



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



[Doktora Tezi]

**[DENİZ MARULUNDAN (*Ulva lactuca* Linnaeus, 1753) ELDE
EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ]**

[Yasin ORHAN]

[Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı]

[Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Programı]

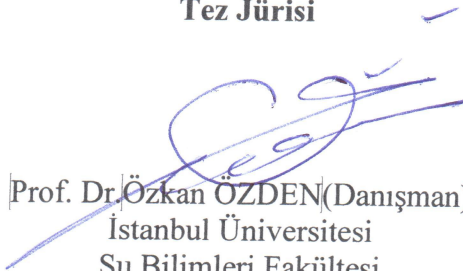
**DANIŞMAN
[Prof. Dr.Özkan ÖZDEN]**

[Kasım, 2019]

İSTANBUL

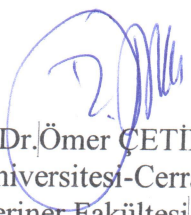
Bu çalışma, 18.11.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Jürisi


Prof. Dr. Özkan ÖZDEN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi


Prof. Dr. Sühendan MOL TOKAY
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi


Prof. Dr. Candan VARLIK
İstanbul Aydın Üniversitesi
Güzel Sanatlar Fakültesi


Prof. Dr. Ömer CETİN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi


Doç. Dr. Nermin BERİK
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

[Bu tez, 2170342 numaralı TÜBİTAK projesi olarak desteklenmiştir.]

ÖNSÖZ

Bütün çalışmalarım boyunca her zaman benden değerli bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, mesai mefhumu gözetmeksizin her zaman yardımcı olarak yanımda duran ve bu çalışmamda büyük emekleri olan pek değerli danışman hocam Prof. Dr. Özkan ÖZDEN'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmalarım boyunca her zaman yardımcı olup beni yalnız bırakmayan başta çok kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Şehnaz Yasemin TOSUN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Remziye Eda YARDIMCI'ya, Dr. Öğr. Üyesi Didem ÜÇOK ALAKAVUK'a, Arş. Gör. İdil CAN'a ve tüm İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı akademik kadrosuna en içten dileklerle teşekkür ederim.

Aynı zamanda hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen sevgili aileme şükranlarımı sunarım.

Bu projeyi maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a ve gerçekleştirme imkânı bulduğum İstanbul Üniversitesi'ne ve bünyesinde bulunmakta olan Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı ve Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı birimlerine teşekkürü borç bilirim. |

Kasım 2019

[Yasin ORHAN]

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xvi
ÖZET	xviii
SUMMARY	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. ALGLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ VE SINIFLANDIRILMASI:	4
2.1.1. Yeşil Algler (Chlorophyceae).....	5
2.1.2. Yeşil Alglerde ve <i>Ulva lactuca</i> 'da Üreme	5
2.1.3. <i>Ulva lactuca</i> 'nın Genel Botanik Özellikleri.....	7
2.1.4. <i>Ulva lactuca</i> 'nın Taksonomik Sınıflandırılması	9
2.1.5. <i>Ulva lactuca</i> 'nın Türkiye ve Dünyadaki Dağılımı	9
2.1.6. <i>Ulva lactuca</i> 'nın Kimyasal İçeriği	11
2.2. ANTİOKSİDANLAR	12
2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması ve Etki Mekanizması	12
2.2.1.1. Serbest Radikaller ile Kompleks Oluşturan Antioksidantlar	12
2.2.1.2. İndirgen Özellik Gösterenler: Bağlayıcılar	13
2.2.1.3. Şelat Ajanları, (Chelating), (Sequesterants)	13
2.2.1.4. İkincil (Sekonder) Antioksidanlar	13
2.2.1.5. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	13
2.3. FENOLİK BİLEŞİKLER (POLİFENOLLER).....	15
2.3.1. Flavonoidler.....	16
2.3.2. Fenolik Asitler	16
2.4. GIDALARDAKİ OKSİDATİF BOZULMALAR.....	16
2.4.1. Yağlardaki Oksidatif Bozulmalar.....	18
2.4.2. Karbonhidratlarda Oksidatif Bozulmalar	19
2.4.3. Proteinlerdeki Oksidatif Bozulmalar	20
2.5. GIDALARDA KULLANILMAKTA OLAN BAZI SENTETİK KORUYUCU (ANTİMİKROBİYAL) MADDELER	20

2.5.1.	Sodyum Benzoat.....	20
2.5.2.	Nitrat ve Nitritler	21
2.6.	ANTİMİKROBİYAL MADDELERİN MİKROORGANİZMA ÜZERİNDEKİ ETKİ MEKANİZMALARI	22
2.6.1.	Enzimlerin İnhibisyonu	22
2.6.2.	Genetik Sistemin Etkilenmesi:	22
2.6.3.	Hücre Çeperi ve Membrana Etkisi	23
2.6.4.	Esansiyel Besleyici Ögelere Bağlanma	23
2.7.	ET GRUBU GIDALARDA MİKROBİYAL EKOLOJİ.....	23
2.7.1.	Gıdalarda Mikrobiyal Bozulma ve Zehirlenmeler.....	25
2.8.	GIDA KAYNAKLI BAKTERİYAL PATOJENLER	26
2.8.1.	Staphylococcus aureus.....	26
2.8.2.	Bacillus Cereus	26
2.8.3.	Salmonella spp.....	27
2.8.4.	Clostridium perfringens	28
2.8.5.	Listeria monocytogenes	28
2.8.6.	Campylobacter jejuni.....	29
2.8.7.	Escherichia coli O157:H7	30
3.	MALZEME VE YÖNTEM.....	32
3.1.	MALZEME	32
3.1.1.	Ekstraksiyon Denemeleri için Ulva lactuca Toplanması ve İşlenmesi	32
3.1.2.	Bakteriyel Suşlar	35
3.1.3.	Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	36
3.1.4.	Alglerin Temin Edilmesi	37
3.1.5.	Ekstraksiyon İşlemi	39
3.1.6.	Disklerin Hazırlanması	44
3.1.7.	Ançüez.....	45
3.1.7.1.	Ançüez için Malzemelerin Tedarik Edilmesi ve Ön Hazırlık İşlemleri	45
3.1.7.2.	Kuru Tuzlama Aşaması	48
3.1.7.3.	Ançüez (Ançüez Ezmesi) Üretim Aşaması.....	49
3.1.8.	Salam	51
3.1.8.1.	Salam için Malzemelerin Tedarik Edilmesi ve Ön Hazırlık İşlemleri.....	51
3.1.8.2.	Salam Üretim Aşaması	53
3.2.	YÖNTEM.....	60
3.2.1.	Disk Difüzyon Yöntemi	60

3.2.2.	Mikrobiyolojik Analizler.....	63
3.2.2.1.	<i>Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı</i>	64
3.2.2.2.	<i>Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı</i>	64
3.2.2.3.	<i>Maya-Küf Sayımı</i>	64
3.2.2.4.	<i>Staphylococcus aureus Sayımı</i>	64
3.2.2.5.	<i>Bacillus cereus Sayımı</i>	64
3.2.2.6.	<i>Clostridium perfringens Sayımı</i>	65
3.2.2.7.	<i>Salmonella spp. Aranması</i>	65
3.2.2.8.	<i>Listeria monocytogenes Aranması</i>	65
3.2.2.9.	<i>Termotolerant Campylobacter Sayımı</i>	66
3.2.2.10.	<i>Escherichia coli O157 H:7 Aranması</i>	66
3.2.3.	Duyusal Analizler	66
3.2.4.	Kimyasal Analizler	68
3.2.4.1.	<i>Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini</i>	68
3.2.4.2.	<i>Tiyobarbitürik Asit-reaktif Maddeleri (TBARS) Tayini</i>	69
3.2.4.3.	<i>pH Analizi</i>	70
3.2.4.4.	<i>Tuz Analizi</i>	70
3.2.4.5.	<i>Toplam Fenolik Madde Tayini</i>	71
3.2.4.6.	<i>DPPH Serbest Radikalini İndirgeme Aktivitesi</i>	72
3.2.5.	İstatistiksel Analizler	72
4.	BULGULAR.....	73
4.1.	DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI	73
4.1.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	73
4.1.2.	<i>Bacillus cereus</i>	75
4.1.3.	<i>Listeria monocytogenes</i>	77
4.1.4.	<i>Clostridium perfringens</i>	79
4.1.5.	<i>Salmonella typhimurium</i>	80
4.1.6.	<i>Campylobacter jejuni</i>	82
4.1.7.	<i>E. coli O157:H7</i>	84
4.2.	TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARININ BELİRLENMESİ.....	86
4.3.	DPPH SERBEST RADİKALİNİ İNDİRGEME AKTİVİTESİ.....	87
4.4.	ANÇÜEZE AİT BULGULAR	88
4.4.1.	Kimyasal Analiz Bulguları	88
4.4.1.1.	<i>Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analiz Bulguları</i>	88

