663-4671.

Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P. ve Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef, *Applied and Environmental Microbiology*, **75**, 1990-2001.

Ercolini, D., Ferrocinoa, I., Nasia, A., Ndagijimana, M., Vernocchi, P., La Storia, A., Laghi, L., Mauriellоa, G., Elisabetta Guerzoni, M. ve Villani, F. (2011). Microbial metabolites and bacterial diversity in beef stored in different packaging conditions monitored by pyrosequencing, PCR-DGGE, SPME GC-MS and HNMR, *Applied and Environmental Microbiology*, 1-28.

Esmer, Ö. K., Irkin, R., Degirmencioglu, N. ve Degirmencioglu, A. (2011). The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat, *Meat Science*, **88**, 221–226.

Fernandez, J., Pérez-Alvarez, J. A. ve Fernandez-Lopez, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat, *Food Chemistry*, **59**, 345-353.

Ferioli, F., Duttab, P. C. ve Caboni, M. F. (2010). Cholesterol and lipid oxidation in raw and pan-fried minced beef stored under aerobic packaging, *Journal Science Food Agriculture*, **90**, 1050–1055.

Gill, C. O. ve Newton, K. G. (1977). The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures, *Meat Science*, **2**, 207-217.

Gill, C. O. ve Newton, K. G. (1980). Growth of bacteria on meat at room temperatures, *Journal of Applied Microbiology*, **49**, 315–323.

Gök, V., Kayaardı, S. ve Obuz , E. (2009). Extending the chilled shelf-life of vacuum packaged ground beef using ascorbic acid, nitrite or salt, *Journal of Muscle Foods*, **20**, 211–226.

Hierro, E., Hoz, L. ve Ordonez, J. A. (2004). Headspace volatile compounds from salted and occasionally smoked dried meats (cecinas) as affected by animal species, *Food Chemistry*, **85**, 649–657.

Hood, D. E. ve Mead, G. C. (1993). Modified Atmosphere Storage of Fresh Meat and Poultry. In Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food, Edited by R.T. Parry. pp 269-298. London: Blackie Academic and Professional.

Holzapfel, W. H. (1998). The gram-positive bacteria associated with meat and meat products. In the microbiology of meat and poultry, Edited by R. G. Board and A. R. *Davies, London, UK: Blackie Academic and Professional*, 35-84.

Irkin, R., Esmer, O. K., Degirmencioglu, N. ve Degirmencioglu, A. (2011). Influence of packaging conditions on some microbial properties of minced beef meat at 4°C storage, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **17**, 655-663.

Insausti, K., Beriain, M .J., Gorraiz, C. ve Purroy, A. (2002). Volatile compounds of raw beef from 5 local spanish cattle breeds stored under modified atmosphere, *Journal of Food Science*, **67**, 1580-1589.

İsmail, H. A., Lee, E. J, Ko, K. Y. ve Ahn, D. U. (2009). Fat content influences the color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef, *Journal of Food Science*, **74**, 432-440.

ISO 8589. (1988). Sensory analysis. General guidance for design of test rooms. International Organization for Standardisation, Paris.

James, S. J., Evans, J. ve James, C. (2008). A review of the performance of domestic refrigerators, *Journal of Food Engineering*, **87**, 2–10.

James, S. J. ve James, J. (2002). Meat refrigeration, Microbiology of refrigerated meat, *Woodhead Publishing, Cambridge*, pp. 6.

Jay, J. M., Vilai, J. P. ve Hughes, M. E. (2003). Modern profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5–7 °C, *International Journal of Food Microbiology*, **81**, 105–111.

Jacobsen, C. (1999). Sensory impact of lipid oxidation in complex food systems, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **101**, 484–492.

Karabudak, E. (2003) The effects of iron compounds in muscle foods on the lipid oxidation, *Gıda* , **28**, 195-201.

Keyvan, E. ve Özdemir H. (2009). Prediktif mikrobiyoloji ve gıda endüstrisinde önemi, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, **8**, 11-25.

Koch, A. G., Sørensen, P. E., Meinert, L. ve Christensen, H. (2009) Requirements to shelf-life of fresh meat and meat products, *Danish Meat Research Institute*, 1-4.

Koutsoumanis, K, Stamatiou, A., Skandamis, P. ve Nychas, G. J .E. (2006). Development of a microbial model for the combined effect of temperature

and pH on spoilage of ground meat and validation of the model under dynamic temperature conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 124-134.

Linares, M. B., Berruga, M. I. Bornez, R. ve Vergara, H. (2007). Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres, *Meat Science*, **76**, 715–720.

Limbo, S., Torri, L., Sinelli, N., Franzetti, L. ve Casiraghi, E. (2010). Evaluation and predictive modeling of shelf-life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures, *Meat Science*, **84**, 129–136

Mayr, D., Margesin, R., Klingsbichel, E., Hartungen, E., Jenewein, D., Schinner, F. ve Mark, T. D. (2003). Rapid detection of meat spoilage by measuring volatile organic compounds by using proton transfer reaction mass spectrometry, *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 4697–4705.

McDonald, K. ve Sun, D. W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **52**, 1–27.

Min, B. ve Ahn, D. U. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products: A review, *Food Science and Biotechnology*, **14**, 152-163.

Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A ve Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, **112**, 279–289.

Mulvaney, S. J. ve Rizvi, S. S. (1993). Extrusion processing with supercritical, fluids, *Food Technology*, **47**, 74-82.

Myers, R. H. ve Montgomery, D. C. (2002). Response surface methodology. process and product optimization using design experiments., *A Wiley Inter-Science Publication*, 792.

Nychas, G. J. E., Drosinos, E. H. ve Board, R. G. (1998). Chemical changes in stored meat. In The Microbiology of Meat and Poultry, Edited by R. G. Board and A. R. Davies, London, UK: *Blackie Academic and Professional*, 288-326.

Nychas, G. J. E. ve Skandamis, P. (2005). Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP). In Improving the Safety of Fresh Meat, Edited by J. N. Sofos. Cambridge, UK: *CRC/Woodhead Publishing Limited*, 461-502.