4.4.1.2.	<i>Tiyobarbitürük Asit Reaktif Maddeleri (TBA) Bulguları</i>	89
4.4.1.3.	<i>pH Analizi Bulguları</i>	91
4.4.1.4.	<i>Tuz Analizi Bulguları</i>	92
4.4.2.	Mikrobiyolojik Analiz Bulguları	93
4.4.2.1.	<i>Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı</i>	93
4.4.2.2.	<i>Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı</i>	94
4.4.2.3.	<i>Staphylococcus aureus Sayımı</i>	96
4.4.2.4.	<i>Bacillus cereus Sayımı</i>	97
4.4.2.5.	<i>Clostridium perfringens Sayımı</i>	98
4.4.2.6.	<i>Toplam Maya-Küf Sayımı</i>	98
4.4.3.	Duyusal Analiz Bulguları	99
4.5.	SALAMA AİT BULGULAR	101
4.5.1.	Kimyasal Analiz Bulguları	101
4.5.1.1.	<i>Tiyobarbitürük Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Bulguları</i>	101
4.5.1.2.	<i>pH Analizi Bulguları</i>	102
4.5.2.	Mikrobiyolojik Bulgular	103
4.5.2.1.	<i>Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı</i>	103
4.5.2.2.	<i>Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı</i>	105
4.5.2.3.	<i>Staphylococcus aureus Sayımı</i>	106
4.5.2.4.	<i>Bacillus cereus Sayımı</i>	108
4.5.2.5.	<i>Clostridium perfringens Sayımı</i>	109
4.5.2.6.	<i>Toplam Maya-Küf Sayımı</i>	109
4.5.3.	Duyusal Analiz Bulguları	111
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	113
5.1.	ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI	113
5.2.	DPPH SERBEST RADİKAL GİDERİM AKTİVİTESİ SONUÇLARI	116
5.3.	TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MADDE TAYİNİ SONUÇLARI	117
5.4.	ANÇÜEZE İLİŞKİN SONUÇLAR	119
5.4.1.	Mikrobiyolojik Sonuçlar	119
5.4.1.1.	<i>Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı</i>	119
5.4.1.2.	<i>Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı</i>	121
5.4.1.3.	<i>Staphylococcus aureus Sayımı</i>	122
5.4.1.4.	<i>Bacillus cereus Sayımı</i>	123
5.4.1.5.	<i>Clostridium perfringes Sayımı</i>	123

5.4.1.6.	<i>Toplam Maya Küf Sayımı</i>	124
5.4.2.	Kimyasal Analiz Sonuçları.....	126
5.4.2.1.	<i>Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analizi Sonuçları</i>	126
5.4.2.2.	<i>Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Sonuçları</i>	129
5.4.2.3.	<i>pH Analizi Sonuçları</i>	131
5.4.3.	Duyusal Analiz Sonuçları.....	133
5.5.	SALAMA İLİŞKİN SONUÇLAR	134
5.5.1.	Mikrobiyolojik Sonuçlar	134
5.5.1.1.	<i>Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı</i>	134
5.5.1.2.	<i>Toplam Mezofilik Anaerob Bakteri Sayımı</i>	136
5.5.1.3.	<i>Staphylococcus aureus Sayımı</i>	137
5.5.1.4.	<i>Bacillus cereus Sayımı</i>	139
5.5.1.5.	<i>Clostridium perfringens Sayımı</i>	139
5.5.1.6.	<i>Toplam Maya-Küf Sayımı</i>	139
5.5.2.	Kimyasal Analiz Sonuçları.....	141
5.5.2.1.	<i>Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Sonuçları</i>	141
5.5.2.2.	<i>pH Sonuçları</i>	143
5.5.3.	Duyusal Analiz Sonuçları.....	144
5.6.	SONUÇ	146
	ÖZGEÇMİŞ	162

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>Ulva lactuca</i> 'ya ait yaşam döngüsü (Cronodon, 2019).	6
Şekil 2.2: <i>Ulva lactuca</i> 'ya ait kısımlar (Cronodon, 2019).	7
Şekil 2.3: <i>U. lactuca</i> 'ya ait kloroplast içeren kramotoforlar'ı gösteren temsili bir resim ve mikroskop altından bir fotoğraf (Fernandez, 2009; Cronodon, 2019).	8
Şekil 2.4: <i>Ulva lactuca</i> 'ya ait bir görünüm.	8
Şekil 2.5: <i>Ulva lactuca</i> 'nın dünyadaki dağılım haritası (Özden ve diğ., 2019).	10
Şekil 2.6: Ülkemiz denizlerinde <i>U. lactuca</i> dağılım haritası (Aquamaps, 2019).	10
Şekil 2.7: Serbest radikalle bağlanan antioksidanların kompleks oluşturması (ROOH: Hidroperoksit).	14
Şekil 2.8: Antioksidan radikallerinin kendi aralarındaki tepkimesi.	14
Şekil 2.9: Serbest radikal ile antioksidan radikali tepkimesi.	14
Şekil 2.10: Metallerle şelat oluşumu.	14
Şekil 2.11: Yağ oksidasyonunun aşamaları (Gür ve Altuğ, 2009).	17
Şekil 3.1: Ön deneme çalışmaları için Marmara Denizi'nden toplanan <i>U. lactuca</i> 'lar.	33
Şekil 3.2: Kurutulup vakumlanan <i>U. lactuca</i> 'lar.	34
Şekil 3.3: İlk deneme çalışmaları; Solvent ile ekstraksiyon işlemi (Aralıksız 48 saat 35 RPM).	34
Şekil 3.4: Ana çalışma öncesi ilk saf ekstraktın evaporatörde elde edilmesi.	34
Şekil 3.5: Elde edilen ekstraktların folyolanarak -18°C'de depolanmasından önce.	35
Şekil 3.6: Bakteri suşlarına ait görünüm.	36
Şekil 3.7: <i>Ulva lactuca</i> 'lara ait ambalaj görüntüleri ve HACCP, Bitki Sağlık Sertifikası.	37
Şekil 3.8: Vakum cihazı ve deniz marullarının vakum ambalajlanması sonrası görünümü.	38
Şekil 3.9: Vakum ambalajlanan deniz marullarının soğuk hava deposunda stoklanması.	38
Şekil 3.10: Ultra-Turrax işlemi ve sonrasına ait görünüm.	39

Şekil 3.11: Ekstraksiyon sıvısına ultrasonik işlem uygulanmasına ait görünümler.....	39
Şekil 3.12: Ekstraksiyon sıvısına otomatik karıştırma işlemi uygulanması.....	40
Şekil 3.13: Vakum filtrasyonda kullanılan filtre kâğıdı tipi.	40
Şekil 3.14: Ekstraksiyon sıvısının vakum filtre cihazıyla filtre edilmesi.	41
Şekil 3.15: Ekstrakttaki çözgen maddelerin buharlaştırılarak uzaklaştırılması işlemi.	41
Şekil 3.16: Solventlerin buharlaştırılması sonucu elde edilen <i>U. lactuca</i> ekstraktına ait görünümler.	42
Şekil 3.17: Ekstraktların folyo ile sarılarak derin dondurucuda (-28°C) muhafaza edilmesi.....	43
Şekil 3.18: Ekstraksiyon işlemi iş akış şeması.....	43
Şekil 3.19: Steril disklere ekstraktın yüklenmesine ait çalışmadan bir görünüm.	44
Şekil 3.20: Çalışmada kullanılan antibiyotik ve blank diskler.....	45
Şekil 3.21: Tedarik edilen balıklar ve ayıklanmış hallerine ait görünüm.	46
Şekil 3.22: Ekstraktın konsantrasyonunun ayarlanması.	47
Şekil 3.23: Sardalya balıklarına kuru tuzlama işleminin uygulanması.	48
Şekil 3.24: Ançüezde kullanılmak üzere <i>Ulva lactuca</i> ekstraktı ve sodyum benzoat.	49
Şekil 3.25: Kavanozlama öncesi ve sonrası ançüezler.....	50
Şekil 3.26: Kavanozlanmış algli ve sentetik katkılı ançüezler.....	50
Şekil 3.27: Ürünlerin soğuk hava deposunda analiz gününe kadar muhafaza edilmesi.	51
Şekil 3.28: Tedarik edilen tavuk etleri.	52
Şekil 3.29: Salam dolusunda ve paketlenmesinde kullanılan ambalaj malzemeleri.	52
Şekil 3.30: Nitritli tuz ve <i>U. lactuca</i> aseton ekstraktının hazırlanması.....	53
Şekil 3.31: Kuşbaşı doğranan etler.....	54
Şekil 3.32: Ürüne ilave edilen yaprak buzlar.	54
Şekil 3.33: Sentetik katkılı (solda) ve algli salam gruplarına ait salam hamurları.	55
Şekil 3.34: Pişirme işlemi öncesi kılıflara dolumları yapılmış salamlar.....	55
Şekil 3.35: Salamlara ısıtılma işleminin uygulandığı otoklav.....	56

Şekil 3.36: Pişirilmiş salam gruplarının soğutma işlemi uygulanması ve iç yapısı.	56
Şekil 3.37: Vakumlanma öncesi dilimlenmiş Sentetik katkılı(solda) ve Algli salamalar.....	57
Şekil 3.38: Ürünlerin vakum paketlenmesi.	57
Şekil 3.39: Vakum ambalajlanmış ürünlerin soğuk hava deposunda muhafaza edilmesi.....	58
Şekil 3.40: Vakum ambalaj poşetlerine ait teknik özellikler.	59
Şekil 3.41: McFarland 0,5'e ayarlama aşaması.	61
Şekil 3.42: Disklerin petrilere yerleşimi.	61
Şekil 3.43: Çalışmada kullanılan etüvler; karbondioksitli inkübatör (soldaki).	62
Şekil 3.44: Ölçülecek inhibisyon çapını gösteren fotoğraf.	63
Şekil 3.45: Çalışmada kullanılan duyuşal değerlendirme formları.	67
Şekil 3.46: Küvetteki ekstrakt içeren solüsyonların spektrofotometrede ölçümleri.	71
Şekil 3.47: DPPH reaktifi ve spektrofotometrik ölçüm öncesi küvetlerdeki ekstraktlar.	72
Şekil 4.1: Test petrilерinin sunum sırası.....	73
Şekil 4.2: <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı oluşun inhibisyon zonları.	74
Şekil 4.3: Ulva aseton ekstraktının <i>B. cereus</i> 'a karşı oluşturduğu zon (yakın görünüm).	75
Şekil 4.4: <i>B. cereus</i> 'a karşı oluşun inhibisyon zonları.	76
Şekil 4.5: <i>L. monocytogenes</i> 'e karşı oluşun inhibisyon zonları.	78
Şekil 4.6: <i>C. perfringens</i> üzerinde yapılan duyarlılık testi çalışmaları.	79
Şekil 4.7: <i>S. typhimurium</i> 'a karşı oluşun inhibisyon zonları.....	81
Şekil 4.8: <i>C. jejuni</i> 'niye karşı oluşun inhibisyon zonları.	83
Şekil 4.9: <i>E. coli</i> O157:H7'ye karşı oluşun inhibisyon zonları.	85
Şekil 4.10: Toplam fenolik madde analizi sonuç grafiği.	87
Şekil 4.11: Ekstraktlara ait DPPH analiz sonuçları grafiği.	88
Şekil 4.12: Ançüez TVB-N sonuçları grafiği.....	89
Şekil 4.13: Hammadde ve ançüez TBA sonuçları grafiği.	90
Şekil 4.14: Ançüez gruplarındaki haftalık pH değişimleri.	92

Şekil 4.15: Ançüez ve hammaddede tuz tayini sonuçları.	93
Şekil 4.16: Sardalya fileto ve ançüezlerde psikrofilik bakteri yükü değişimleri.	94
Şekil 4.17: Sardalya fileto ve ançüezlerde toplam mezofilik anaerobik bakteri yükü değişimleri.	95
Şekil 4.18: Sardalya fileto ve ançüezlerde <i>S. aureus</i> bakteri yükü değişimleri.	97
Şekil 4.19: Sardalya fileto ve ançüezlerde <i>B. cereus</i> bakteri yükü durumları.	97
Şekil 4.20: Sardalya fileto ve ançüezlerde <i>C. perfringens</i> bakteri yükü durumları.	98
Şekil 4.21: Sardalya fileto ve ançüezlerde toplam maya küf yükü değişimleri.	99
Şekil 4.22: Ançüez gruplarının genel duyuşal değerlendirmesi.	100
Şekil 4.23: Hammadde ve salamlarda TBARS değişim grafiği.	102
Şekil 4.24: Hammaddede ve analiz günlerindeki salamlarda pH değişim grafiği.	103
Şekil 4.25: Salamlarda toplam psikrofil bakteri yükü değişimleri.	105
Şekil 4.26: Hammadde ve salamlarda toplam anaerobik bakteri yükü değişimleri.	106
Şekil 4.27: Hammadde ve salamlarda <i>S. aureus</i> yükü değişimleri.	107
Şekil 4.28: Hammadde ve salamlarda <i>B. cereus</i> bakteri yükü tespitleri.	108
Şekil 4.29: Hammadde ve salamlarda <i>Clostridium perfringens</i> bakteri yükü tespitleri.	109
Şekil 4.30: Hammadde ve salamlarda maya-küf yükü tespitleri.	111
Şekil 4.31: Salam gruplarının genel duyuşal değerlendirmesi.	112
Şekil 5.1: Ançüez ambalajlarında görsel olarak tespit edilen küfler.	125

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>Ulva lactuca</i> 'ya ait taksonomik sınıflandırma (Itis 2019).	9
Tablo 2.2: Fenolik bileşiklerin sınıflandırması ve yaygın örnekleri (Meral ve diğ. 2012).....	15
Tablo 3.1: Beş farklı ekstraktın evaporasyon işleminde tabi tutuldukları sıcaklıklar.	42
Tablo 3.2: Ançüez gruplarına ait formülasyonlar.....	47
Tablo 3.3: Sentetik ve algli salam gruplarında kullanılan formülasyonlar.....	54
Tablo 3.4: Çalışmada kullanılan ön zenginleştirme ve test besiyerleri ve bakteri sınıflandırmaları.	60
Tablo 3.5: Mikroorganizmalara uygulanan inkübasyon sıcaklıkları.	62
Tablo 3.6: Duyusal değerlendirme skalası.	67
Tablo 4.1: <i>S. aureus</i> 'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).	73
Tablo 4.2: <i>B. cereus</i> 'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).	75
Tablo 4.3: <i>L. monocytogenes</i> 'in ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).	77
Tablo 4.4: <i>S. typhimurium</i> 'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).	80
Tablo 4.5: <i>C. jejuni</i> 'nin ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon çapları (mm).	82
Tablo 4.6: <i>E. coli</i> O157:H7'nin ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).	84
Tablo 4.7: Bakterilerin ekstraktlara karşı oluşturdukları inhibisyon zonları (mm).	86
Tablo 4.8: <i>Ulva lactuca</i> ekstraktlarına ait toplam fenolik madde analizi sonuçları.	86
Tablo 4.9: <i>Ulva lactuca</i> ekstraktlarına ait antioksidan aktivite tayini sonuçları.	87
Tablo 4.10: Ançüez TVB-N analiz sonuçları tablosu.....	88
Tablo 4.11: Ançüez TBA analiz sonuçları tablosu.....	90
Tablo 4.12: Ançüez pH analiz sonuçları tablosu.....	91
Tablo 4.13: Ançüez ve hammaddede tespit edilen tuz oranları.....	92

Tablo 4.14: Ançüezde kategori bazında duyuşal değerlendirmeler.....	100
Tablo 4.15: Salamlarda ölçümlenen TBARS değerleri tablosu.....	101
Tablo 4.16: Salamlarda pH değişim tablosu.....	102
Tablo 4.17: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki toplam psicrofil bakteri yükleri.....	104
Tablo 4.18: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki toplam anaerobik bakteri yükleri.	105
Tablo 4.19: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki <i>S. aureus</i> yükleri.....	107
Tablo 4.20: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki maya-küf sayımı sonuçları.	110
Tablo 4.21: Salam gruplarında duyuşal değişimlerin izlenmesi.....	112
Tablo 5.1: Balıklarda TVB-N verilerinin değerlendirilmesi (Varlık ve diğ.1993).....	127

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
m²	: Metrekare
cc	: Kübik santimetre
log kob (cfu)	: Logaritma koloni oluşturan birim
%	: Yüzde
<	: Küçüktür
≤	: Küçük eşittir
>	: Büyüktür
°C	: Santigrat derece
±	: Tolerans

Kısaltmalar	Açıklama
BHA	: Bütil Hidroksi Anisol
BHT	: Butil Hidroksi Toluen
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DPPH	: 1.1-difenil-2-pikrilhidrazil
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HACCP	: Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları
MDA	: Malondialdehit
MeOH	: Metanol
MHA	: Mueller Hinton Agar
N₂	: Azot Gazı

NaCl	: Sodyum Klorür
ND	: Not Detected
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı
SD	: Standart Sapma
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TEAC	: Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TEP	: Malondialdehyde bis (diethylacetal
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSA+Y	: Tryptic Soy Agar % 0.6 Yeast Extract
TSC	: Tryptose Sulfite Cycloserine Agar
TVB-N	: Toplam Uçucu Bazik Azot
p<	: İstatistik değer (Önemli)
p>	: İstatistik değer (Önemsiz)
w/v	: Ağırlık/Hacim

ÖZET

DOKTORA TEZİ

DENİZ MARULUNDAN (*Ulva lactuca* Linnaeus, 1753) ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Yasin ORHAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahççılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Özkan ÖZDEN

Sentetik antioksidan ve antibakteriyal gıda katkı maddeleri, endüstrinin gelişmesi ve artan nüfus nedeniyle ürünün tüketiciye güvenli ve en iyi kalitede ulaştırabilmesi için vazgeçilmezdir. Bu sentetik katkıların salam gibi işlenmiş etlerde kullanılmasından dolayı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve birçok araştırmacı işlenmiş et ürünleri tüketiminin kansere yol açtığını bildirmiştir.