Nychas, G. J. E., Marshall, D. L. ve Sofos, J. N. (2007). Meat, poultry and seafood. In Food microbiology: fundamentals and frontiers, Edited by M. P. Doyle and L. R. Beuchat, Washington, *D.C: ASM Press*, 105-140.

Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C. ve Koutsoumanis K. P. (2008). Meat spoilage during distribution, *Meat Science*, **78**, 77-89.

Olaoye, O. A. ve Ntuen, I. G. (2011). Spoilage and preservation of meat: a general appraisal and potential of lactic acid bacteria as biological preservatives, *International Research Journal of Biotechnology*, **2**, 33-46.

Öztan, A. (1999). Et Bilimi ve Teknolojisi, *Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları*, **19**, 65.

Perez, R. A., Rojo, M. D., Gonales, G. ve De Loreno, C. (2008). Solid-phase microextraction for the determination of volatile compounds in the spoilage of raw ground beef, *Journal of AOAC International*, **91**, 1409-1415.

Pennacchia, C., Ercolini, D. ve Villani, F. (2011). Spoilage related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack, *Food Microbiology*, **28**, 84-93.

Pikul, J., Dennis, E., Leszczynski, E. D. ve Kummerow, F. A. (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 1309-1313.

Resconi, V. A., Escudero, A., Beltran, J. A., Olleta, J. L., Sanudo, C. ve del Mar Campo, M. (2012). Color, lipid oxidation, sensory quality and aroma compounds of beef steaks displayed under different levels of oxygen in a modified atmosphere package, *Journal of Food Science*, **71**, 510-518.

Rhee, K. S. ve Myers, C. E. (2003). Sensory properties and lipid oxidation in aerobically refrigerated cooked ground goat meat, *Meat Science*, **66**, 189–194.

Ross, C. F. ve Smith, D. M. (2006). Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods, *Food Science and Food Safety*, **4**, 18-25.

Sakallı, Ö. (2012). Ev tipi buzdolaplarında enerji tüketimine etki eden prametrelerin incelenmesi, (Yüksek Lisans Tezi). *İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, 1-5.

Serdaroğlu, M. (2010). Et teknolojisi ders notları, *Ege Üniversitesi, İzmir*.

Shelef, L. A. (1977). Effecet of glucose on the bacterial spoilage of beef, *Journal of Food Science*, **42**, 1172–1175.

TS 6160. (1988). Kırmızı etler-Soğutma, dondurma muhafaza, taşıma ve çözdürme kuralları. *Türk Standartları Enstitüsü,* Ankara.

TS 11566. (2003). Et ve et ürünleri-Kıyma. *Türk Standartları Enstitüsü,* Ankara.

Tsigarida, E. ve Nychas, G. J. E. (2001). Ecophysiological attributes of a *Lactobacillus spp.* and a *Pseudomonas spp.* on sterile beef fillets in relation to storage temperature and film permeability, *Journal of Applied Microbiology*, **90**, 696–705.

Ulu, H. (2006). Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products, *Meat Science*, **67**, 683–687.

Van Ruth, S. M. (2011). Techniques for sampling and identification of volatile compounds contributing to sensory perception, Taylor and Francis Group, LLC, Chapter 3, 39-48.

Wang, C., Zhu, L. ve Brewer, M. S. (1997). Comparison of 2-thiobarbituric acid reactive substances determination methods in various types of frozen fresh meat, *Journal of Food Lipids*, **4**, 87-96.

Wang. B., Pace, R. D., Dessai, A. P., Bovell-Benjamin, A. ve Phillips, B. (2002). Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity, *Journal of Food Science*, **67**, 2833-2836.

Whitfield, F. B. (2003). Taints and off-flavours in food, *Woodhead Publishing Series in Food Science Technology and Nutrition*, 112-117.

Zakrys, P. I., Hogan, S. A., O'Sullivan, M. G., Allen, P. ve Kerry, J. P. (2008). Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere, *Meat Science*, **79,** 648–655.

Url-1<http://ag.ansc.purdue.edu/meat_quality/spoiled_meat.html>, alındığı tarih 27.10.2012.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Ad Soyad:	Semra PEKTAŞ
Doğum Yeri ve Tarihi:	Bingazi / 16.07.1984
E-Posta:	semra2pektas@gmail.com

Öğrenim Durumu

Lisans:	Ege Üniversitesi
	Gıda Mühendisliği (2006-2010)
Lise:	İstanbul Kabataş ErkekLisesi (A.L.)
	Fen - Matematik (1999-2003)

İş Tecrübesi

2011-2013	Arçelik A.Ş.
	Malzeme Teknolojisi Ailesi
	Sözleşmeli Arge Mühendisi

EKLER

Ek A1 : Duyusal analizde kullanılan örnek form

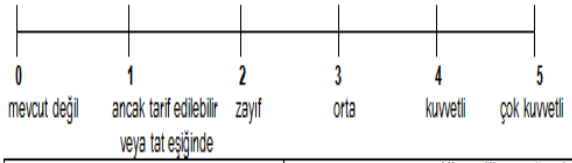
Ek A2 : Genel doğrusal modelleme istatistiksel analiz sonuçları

Ek A1

İ.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü
ARÇELİK A.Ş.

Deney : Buzdolabı Koşullarında Depolanan Kıymada Duyusal Özelliklerin Tespiti
Panelist :
Tarih:

Verilen örnekleri aşağıdaki skalayı kullanarak değerlendiriniz.



Özellik	Hissedilen yoğunluk		
	Örnek kodu:___	Örnek kodu:___	Örnek kodu___
Koku/aroma karakteri			
Taze et kokusu			
Keskin koku			
Kötü koku			
Metalik (okside) koku			
Asidik (ekşi) koku			
Çürük koku (kükürtlü)			
Görünüş özellikleri			
Yüzeydeki renk*			
İç renk*			
Parlaklık			
Yüzeyde normal dışı görünüm**			
Yapışkanlık			
Yorum**: Nasıl tanımlarsınız?			
Tüm izlenim* **			

*Yüzeydeki renk ve iç renk 1-5 arasında (kırmızı-kahverengi) değerlendirilecektir.
***Yüzeydeki renk ve iç renk dışındaki özellikler 0-5 arasında (çok zayıf-çok iyi) değerlendirilecektir.