Bu çalışmada, aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanılarak yeşil bir makroalg türü olan *Ulva lactuca*'dan ekstraktlar üretilip bunların in vitro koşullarda göstermiş olduğu antibakteriyal ve antioksidan özellikler yapılan analizlerle tespit edilmiştir. Optimum sonucu veren ekstrakt türü tespit edilerek, bunun işlenmiş et ürünlerinden salamda ve ançüezde sentetik katkı maddesi olarak kullanılan nitrit ve sodyum benzoat yerine kullanım olanağı araştırılmıştır. Ürünler, sentetik katkı maddesi ve *U. lactuca* ekstraktı içerecek şekilde iki ayrı grupta analiz süreçlerine alınmıştır. Analiz süreleri boyunca her iki gruba ait ürünler $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

Gerçekleştirilen antimikrobiyal duyarlılık testleri ve kimyasal analizler neticesinde *U. lactuca* aseton ekstraktının en etkin antibakteriyal aktiviteye ve fenolik içeriğe sahip ekstrakt türü olduğu bulunmuştur. En yüksek antioksidan aktivite *U. lactuca* petrol eter ekstraktında saptanmıştır. Ürün çalışmalarında ise en etkin antibakteriyal aktivitenin tespit edildiği *U. lactuca* aseton ekstraktının kullanımı tercih edilmiştir.

Ürün çalışmalarında ise *U. lactuca* ekstraktının ançüez ve salamda toplam psikrofil bakteri ve maya küf sayısını inhibe edici bir etkisi saptanmamıştır, fakat *U. lactuca* ekstraktından in vitro koşullarda *S. aureus*'a karşı elde edilen antibakteriyal etkinin ürün olarak ançüez ve salamlarda da kendini gösterdiği tespit edilmiştir.

Bununla beraber, salam ve ançüezde TBA değerini düşürme ve TVB-N değerindeki artışı baskılamadaki etkin performansı dikkate alındığında, bu kriterlerin bir kalite parametresi olarak kullanıldığı ürünlerde, *U. lactuca* ekstraktının ürün terkiibinde yer almasının avantaj sağlayabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca, göstermiş olduğu antimikrobiyal etki ile bilhassa, dünyada en çok rastlanan gıda zehirlenme vakalarında ilk sıralarda yer alan Stafilokokal intoksikasyonlara karşı özellikle hazır gıda endüstrisinde kullanım potansiyeli bulunurken, sadece in vitro koşullardaki etkinliği değerlendirildiğinde diğer gıda patojenlerinden olan *B. cereus* ve *C. jejuni*'ye karşı da kullanım imkânı bulunmaktadır. |

[Kasım 2019], |183| sayfa.

Anahtar kelimeler: | *Ulva lactuca*, antimikrobiyal, antioksidan, salam, ançüez. |

SUMMARY

[Ph.D. THESIS]

[INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF EXTRACTS OBTAINED FROM SEA LETTUCE (*Ulva lactuca* Linnaeus, 1753)]

[Yasin ORHAN]

Istanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

[Department of Fisheries and Seafood Processing Technology]

Supervisor : [Prof. Dr.Özkan ÖZDEN]

Synthetic antioxidants and antibacterial food additives are indispensable for delivering the product to the consumer safely and in the best quality due to the development of the industry and the growing population. Because of the use of these synthetic additives in processed meats such as salami, the World Health Organization (WHO) and many researchers have reported that consumption of processed meat products causes cancer.

In this study, different extracts were produced from a green macroalgae species *Ulva lactuca*, using acetone, diethyl ether, ethanol, ethyl acetate and petroleum ether and their antibacterial and antioxidant properties were determined by microbiological and chemical analyzes. The extract type which gave optimum results was selected and the possibility of using this extract instead of nitrite and sodium benzoate, which are used as synthetic additives in salami and anchovy paste from processed meat products, was investigated. The products were produced in two separate groups, including synthetic additive and *U. lactuca* extract and taken into the analysis process. Both product groups were stored at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ for the duration of the analysis.

As a result of the antimicrobial susceptibility tests and chemical analyzes performed, the highest phenolic content and antibacterial activity was detected in the *U. lactuca* acetone extract. The highest antioxidant activity was detected in *U. lactuca* petroleum ether extract. *U. lactuca* acetone extract, in which the most effective antibacterial activity was determined, was preferred in the product studies.

In the studies conducted on the product, *U. lactuca* extracts showed no antimicrobial effect against total psychrophilic aerobic bacteria and yeast-molds counts in anchovy paste and salami but, microbiologically detected under in vitro conditions antibacterial effect of *U. lactuca* extract against *S. aureus* was found to be also observed in anchovy paste and salami as product.

Considering the effective performance of *Ulva lactuca* extract by reducing TBA value in salami and anchovy paste and suppressing the increase in TVB-N value, it has been found that it can be advantageous to include *U. lactuca* extract in the product composition in products where these criteria are used as a quality parameter and with its antimicrobial effect. In addition, it has the potential to be used especially in ready-to-eat food industry against Staphylococcal intoxications, which are near the top line among the most common food poisoning cases in the world. When only the effectiveness obtained in vitro conditions evaluated there is also possibility for use against other food pathogens, *B. cereus* and *C. jejuni*.

|November 2019|,183 |pages.

Keywords: | *Ulva lactuca*, antimicrobial, antioxidant, salami, anchovy paste. |

1. GİRİŞ

Antioksidanlar ve antibakteriyel gıda katkı maddeleri, artan nüfusa, gelişen gıda işleme teknolojilerine ve genişleyen pazara paralel olarak büyüyen gıda sanayisinin, ürünü son tüketiciye en iyi kalitede ve güvenli bir şekilde sunabilmek adına artık endüstrinin vazgeçilmezi durumuna gelmiştir, maliyetler sebebiyle de sentetik gıda katkı maddeleri daha çok tercih edilmektedir. Son zamanlarda ticari sentetik antioksidan ve antibakteriyel katkı maddelerinin yan etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, BHT, BHA, ethoxyquin gibi sentetik antioksidanların karsinojenik, tümörojenik ve karaciğer hasarı gibi etkilerinden şüphelenilmektedir. Blaszczyk (2006) ethoxyquin'in DNA hasarına sebep olduğu bildirilmiştir. Tüketiciler ise sentetik koruyucu maddeleri içeren gıda maddelerini, karaciğer, DNA hasarı gibi toksik ve karsinojenik etkilerinden dolayı artık tüketmeme eğilimindedir (Zoral ve Turgay, 2014).

Gıda endüstrisinde doğal antioksidan ihtiyacı, sadece tadı ve rengi korumak için değildir, aynı zamanda raf ömrünü de güvenli bir şekilde artırmak içindir ve nütrosötik etkiler açısından kullanım tercihi de bulunmaktadır (Sarkar ve Ghosh, 2016). Gıdalarda peroksidasyonu engellemek ya da geciktirmek için antioksidanların ilavesi zorunluluk arz etmektedir ve bunun için de gıda sanayisinde sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar neticesinde ise sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkileri bilim dünyasında tartışılır hale gelmiştir ve bazı ülkeler sentetik antioksidanların kullanımına ciddi sınırlamalar ve yasaklar getirmiştir (Öğüt, 2014).

Alglerin yapılarında çeşitli biyoaktif maddeler içerdikleri ve bundan dolayı birçoğunun ilaç, tıp, kozmetik, gıda sanayisinde ticari olarak kullanıldıkları bilinmektedir. Aynı zamanda deniz algleri, doğal antioksidan ve antikarsinojenik özellikleri gibi sağlığa potansiyel olumlu etkileri ile farmakolojik olduğu kadar gıda katkı maddeleri kaynağı olarak da bilinmektedir (Lim ve diğ. 2002; Athukorala ve diğ., 2003). Doğal antioksidanlar, yüksek biyodeğerlendirilebilirliğe sahiptir ve sentetik olanlardan daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Gey, 1990). Araştırmacılar aynı zamanda yenilebilir deniz alglerinin, antioksidan, antibakteriyel, tıbbi ve farmasötik özellikleri üzerine odaklanılmıştır (Unal, 2015). Birçok patojene karşı deniz alglerinin antibakteriyel etkisi hakkındaki literatür bilgileri bu alana olan dikkatleri artırmaktadır.