Şekil A.1.1: Duyusal analizde kullanılan form örneği.

Ek A2

General Linear Model: TMAB versus Günler; Koşul; Sıcaklık

```
Factor    Type   Levels  Values
Günler    fixed       8  0; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10
Koşul     fixed       2  Aerobik; Vakum
Sıcaklık  fixed       2  0; 4

Analysis of Variance for TMAB, using Adjusted SS for Tests

Source                 DF    Seq SS    Adj SS   Adj MS       F      P
Günler                  7  109,1271  109,1271  15,5896  487,52  0,000
Koşul                   1    2,8617    3,4340   3,4340  107,39  0,000
Sıcaklık                1    4,4379    5,3255   5,3255  166,54  0,000
Günler*Koşul            7    2,2421    2,2421   0,3203   10,02  0,000
Günler*Sıcaklık         7    3,1757    3,1757   0,4537   14,19  0,000
Koşul*Sıcaklık          1    0,4540    0,5448   0,5448   17,04  0,000
Günler*Koşul*Sıcaklık   7    0,9039    0,9039   0,1291    4,04  0,002
Error                  40    1,2791    1,2791   0,0320
Total                  71  124,4814

S = 0,178823   R-Sq = 98,97%   R-Sq(adj) = 98,18%

Term                       Coef  SE Coef       T      P
Constant                6,77223  0,02164  312,91  0,000
Günler
 0                     -2,41918  0,04436  -54,54  0,000
 1                     -0,50996  0,05888   -8,66  0,000
 2                     -0,22848  0,05888   -3,88  0,000
 3                      0,56027  0,05888    9,52  0,000
 4                      0,32652  0,05888    5,55  0,000
 6                      0,47902  0,05888    8,14  0,000
 8                      0,79902  0,05888   13,57  0,000
Koşul
Aerobik                 0,22428  0,02164   10,36  0,000
Sıcaklık
0                      -0,27930  0,02164  -12,90  0,000
Günler*Koşul
 0     Aerobik         -0,22428  0,04436   -5,06  0,000
 1     Aerobik         -0,11752  0,05888   -2,00  0,053
 2     Aerobik         -0,23553  0,05888   -4,00  0,000
 3     Aerobik          0,25572  0,05888    4,34  0,000
 4     Aerobik          0,04197  0,05888    0,71  0,480
 6     Aerobik          0,06197  0,05888    1,05  0,299
 8     Aerobik          0,21197  0,05888    3,60  0,001
Günler*Sıcaklık
 0     0                0,27930  0,04436    6,30  0,000
 1     0                0,10988  0,05888    1,87  0,069
 2     0                0,10055  0,05888    1,71  0,095
 3     0               -0,38820  0,05888   -6,59  0,000
 4     0                0,10805  0,05888    1,84  0,074
 6     0               -0,01195  0,05888   -0,20  0,840
 8     0               -0,24945  0,05888   -4,24  0,000
Koşul*Sıcaklık
Aerobik 0               -0,08933  0,02164   -4,13  0,000
Günler*Koşul*Sıcaklık
 0     Aerobik 0        0,08933  0,04436    2,01  0,051
 1     Aerobik 0        0,09466  0,05888    1,61  0,116
 2     Aerobik 0        0,04558  0,05888    0,77  0,443
 3     Aerobik 0       -0,09067  0,05888   -1,54  0,131
 4     Aerobik 0        0,06058  0,05888    1,03  0,310
 6     Aerobik 0       -0,06192  0,05888   -1,05  0,299
 8     Aerobik 0       -0,24442  0,05888   -4,15  0,000

Unusual Observations for TMAB
      Toplam
```

Obs	Canlı	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
53	6,07000	6,36500	0,12645	-0,29500	-2,33	R
54	6,66000	6,36500	0,12645	0,29500	2,33	R
121	7,88000	8,20500	0,12645	-0,32500	-2,57	R
122	8,53000	8,20500	0,12645	0,32500	2,57	R
125	7,49000	7,78500	0,12645	-0,29500	-2,33	R
126	8,08000	7,78500	0,12645	0,29500	2,33	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Günler	N	Mean	Grouping
10	8	7,765	A
8	8	7,571	A B
3	8	7,333	B C
6	8	7,251	C
4	8	7,099	C
2	8	6,544	D
1	8	6,262	D
0	16	4,353	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

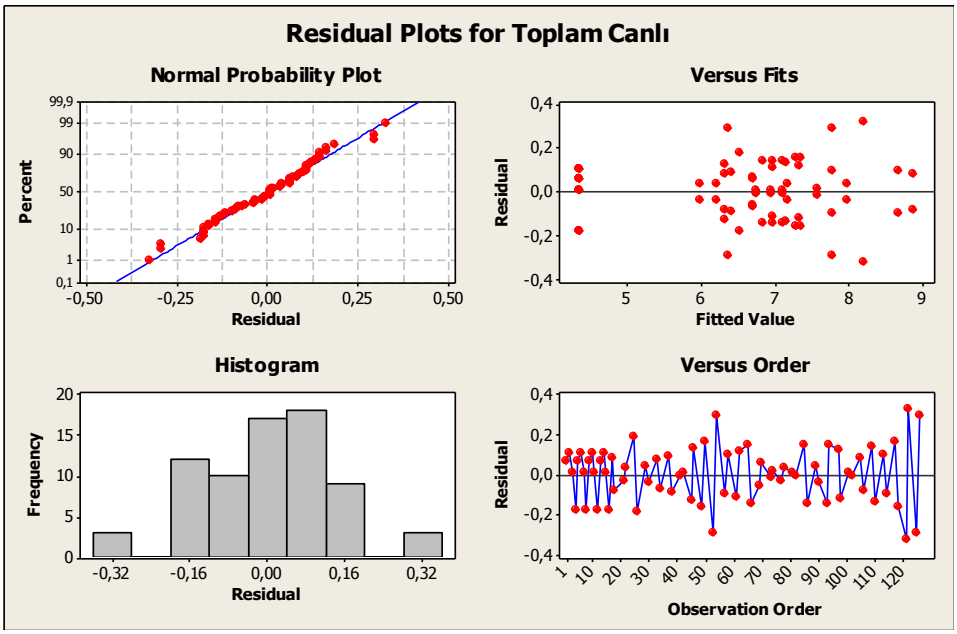
Koşul	N	Mean	Grouping
Aerobik	36	6,997	A
Vakum	36	6,548	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Sıcaklık	N	Mean	Grouping
4	36	7,052	A
0	36	6,493	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Şekil A.2.1: TMAB sayısına ait kalıntı grafikleri.

General Linear Model: Pseudomonas versus Depolama Sür; Paketleme; ...

Factor	Type	Levels	Values
Depolama Süresi (Gün)	fixed	6	0; 2; 4; 6; 8; 10
Paketleme	fixed	2	Aerobik; Vakum
Depolama Sıcaklığı	fixed	2	0; 4

Analysis of Variance for Pseudomonas, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Depolama Süresi (Gün)	5	32,7265	32,7265	6,5453	24,65	0,000
Paketleme	1	7,7927	9,9180	9,9180	37,36	0,000
Depolama Sıcaklığı	1	1,7679	2,2501	2,2501	8,47	0,006
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme	5	4,9339	4,9339	0,9868	3,72	0,008
Depolama Süresi (Gün)* Depolama Sıcaklığı	5	1,9511	1,9511	0,3902	1,47	0,223
Paketleme*Depolama Sıcaklığı	1	2,2923	2,2923	2,2923	8,63	0,006
Error	37	9,8236	9,8236	0,2655		
Total	55	61,2880				

S = 0,515269 R-Sq = 83,97% R-Sq(adj) = 76,17%

Unusual Observations for Pseudomonas

Obs	Pseudomonas	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	2,00000	3,08482	0,23350	-1,08482	-2,36 R
27	2,00000	3,08482	0,23350	-1,08482	-2,36 R
170	4,00000	5,04893	0,32296	-1,04893	-2,61 R
185	4,86000	4,01107	0,32296	0,84893	2,11 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama Süresi (Gün)	N	Mean	Grouping
10	8	4,9	A
8	8	4,7	A B
4	8	4,5	A B
6	8	4,4	A B
2	8	4,1	B
0	16	2,9	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

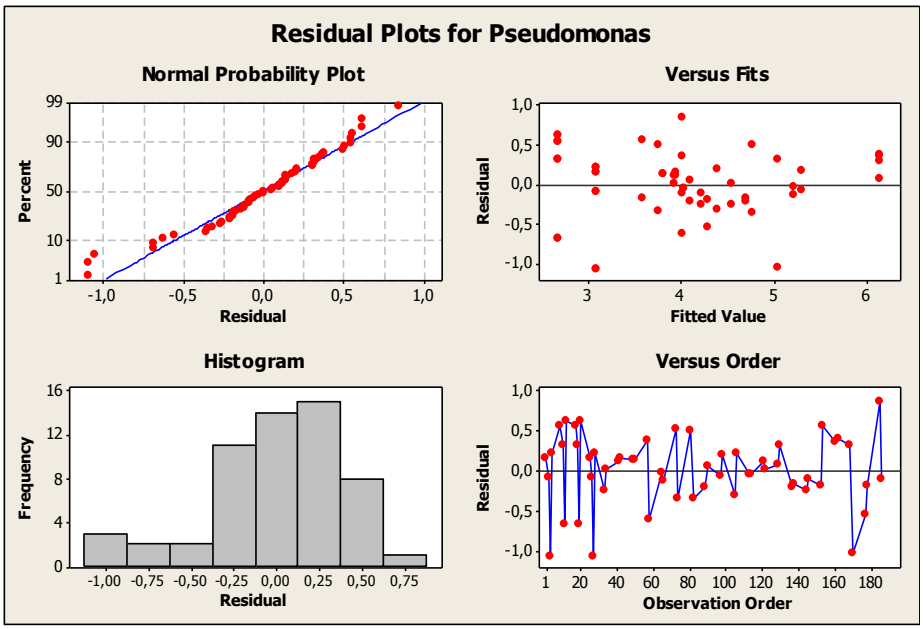
Paketleme	N	Mean	Grouping
Aerobik	28	4,7	A
Vakum	28	3,8	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama Sıcaklığı	N	Mean	Grouping
4	28	4,4	A
0	28	4,0	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Şekil A.2.2: *Pseudomonas* spp. sayısına ait kalıntı grafikleri.

General Linear Model: pH Değeri versus Depolama Süresi ; Paketleme; ...

```
Factor                  Type   Levels  Values
Depolama Süresi (Gün)   fixed       6  0; 2; 4; 6; 8; 10
Paketleme               fixed       2  Aerobik; Vakum
Depolama Sıcaklığı      fixed       2  0; 4


Analysis of Variance for pH Değeri, using Adjusted SS for Tests

Source                              DF   Seq SS   Adj SS   Adj MS       F
Depolama Süresi (Gün)                5  0,06014  0,06014  0,01203    1,50
Paketleme                            1  1,88889  1,88889  1,88889  235,05
Depolama Sıcaklığı                   1  0,06934  0,06934  0,06934    8,63
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme      5  2,36359  2,36359  0,47272   58,82
Depolama Süresi (Gün)*               5  0,12537  0,12537  0,02507    3,12
Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı         1  0,10653  0,10653  0,10653   13,26
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*     5  0,80948  0,80948  0,16190   20,15
Depolama Sıcaklığı
Error                               72  0,57861  0,57861  0,00804
Total                               95  6,00194

Source                                  P
Depolama Süresi (Gün)               0,202
Paketleme                           0,000
Depolama Sıcaklığı                  0,004
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme     0,000
Depolama Süresi (Gün)*              0,013
  Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı        0,001
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*    0,000
  Depolama Sıcaklığı
Error
Total

S = 0,0896452   R-Sq = 90,36%   R-Sq(adj) = 87,28%

Term                                    Coef   SE Coef       T       P
Constant                             6,00638   0,00915  656,48  0,000
Depolama Sür
```