Polifenolik bileşenlerce zengin olduğu bilinen alg ekstraktları, antioksidan özellikleri ve gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı olan antimikrobiyal aktiviteleri ile de bilinmektedir. Bundan dolayı alglerin gıdalara antioksidan ve antibakteriyal madde olarak ilavesi mümkün olabilmektedir. Alglerin veya ekstraktlarının gıdalara katılması, gıdalarda sentetik koruyucu kullanımını azaltacağı düşünülmektedir (Unal, 2015).

Son yıllarda makroalgler konusu üzerinde, antioksidan, antibakteriyal, antiviral, antitümörük, antimikotik, antihelmintik ve antiinflamatuvar özellikleri gibi biyolojik aktiviteleri konusunda yapılmış birçok raporlar bulunmaktadır. Bu özellikler alglerin yapısında bulunmakta olan terpenler, steroller, tanenler, flavonoidler ve fenolik gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Stafford, 1991; Perry ve diğ., 1991, Harada ve diğ., 1997). Deniz algleri en zengin doğal antioksidan kaynaklarından biri olması sebebiyle doğal antioksidan arama çalışmalarının ana ilgi odağı haline gelmiştir (Samaraweera ve diğ., 2012). Ayrıca deniz alglerinin birçoğu bakterileri inhibe edici antibiyotik madde de üretebilmektedir (Pesando ve Caram, 1984). Bu bakımdan, araştırmacılar yenilebilir deniz alglerinin, antioksidan, antibakteriyal, tıbbi ve farmasötik özellikleri üzerine odaklanmışlardır (Unal, 2015).

Kuzey Amerika ve Avrupa'ya nazaran, Japonya ve Çin'de göğüs ve prostat kanserine rastlanma oranının düşük olmasının sebeplerinden biri olarak, beslenmelerinin bir parçasında alglerin tüketilmesi gösterilmektedir. Kimyasal katkıların aksine, doğal antioksidanlar ve antibakteriyaller, bitkisel orjinli olmalarından dolayı toksisite göstermeyen olarak kabul edilmiştir (Skibola, 2004).

Antioksidanlar, insan vücudunda hastalıklara ve gıdalarda bozulmaya sebep olan serbest radikallerin olumsuz etkilerini ve oluşumunu durduran veya yok eden maddeler olarak tanımlanmaktadır. DNA hasarı, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, kıkırdak hastalıkları, Alzheimer gibi hastalıklardan korunmada önemli bir rol oynamasının yanında gıda sektöründe, lipit peroksidasyonu ile ilgili olarak da kullanılmaktadır. Antioksidanlar sadece işlenmiş veya işlenmemiş gıdalarda lipit kalitesine olumlu yönde etki etmekle kalmamakta aynı zamanda gıdanın besin değerinin düşmesine de engel olmaktadır (Tariq ve diğ., 2015).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın tavsiyesi üzerine, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2015 yılında, salam, sucuk, sosis gibi işlenmiş et ürünlerinin, içerdiği birçok sentetik kimyasal katkı maddesinden dolayı tüketilmesinin kansere yol açtığını bildirmiştir. Bu tür işlenmiş et ürünlerinin 50 g'ının tüketiminin, barsak kanserine yakalanma ihtimali oranını %18 artırdığını bildirmiştir (IARC, 2015). Tüm işlenmiş et ürünlerindeki ortak özellik ise güçlü bir kanser tetikleyicisi olan nitrosaminlerin oluşmasına neden olan nitrit, nitrat gibi sentetik koruyucu katkı maddelerinin kullanılmasıdır. Nitrit ve nitratlar kansere neden olan nitrozo bileşikleri oluşturmaktadır (Çalışır ve Çalışkan, 2003).

Hawaii Üniversitesi'nde yürütülen başka bir çalışmada ise sucuk, salam, sosis gibi işlenmiş et ürünleri tüketen insanlarda pankreatik kansere yakalanma oranının, tüketmeyen veya az tüketenlere göre % 67 daha fazla olduğu bildirilmiştir (Nöthlings ve diğ., 2005). Ancak, araştırmacılar, kanser riskinin artış sebebini tam olarak tespit edememişlerdir. Bazı uzmanlar, kanser riskinin artışındaki gerçek sebebin, firmaların kullandıkları sentetik katkı maddelerinin olduğunu ve bunlardan tüm işlenmiş etlerde ortak olarak kullanılan nitritin de kanseri tetikleyen bir katkı maddesi olduğunu belirtmişlerdir. Çünkü nitritler vücuda girdiğinde, etkili bir kanser tetikleyicisi olarak bilinen nitrosaminler oluşmaktadır (Epley ve diğ., 1992).

Ülkemizde alglerin ekonomik olarak değerlendirilmesine dayalı bir sektörün mevcut olmamasına paralel olarak alglerin yetiştiriciliği, toplayıcılığı ve işlenmesi yapılmamaktadır. Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda ise *Ulva lactuca*'nın katkı maddesi olarak gıdalarda raf ömrü ve oksidasyona etkisinin incelenmesi yönünde bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada ise deniz marulundan elde edilen ekstrakt çeşitlerinden, in vitro şartlarda optimum antioksidatif ve antimikrobiyal etkiye sahip olan ekstrakt ve konsantrasyonu seçilecek ve bu ekstrakt işlenmiş et ürünlerinden olan sardalya balığından (*Sardina pilchardus*) üretilecek ançüze ve tavuk salamına uygulanarak bunlardaki raf ömrü ve oksidasyona olan etkileri, sentetik yapıdaki koruyucu ve antioksidatif özellikte gıda katkı maddelerinden olan sodyum benzoat ve nitrit içeren ançüze ve salama karşı izlenecektir.

Bu projenin amacı, endüstride geniş kullanım alanına sahip sentetik katkı maddelerine alternatif olması amaçlı, ülkemiz denizlerinde geniş yayılım alanı bulan *Ulva lactuca*'dan elde edilen farklı ekstraktların in vitro şartlarda antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinin tespit edilerek in vivo koşullarda kullanım potansiyelini araştırmaktır. |

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ALGLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ VE SINIFLANDIRILMASI:

Algler, tohumuz bitkilerin en geniş grubunu oluşturmaktadırlar ve genelinde kök, gövde ve yaprak farklılaşması bulunmamaktadır. Bu türden yapılara tallus denilmektedir. Üremede rol oynayan hücreleri ise vücut hücrelerinden gelişmektedir. Çoğunlukla su ortamında yaşamaktadırlar. Toprak üzerlerinde, nemli bölgelerdeki ağaçlarda, kar ve buz üzerlerinde de yaşadıkları bildirilmektedir. Kar ve buz üzerinde yaşayanlara 'Kryoplankton', su ortamında serbest hareket edenlere 'Fitoplankton', açık sulardakilere 'Euplankton', ağaçlarda kümelenenlere 'Tikoplankton', ışık görebilecek derinlikte yaşayanlara 'Bentik Algler', bitkiler üzerinde yaşayanlara ise 'Epifitik Algler', hayvanlar üzerinde yaşayanlara ise 'Endozoik Algler' denilmektedir. Algler limnolojik sularda ve denizlerde önemli bir besin üreticisidirler. Ayrıca algler, Japonya'da Nori gibi bugün birçok ülkede gıda olarak kullanılmaktadır (Kadıoğlu ve Kaya, 2003).

Algler pigmentlerin durumuna göre aşağıdaki gibi 3 ayrı sınıfta kategorilendirilir (Kadıoğlu ve Kaya, 2003).

1.Yeşil Pigmentliler: Yeşil algler (Chlorophyceae), Kamçılı algler (Phylagellatae)

2.Kahverengi Pigmentliler: Ateş Rengi Algler (Pyrophyceae), Silisli Algler (Diatome, Bacillariophyceae), Altın Rengi Algler (Chrysophyceae), Esmer Algler (Phaeophyceae)

3.Kırmızı Pigmentliler: Kırmızı Algler (Rhodophyceae)

Bu çalışmada yeşil pigmentli algler sınıfından olan "Chlorophyceae" sınıfı incelenecektir.