0			0,01237	0,02046	0,60	0,547
2			-0,02012	0,02046	-0,98	0,329
4			0,02550	0,02046	1,25	0,217
6			-0,04262	0,02046	-2,08	0,041
8			-0,00212	0,02046	-0,10	0,918
Paketleme						
Aerobik			0,140271	0,009149	15,33	0,000
Depolama Sıc						
0			-0,026875	0,009149	-2,94	0,004
Depolama Sür*Paketleme						
0	Aerobik		-0,14027	0,02046	-6,86	0,000
2	Aerobik		-0,07902	0,02046	-3,86	0,000
4	Aerobik		-0,12465	0,02046	-6,09	0,000
6	Aerobik		-0,09027	0,02046	-4,41	0,000
8	Aerobik		0,17323	0,02046	8,47	0,000
Depolama Sür*Depolama Sıc						
0	0		0,02687	0,02046	1,31	0,193
2	0		-0,01187	0,02046	-0,58	0,563
4	0		0,04000	0,02046	1,96	0,054
6	0		-0,00938	0,02046	-0,46	0,648
8	0		-0,06887	0,02046	-3,37	0,001
Paketleme*Depolama Sıc						
Aerobik	0		-0,033312	0,009149	-3,64	0,001
Depolama Sür*Paketleme*Depolama Sıc						
0	Aerobik	0	0,03331	0,02046	1,63	0,108
2	Aerobik	0	0,03206	0,02046	1,57	0,121
4	Aerobik	0	0,02519	0,02046	1,23	0,222
6	Aerobik	0	0,05081	0,02046	2,48	0,015
8	Aerobik	0	-0,20344	0,02046	-9,94	0,000

Unusual Observations for pH Değeri

Obs	pH Değeri	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
129	6,88500	6,65025	0,04482	0,23475	3,02 R
161	6,22300	6,40950	0,04482	-0,18650	-2,40 R
162	6,89600	6,40950	0,04482	0,48650	6,27 R
164	6,10800	6,40950	0,04482	-0,30150	-3,88 R

R denotes an observation with a large standardized residual.
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama Süresi (Gün)	N	Mean	Grouping
10	16	6,033	A
4	16	6,032	A
0	16	6,019	A
8	16	6,004	A
2	16	5,986	A
6	16	5,964	A

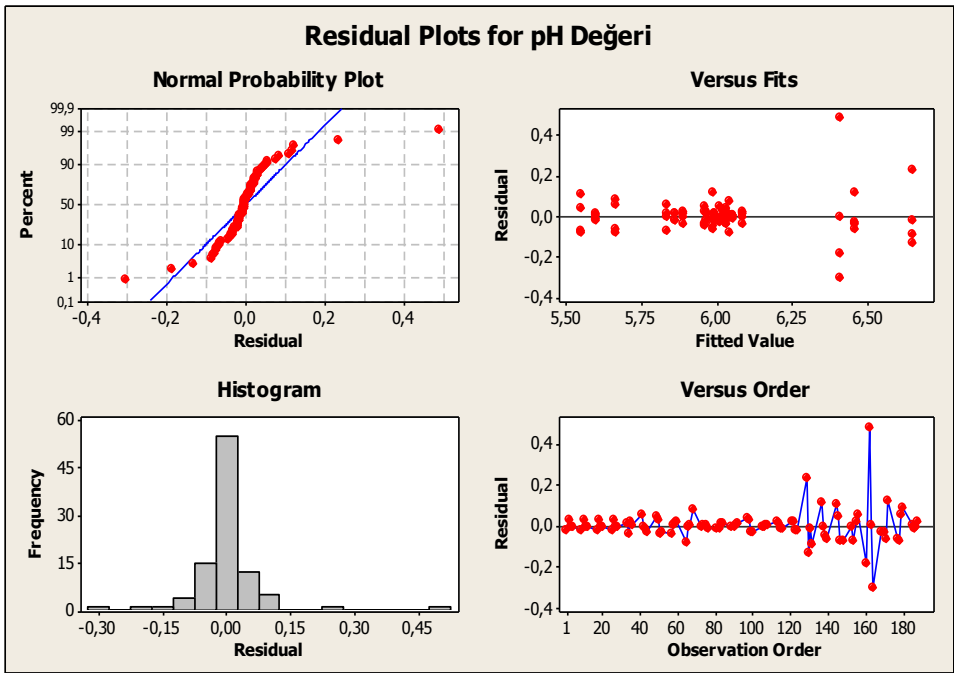
Means that do not share a letter are significantly different.
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Paketleme	N	Mean	Grouping
Aerobik	48	6,147	A
Vakum	48	5,866	B

Means that do not share a letter are significantly different.
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama Sıcaklığı	N	Mean	Grouping
4	48	6,033	A
0	48	5,980	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Şekil A.2.3: pH değişimine ait ait kalıntı grafikleri.

General Linear Model: TBA Oksidasy versus Depolama Sür; Paketleme; ...

```
Factor                  Type   Levels  Values
Depolama Süresi (Gün)   fixed       6  0; 2; 4; 6; 8; 10
Paketleme               fixed       2  Aerobik; Vakum
Depolama Sıcaklığı      fixed       2  0; 4


Analysis of Variance for TBA Oksidasyon, using Adjusted SS for Tests

Source                              DF   Seq SS   Adj SS   Adj MS        F
Depolama Süresi (Gün)                5  24,9635  24,5518   4,9104   621,49
Paketleme                            1  33,7952  41,9763  41,9763  5312,78
Depolama Sıcaklığı                   1   0,0645   0,0586   0,0586     7,42
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme      5  17,4703  17,4703   3,4941   442,23
Depolama Süresi (Gün)*               5   0,6367   0,6714   0,1343    17,00
  Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı         1   0,0006   0,0028   0,0028     0,35
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*     5   0,9184   0,9184   0,1837    23,25
  Depolama Sıcaklığı
Error                               86   0,6795   0,6795   0,0079
Total                              109  78,5287


Source                                 P
Depolama Süresi (Gün)              0,000
Paketleme                          0,000
Depolama Sıcaklığı                 0,008
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme    0,000
Depolama Süresi (Gün)*             0,000
  Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı       0,553
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*   0,000
  Depolama Sıcaklığı
Error
Total


S = 0,0888875   R-Sq = 99,13%   R-Sq(adj) = 98,90%
```