2.1.1. Yeşil Algler (Chlorophyceae)

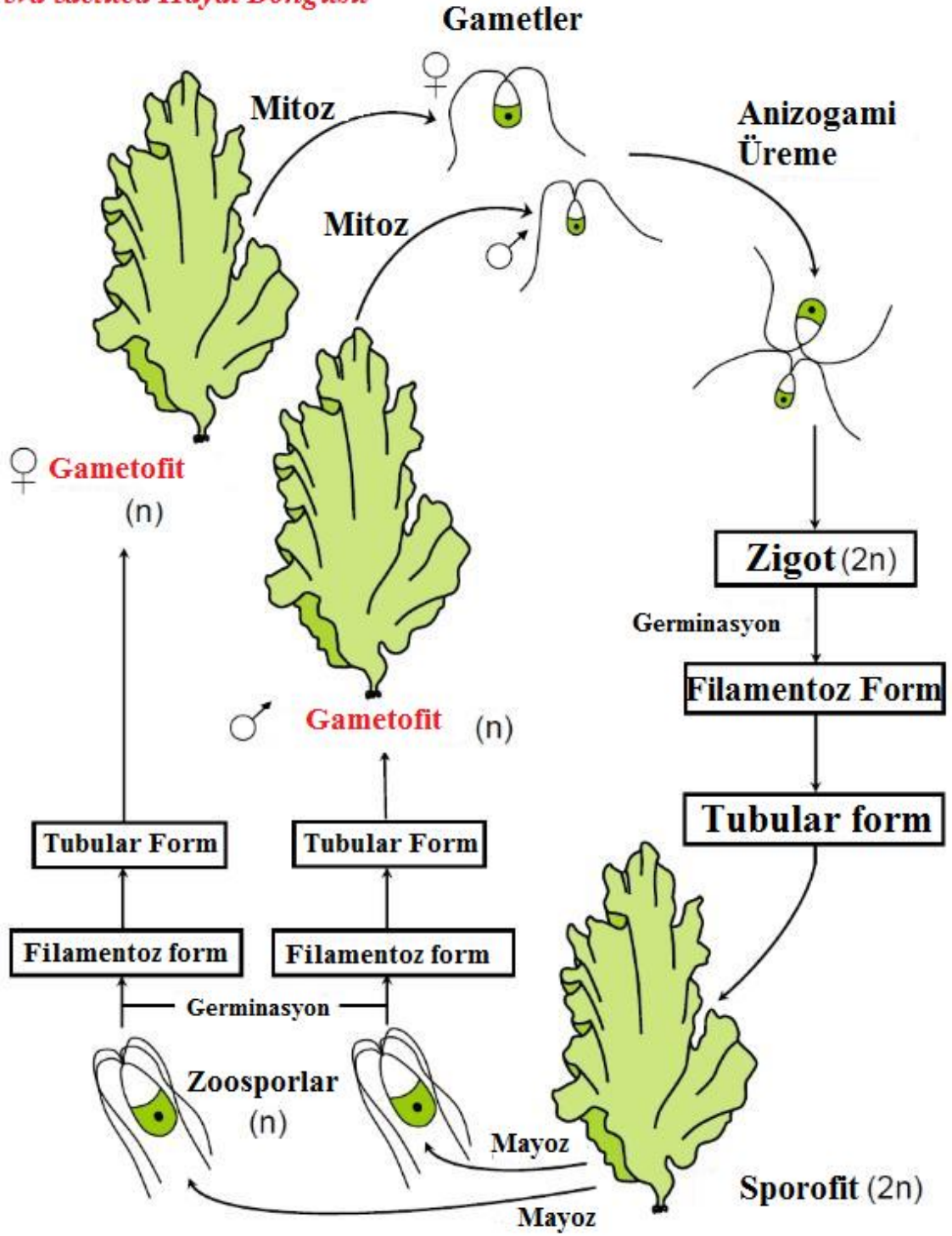
Hareketli, hareketsiz, tek veya koloni halinde yaşamaktadırlar. Tek veya çok çekirdekli dallanan, basit iplikler şeklinde veya geniş yüzeyle parankimatik yapıları mevcuttur. Kromatoforları bir veya daha çok sayıda olmaktadır. Halka şeklindeki prenooidlerin orta kısmında proein molekülleri siyah noktacıklar şeklinde bulunmaktadır. Klorofil a ve b, Karotin a ve b, Ksantofillerden lutein, neoksantin, violaksantin, zeaksantin ve benzerleri bulunmakta olup kloroplastları halka, spiral, yıldız, kadeh, disk, şerit veya ağ şeklinde gözükmektedir. Yeşil alglerde genellikle selülozik hücre çeperi bulunmaktadır. Yeşil alglerde sadece spor aşamasında kamçı ve stigmalara rastlanmaktadır ve çoğu ototroftur. Mantarlarla beraber yaşayarak likenleri oluşturmaktadırlar. Büyük çoğunluğu tatlı sularda, diğerleri ise denizlerde yaşamaktadırlar (Kadioğlu ve Kaya., 2003).

Yeşil Algler, dört alt sınıfa ayrılmaktadır ve en önemli alt sınıfını Ulothricophycidae ve Ulvales takımı oluşturur. Ulvales takımına ait en önemli iki cins *Ulva* ve *Enteromorpha*'dır (Cirik ve Cirik, 2011).

2.1.2. Yeşil Alglerde ve *Ulva lactuca*'da Üreme

Eşeysiz üreme tek hücrelilerde hücre bölünmesiyle, çok hücrelilerde ise zoospor ve aplanosporlarla gerçekleşmektedir ve sporlar metamorfoza uğramış vejetatif hücrelerden oluşmaktadır. Bu sınıf üyelerinde eşeyli üreme izogami, anizogami ve oogami ile olmaktadır. Gametlerin şekli zoosporlara benzer ve tek hücreli gamet keselerinde oluşmaktadır. Zigot genellikle kalın çeperlidir ve Kistozigot ve Hipnozigoz adı almaktadır. Tallusu iki hücre sırasından oluşmakta olan *Ulva lactuca*'da ise eşeysiz üreme dört kamçılı zoosporla olmaktadır. Eşeyli üreme ise izogami şeklinde olmaktadır. Gametler ise ayrı ayrı bitkilerce meydana getirilir, yani heterotalliktir. Eşeyli ve eşeysiz üreme birbirini izlemektedir, diğer ifadeyle döl alması görülmektedir. Vejetatif hücreler $2n$ kromozomludur. Dolayısıyla zigot mayoz bölünmeye uğramaksızın, yeni bireyi oluşturmaktadır. *Ulva lactuca*'lar diploid olarak yaşamaktadırlar (Kadioğlu ve Kaya., 2003). Genellikle, deniz yüzeyine yakın, sahillerde ışık görebilen derinliklerde kendilerine yaşam alanı bulmaktadır. *Ulva lactuca*'ya ait yaşam döngüsüne Şekil 2.1'de yer verilmiştir.

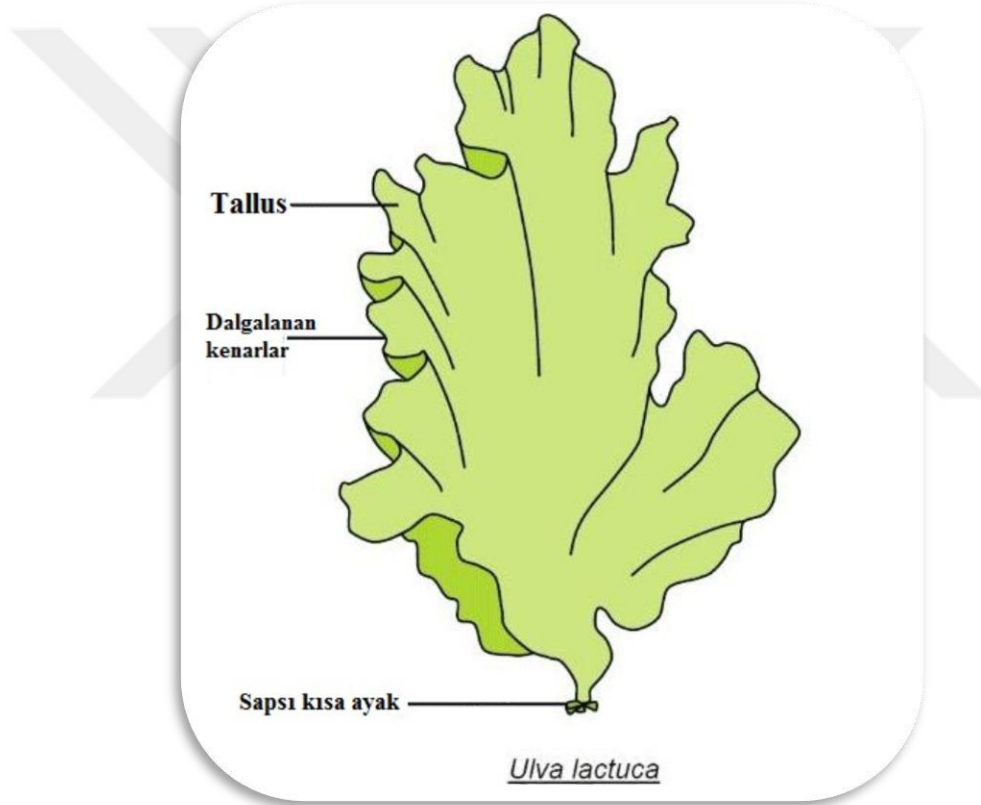
Ulva lactuca Hayat Döngüsü



Şekil 2.1: *Ulva lactuca*'ya ait yaşam döngüsü (Cronodon, 2019).