Term				Coef	SE Coef	T	P
Constant				1,30206	0,00882	147,69	0,000
Depolama Sür							
0				-0,73165	0,01557	-47,00	0,000
2				-0,35862	0,02149	-16,69	0,000
4				0,09304	0,02017	4,61	0,000
6				0,35701	0,02017	17,70	0,000
8				0,12000	0,02017	5,95	0,000
Paketleme							
Aerobik				0,642620	0,008816	72,89	0,000
Depolama Sıc							
0				-0,024010	0,008816	-2,72	0,008
Depolama Sür*Paketleme							
0	Aerobik			-0,64262	0,01557	-41,28	0,000
2	Aerobik			-0,29274	0,02149	-13,62	0,000
4	Aerobik			0,15231	0,02017	7,55	0,000
6	Aerobik			0,34031	0,02017	16,87	0,000
8	Aerobik			0,15758	0,02017	7,81	0,000
Depolama Sür*Depolama Sıc							
0	0			0,02401	0,01557	1,54	0,127
2	0			0,09200	0,02149	4,28	0,000
4	0			-0,06311	0,02017	-3,13	0,002
6	0			-0,09619	0,02017	-4,77	0,000
8	0			-0,07684	0,02017	-3,81	0,000
Paketleme*Depolama Sıc							
Aerobik	0			0,005250	0,008816	0,60	0,553
Depolama Sür*Paketleme*Depolama Sıc							
0	Aerobik	0		-0,00525	0,01557	-0,34	0,737
2	Aerobik	0		0,10610	0,02149	4,94	0,000
4	Aerobik	0		-0,05006	0,02017	-2,48	0,015
6	Aerobik	0		-0,05526	0,02017	-2,74	0,007
8	Aerobik	0		-0,14301	0,02017	-7,09	0,000

Unusual Observations for TBA Oksidasyon

Obs	TBA Oksidasyon	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
33	0,92190	1,11398	0,05132	-0,19208	-2,65 R
42	1,32468	1,47266	0,05132	-0,14798	-2,04 R
43	1,62498	1,47266	0,05132	0,15232	2,10 R
129	2,27094	2,46088	0,04444	-0,18994	-2,47 R
132	2,68296	2,46088	0,04444	0,22208	2,88 R
161	2,29782	2,50121	0,04444	-0,20339	-2,64 R
162	2,26968	2,50121	0,04444	-0,23153	-3,01 R
163	2,71992	2,50121	0,04444	0,21871	2,84 R
164	2,71740	2,50121	0,04444	0,21619	2,81 R
171	3,22938	2,99890	0,04444	0,23048	2,99 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama Süresi (Gün)	N	Mean	Grouping
10	16	1,8223	A
6	16	1,6591	B
8	16	1,4221	C
4	16	1,3951	C
2	14	0,9434	D
0	32	0,5704	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

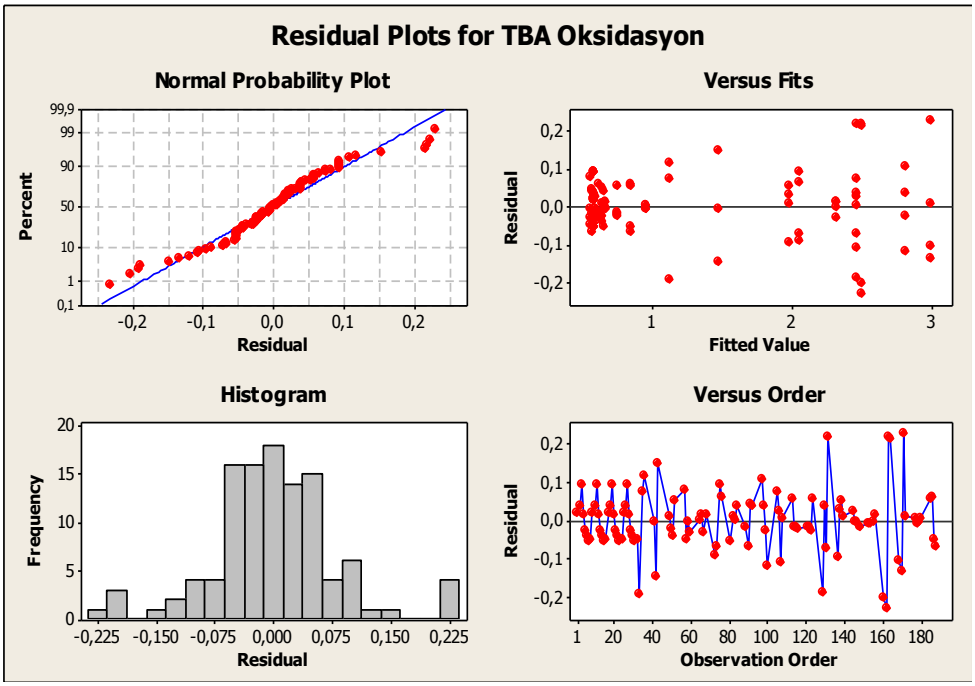
Paketleme	N	Mean	Grouping
Aerobik	54	1,9447	A

```
Vakum       56  0,6594    B
Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama
Sıcaklığı    N     Mean  Grouping
4           55  1,3261  A
0           55  1,2781    B

Means that do not share a letter are significantly different.
```



Şekil A.2.4: TBA değişimine ait kalıntı grafikleri.