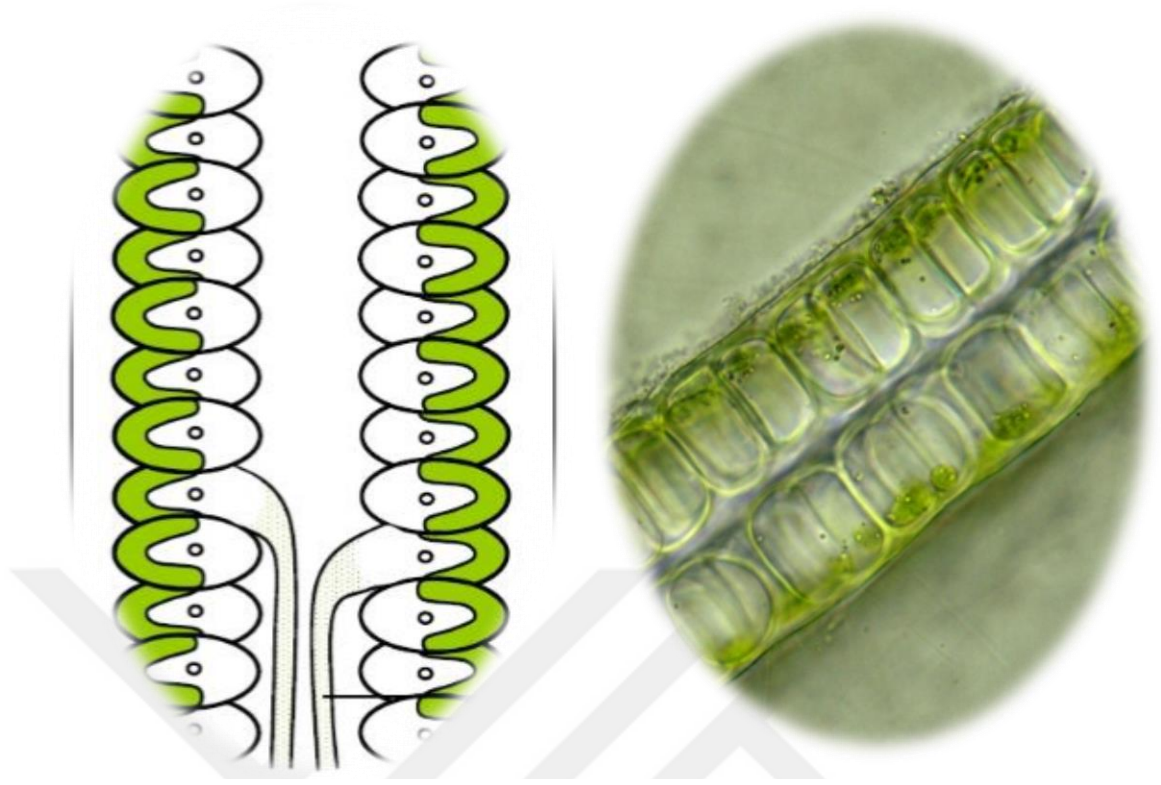
2.1.3. *Ulva lactuca*'nın Genel Botanik Özellikleri

Ulva lactuca'ya ait tallusların görünümü; el ayası genişliğinde, loblardan oluşmuş, kenarları tırtıksız, düz ve hafifçe dalgalıdır. Tallusların ince bir yapıya sahiptir. Kendini bir cisim üzerine sabitlemek amacıyla çok kısa bir iplikçiği anımsatan tutaçları bulunmaktadır. Dokusu ise naylonumsu, kaygan, parlak koyu yeşil renkte veya yeşilin daha açık tonlarını içeren özelliktedir. Bu talluslar üzerinde çoğu zaman sesil olarak midyeler yaşamaktadır. Canlı yaşlandıkça tallusları genişlemekte ve sayıları artmaktadır ve ilk halinden son haline kadar gözlemlendiğinde marulu andırmaktadır.



Şekil 2.2: *Ulva lactuca*'ya ait kısımlar (Cronodon, 2019).

Ulva lactuca'nın tallus kısmından alınan enine kesit mikroskop altında incelendiğinde karşılıklı iki sıra şeklinde hücrelerin olduğu görülmektedir. Bu vejetatif hücrelerde hilal benzeri Şekil 2.3'de gösterildiği gibi kromatoforlar bulunmaktadır. Kromatoforlar fotosentezle enerji üretim mekanizmasının gerçekleştiren organel olan kloroplastı içermektedir. Bu yapılar bu yüzden yeşil renkli gözükmektedir (Cirik ve Cirik, 2011).



Şekil 2.3: *U. lactuca*'ya ait kloroplast içeren kramotoforlar'ı gösteren temsili bir resim ve mikroskop altından bir fotoğraf (Fernandez, 2009; Cronodon, 2019).



Şekil 2.4: *Ulva lactuca*'ya ait bir görünüm.

2.1.4. *Ulva lactuca*'nın Taksonomik Sınıflandırılması

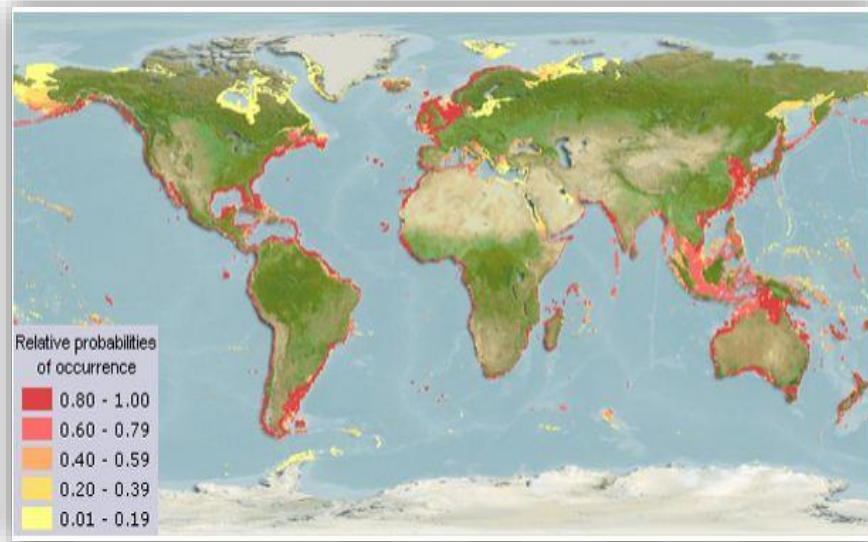
17.yüzyılda Baltık Denizinde Linnaeus tarafından tanımlanmış Chlorophyta Phylum'una ait bir makroalg türü olan *Ulva lactuca* bağı, sesil ya da serbest yüzerek büyüebilme kabiliyetine sahiptir. *Ulva lactuca*, morfolojisi su tuzluluk derecesine ve bakterilerle olan simbiyosis ilişkisine bağı olan polimorfik bir türdür (Wichard, 2015). Bu türe ait taksonomik sınıflandırmaya aşağıdaki Tablo 2.1'de yer verilmiştir.

Tablo 2.1: *Ulva lactuca*'ya ait taksonomik sınıflandırma (Itis 2019).

Divisio	Chlorophyta
Classis	Chlorophyceae
Ordo	Ulvales
Familia	Ulvaceae
Genus	Ulva
Species	<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus 1753.