General Linear Model: Genel izlenim versus Depolama Sür; Paketleme; ...

```
Factor                  Type   Levels  Values
Depolama Süresi (Gün)   fixed       5  0; 2; 4; 8; 10
Paketleme               fixed       2  Aerobik; Vakum
Depolama Sıcaklığı      fixed       2  0; 4

Analysis of Variance for Genel izlenim, using Adjusted SS for Tests

Source                              DF   Seq SS   Adj SS   Adj MS       F
Depolama Süresi (Gün)                4  147,989  147,989   36,997   51,13
Paketleme                            1  109,136  104,263  104,263  144,10
Depolama Sıcaklığı                   1    0,727    0,704    0,704    0,97
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme      4   25,489   25,489    6,372    8,81
Depolama Süresi (Gün)*               4    1,698    1,698    0,424    0,59
Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı         1    0,182    0,078    0,078    0,11
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*     4    2,443    2,443    0,611    0,84
  Depolama Sıcaklığı
Error                               68   49,200   49,200    0,724
Total                               87  336,864


Source                                  P
Depolama Süresi (Gün)               0,000
Paketleme                           0,000
```

```
Depolama Sıcaklığı                0,327
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme   0,000
Depolama Süresi (Gün)*            0,673
  Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı      0,743
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*  0,502
  Depolama Sıcaklığı
Error
Total

S = 0,850605   R-Sq = 85,39%   R-Sq(adj) = 81,31%

Term                                      Coef  SE Coef       T      P
Constant                               2,68500  0,09122   29,44  0,000
Depolama Sür
 0                                      2,3150   0,1883   12,29  0,000
 2                                      0,6275   0,1883    3,33  0,001
 4                                     -0,5850   0,1733   -3,38  0,001
 8                                     -0,9850   0,1733   -5,68  0,000
Paketleme
Aerobik                               -1,09500  0,09122  -12,00  0,000
Depolama Sıc
0                                      0,09000  0,09122    0,99  0,327
Depolama Sür*Paketleme
 0           Aerobik                   1,0950   0,1883    5,82  0,000
 2           Aerobik                  -0,4675   0,1883   -2,48  0,016
 4           Aerobik                  -0,1050   0,1733   -0,61  0,547
 8           Aerobik                  -0,3050   0,1733   -1,76  0,083
Depolama Sür*Depolama Sıc
 0           0                        -0,0900   0,1883   -0,48  0,634
 2           0                         0,2225   0,1883    1,18  0,241
 4           0                        -0,0900   0,1733   -0,52  0,605
 8           0                         0,1100   0,1733    0,63  0,528
Paketleme*Depolama Sıc
Aerobik   0                           -0,03000  0,09122   -0,33  0,743
Depolama Sür*Paketleme*Depolama Sıc
 0           Aerobik   0               0,0300   0,1883    0,16  0,874
 2           Aerobik   0               0,2175   0,1883    1,16  0,252
 4           Aerobik   0              -0,0700   0,1733   -0,40  0,688
 8           Aerobik   0              -0,2700   0,1733   -1,56  0,124
Unusual Observations for Genel izlenim

Obs  Tüketilebilirlik      Fit   SE Fit  Residual  St Resid
 85           1,00000  3,20000  0,38040  -2,20000     -2,89 R
131           2,00000  0,40000  0,38040   1,60000      2,10 R
148           0,00000  2,60000  0,38040  -2,60000     -3,42 R
177           1,00000  2,75000  0,42530  -1,75000     -2,38 R
186           5,00000  2,50000  0,42530   2,50000      3,39 R
188           1,00000  2,50000  0,42530  -1,50000     -2,04 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama
Süresi
(Gün)      N   Mean  Grouping
 0        16  5,000  A
 2        16  3,312    B
 4        20  2,100      C
 8        20  1,700      C
10        16  1,312      C


Means that do not share a letter are significantly different.
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Paketleme   N   Mean  Grouping
```

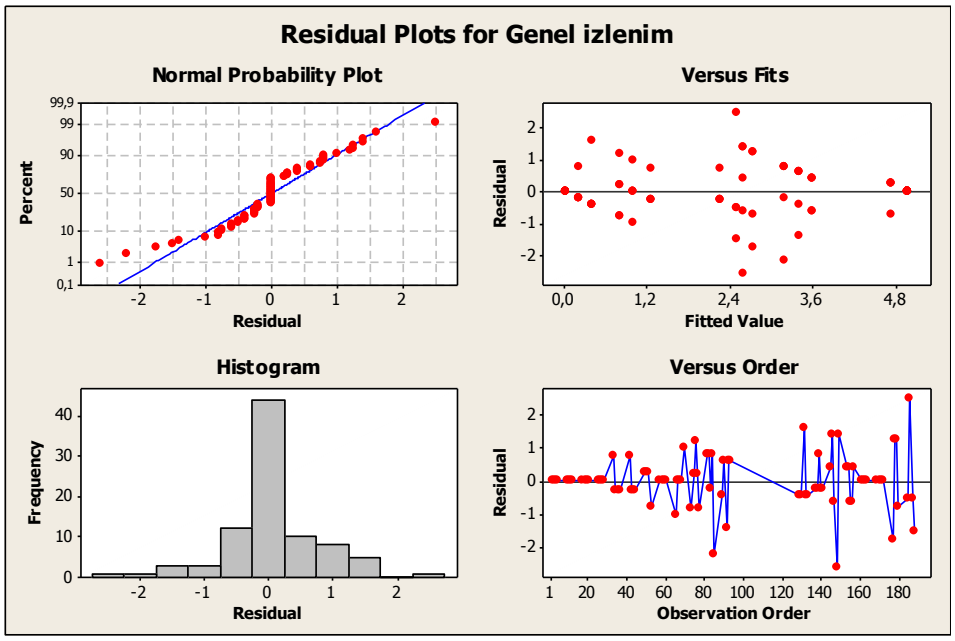
```
Vakum       44   3,780   A
Aerobik     44   1,590     B

Means that do not share a letter are significantly different.


Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama
Sıcaklığı    N    Mean   Grouping
0           44   2,775   A
4           44   2,595   A

Means that do not share a letter are significantly different.
```



Şekil A.2.5: Duyusal genel izlenime ait kalıntı grafikleri.

General Linear Model: Kötü Koku versus Depolama Süresi ; Paketleme; ...

```
Factor                  Type   Levels  Values
Depolama Süresi (Gün)   fixed       5  0; 2; 4; 8; 10
Paketleme               fixed       2  Aerobik; Vakum
Depolama Sıcaklığı      fixed       2  0; 4

Analysis of Variance for Kötü Koku, using Adjusted SS for Tests

Source                                DF    Seq SS    Adj SS    Adj MS       F
Depolama Süresi (Gün)                  4   271,261   259,151    64,788  214,74
Paketleme                              1    88,083   108,283   108,283  358,90
Depolama Sıcaklığı                     1     2,676     4,206     4,206   13,94
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme        4    42,731    42,731    10,683   35,41
Depolama Süresi (Gün)*                 4     6,046     6,740     1,685    5,58
Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı           1     2,652     2,878     2,878    9,54
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*       4    12,251    12,251     3,063   10,15
Depolama Sıcaklığı
Error                                 88    26,550    26,550     0,302
Total                                107   452,250
Source                                   P
Depolama Süresi (Gün)                0,000
Paketleme                            0,000
Depolama Sıcaklığı                   0,000
```

```
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme   0,000
Depolama Süresi (Gün)*            0,000
  Depolama Sıcaklığı
Paketleme*Depolama Sıcaklığı      0,003
Depolama Süresi (Gün)*Paketleme*  0,000
  Depolama Sıcaklığı
Error
Total
S = 0,549276   R-Sq = 94,13%   R-Sq(adj) = 92,86%
Term                                      Coef  SE Coef       T      P
Constant                               2,37750  0,05424   43,84  0,000
Depolama Sür
 0                                    -2,37750  0,09273  -25,64  0,000
 2                                     -0,8150   0,1146   -7,11  0,000
 4                                      0,7225   0,1095    6,60  0,000
 8                                      0,7225   0,1095    6,60  0,000
Paketleme
Aerobik                                1,02750  0,05424   18,94  0,000
Depolama Sıc
0                                     -0,20250  0,05424   -3,73  0,000
Depolama Sür*Paketleme
 0           Aerobik                  -1,02750  0,09273  -11,08  0,000
 2           Aerobik                    0,5350   0,1146    4,67  0,000
 4           Aerobik                    0,1725   0,1095    1,58  0,119
 8           Aerobik                    0,4725   0,1095    4,31  0,000
Depolama Sür*Depolama Sıc
 0           0                          0,20250  0,09273    2,18  0,032
 2           0                         -0,2350   0,1146   -2,05  0,043
 4           0                          0,4025   0,1095    3,68  0,000
 8           0                         -0,1975   0,1095   -1,80  0,075
Paketleme*Depolama Sıc
Aerobik   0                            0,16750  0,05424    3,09  0,003
Depolama Sür*Paketleme*Depolama Sıc
 0           Aerobik   0              -0,16750  0,09273   -1,81  0,074
 2           Aerobik   0               -0,6050   0,1146   -5,28  0,000
 4           Aerobik   0                0,1325   0,1095    1,21  0,230
 8           Aerobik   0                0,4325   0,1095    3,95  0,000

Unusual Observations for Kötü Koku

Obs  Kötü Koku      Fit   SE Fit  Residual  St Resid
 65    5,00000  3,80000  0,24564   1,20000      2,44 R
 82    0,00000  2,00000  0,24564  -2,00000     -4,07 R
 84    3,00000  2,00000  0,24564   1,00000      2,04 R
 85    3,00000  2,00000  0,24564   1,00000      2,04 R
 90    0,00000  1,80000  0,24564  -1,80000     -3,66 R
 91    3,00000  1,80000  0,24564   1,20000      2,44 R
 92    3,00000  1,80000  0,24564   1,20000      2,44 R
156    2,00000  0,60000  0,24564   1,40000      2,85 R
177    5,00000  4,00000  0,27464   1,00000      2,10 R
178    3,00000  4,00000  0,27464  -1,00000     -2,10 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence
Depolama
Süresi
(Gün)      N      Mean  Grouping
10        18   4,12500  A
 8        20   3,10000    B
 4        20   3,10000    B
 2        18   1,56250      C
 0        32  -0,00000        D

Means that do not share a letter are significantly different.

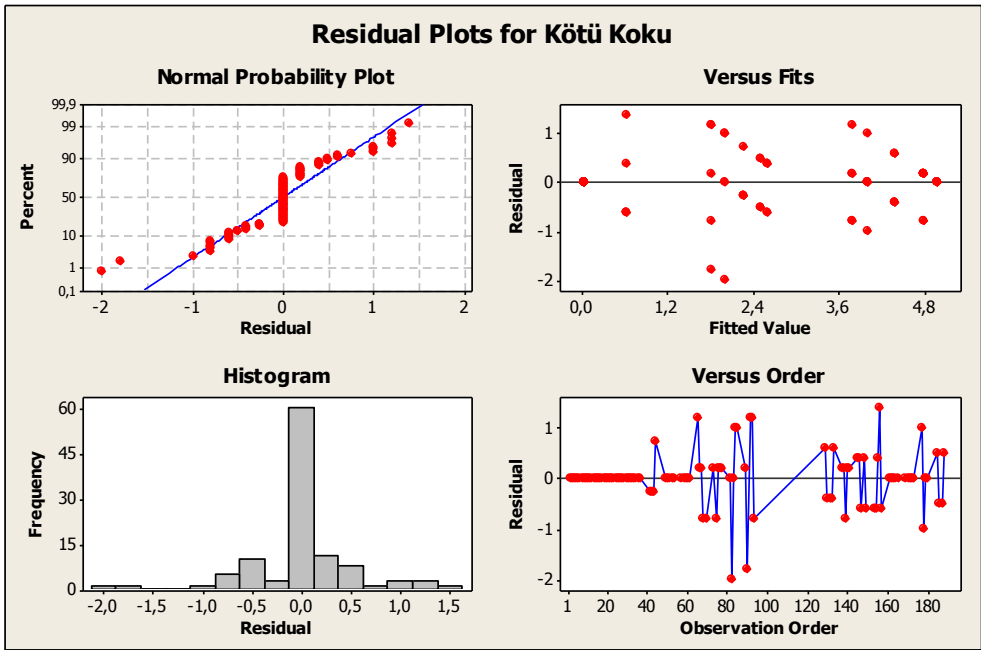
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence
```

```
Paketleme    N     Mean  Grouping
Aerobik     54  3,40500  A
Vakum       54  1,35000    B

Means that do not share a letter are significantly different.
Grouping Information Using Tukey Method and 95,0% Confidence

Depolama
Sıcaklığı    N     Mean  Grouping
4           54  2,58000  A
0           54  2,17500    B

Means that do not share a letter are significantly different.
```



Şekil A.2.6: Duyusal kötü koku oluşumuna ait kalıntı grafikleri.