2.1.5. *Ulva lactuca*'nın Türkiye ve Dünyadaki Dağılımı

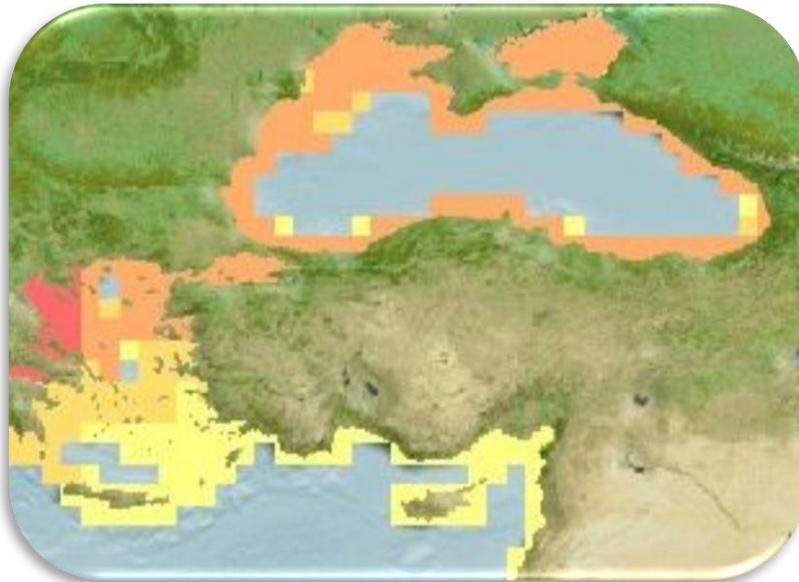
Ülkemizde deniz marulu olarak da bilinmekte ve yenilebilir yeşil bir alg türü olan *Ulva lactuca*'nın dünya'nın yaklaşık 117 ülkesinde yayılım gösterdiği bildirilmiştir. Bu ülkelerden önemli olanları ise şöyledir; Japonya, Çin, İsrail, Malezya, Mısır, Kenya, Tunus, İran, Hindistan, Bangladeş, Sudi Arabistan, Vietnam, Lübnan, Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İzlanda, Hollanda, Norveç, Romanya, İspanya, Kanada, Meksika, ABD, Yeni Zelanda Avustralya, Şili, Arjantini Brezilya, Peru ve Uruguay'da yayılış göstermektedir (Aquamaps, 2019).



*Kırmızı renkli bölgeler en yoğun yayılım gösterdikleri alanlardır.

Şekil 2.5: *Ulva lactuca*'nın dünyadaki dağılım haritası (Özden ve diğ., 2019).

Ülkemiz denizlerinde ise *Ulva* genusunun *Ulva rigida* ve *Ulva lactuca* gibi farklı türleri bulunmaktadır. Türlerdeki bu değişimler denizlerdeki dinamik fiziksel, kimyasal özelliklerin farklılıklarına dayanmaktadır. Ülkemiz denizlerinden Karadeniz'de, Ege Denizi'nde, Akdeniz'de ve bir iç deniz olan Marmara Denizi'nde dağılım göstermektedir. Ülkemiz denizlerindeki dağılışı, aşağıda Şekil 2.6'da gösterilmiştir (Aquamaps, 2019).



*Kırmızı ton yayılımın daha yoğun olduğunu belirtmektedir.

Şekil 2.6: Ülkemiz denizlerinde *U. lactuca* dağılım haritası (Aquamaps, 2019).

2.1.6. *Ulva lactuca*'nın Kimyasal İçeriği

Algler akuatik ortamların birincil üreticileridir. Akuatik ekosistem içinde önemi çok büyük olan bu canlılar bünyelerinde biyoaktif önemi olan birçok madde ihtiva etmektedir. Bunlar; vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, sodyum, potasyum, kalsiyum, demir, fosfor, lipid, karbonhidrat, polisakkaritler, protein (Rasyid, 2017), lutein, astaksantin, zeaksantin, karotenler, klorofiller, likopen, fenolik bileşikler (Baky, 2008). İyot, selenyum, çinko, magnezyum, manganez, bakırdır (Okab ve diğ., 2012).

Yağ asitlerinden palmitik asit, miristik asit, oleik asit, linoleik asit, linolenik asit, EPA, araşidonik asit ve diğer maddelerden tokoferoller (Vitamin E), vitamin K1, vitamin K2, steroller, fenolik bileşiklerden olan flavonoidlerden mirisetin, kuersetin, naringin, resveratrol, naringenin, kamferol, morin (Caf ve diğ., 2015), stearik asit, palmitoleik asit, behenik asit (Yaich ve diğ., 2011), vitamin C, B3, B9, B12, dokozahekzaenoik asit (DHA) ve eikozapentaenoik asit (EPA)'tir (Kim ve diğ., 2011).

Çözünmeyen diyet lifi sınıfından lignin (ADL), selülöz, hemiselülöz ve lignin içermektedir. Bunlardan en yüksek oranda olanı hemiselülözdür. Monosakkaritlerden glikoz, xylose, galaktoz, mannoz, ramnoz, arabinoz içermektedir. Bunlardan en yüksek oranda olarak glukoz içermektedir (Yaich ve diğ., 2011).

Ulva lactuca üzerinde kuru ağırlık baz alınarak yapılan besin bileşimi analizleri sonucu olarak bu alglerin, %13.6 ham protein, %58.1 karbonhidrat, %0.19 yağ, %16.9 nem, %11.2 kül ve %28.4 diyet lifi içerdiği rapor edilmiştir (Rasyid, 2017).

Ulva lactuca'lar yapılarında aminoasitlerden aspartik asit, glutamik asit, valin, alanin, lösin, lisin, arginin, glisin, trozin, serin, treonin, prolin, metiyonin, sistein, izolösin, fenil alanin, histidin içermektedir. Bunlar içinde en fazla glutamik asit ve aspartik asit içermektedir (Yaich ve diğ., 2011).

2.2. ANTIOKSİDANLAR

Antioksidanların tanımı yapılacak olursa, besinlerde oksidatif bozulmayı önleyen veya geciktiren bileşiklerdir. Antioksidanlar oksijenle reaksiyona girerek, oksijenin besinlerdeki olumsuz etkisini frenleyen maddelerdir. Oksidatif ve otooksidatif işlemlerin başlangıcında etki gösterirken ve oksidasyonu ve bununla alakalı olarak ürünlerdeki kötü koku ile tat gibi istenmeyen reaksiyon sonuçlarını engelleyebilme gücüne sahip olabilmektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

Kısaltması CAC olan, Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu ise antioksidanların tarifini, “Gıdalarda yağların acılaşması ve renk değişimleri gibi oksidasyon reaksiyonları sonucunda meydana gelen bozulmaları engelleyerek raf ömrünü uzatan maddelerdir” olarak yapmıştır. Oksijen birçok gıda maddesinde bozulmaya neden olan faktörlerin başında gelmektedir. Üründe arzu edilmeyen koku lezzet oluşumuna sebep olan oksidatif acılaşma reaksiyonları, ısı, ışık, enzim, nem, metal ve metal içeren bileşikler ile katalizlenebilmektedir. Gıdalarda uygulanan paketleme ve soğutma acılaşmayı geciktirebilmekte fakat durduramamaktadır. Antioksidatif maddeler ürüne oksidasyonun başlamadan önce katıldıklarında reaksiyon önlenemekte veya azaltılabilmektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması ve Etki Mekanizması

Gıdaları oksidasyonun olumsuz etkilerinden korumak için antioksidanlar 4 ana gruba ayrılmaktadır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992). Bunlar ise; Serbest radikal ile bağlanıp kompleks oluşturanlar, İndirgen özellik gösterenler, Şelat ajanları ve İkinci derecedeki antioksidanlardır. Bunlara sırasıyla aşağıda yer verilmiştir.

2.2.1.1. Serbest Radikaller ile Kompleks Oluşturan Antioksidantlar

- a) Butylated Hidroksianisol (BHA) ve Butylated Hidroksitoluen (BHT) : Sentetik Antioksidan.
- b) Tertiary butylhidroquomone (TBHQ) : Sentetik Antioksidan.
- c) Gallik Asit Esterleri (Gallatlar) : Sentetik Antioksidan.
- d) Tokoferoller: Doğal Antioksidan
- e) Nordihidroguayaret asidi (NDGA): Sentetik Antioksidan.
- f) Aminoasitler, Peptidler, Proteinler: Doğal Antioksidan (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

2.2.1.2. İndirgen Özellik Gösterenler: Bağlayıcılar

Oksijen bağlayıcılar, hidrojen atomlarını oksijene transfer ederek, oksijenin oksitleyici etkisini kaldırır ve acımayı geciktirirler. Renk degradasyonunu engellerler.

- a) Askorbik asit ve tuzları: Doğal Antioksidan.
- b) Sülfidler: Doğal Antioksidan.
- c) Glukoz oksidaz: Doğal Antioksidan.
- d) Eritorbik asit ve tuzu (Sodyum-Eritorbat) : Sentetik Antioksidan. (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

2.2.1.3. Şelat Ajanları, (Chelating), (Sequesterants)

Şelat ajanları antioksidan değildir fakat gıdanın stabilitesinde önemleri büyüktür. Bu maddeler ortamda iz miktarda bulunan demir ve bakır gibi prooksidant metallerle kompleks oluştururlar ve onların katalitik etkisini engellerler, böylece üründeki birtakım özelliklerinin stabilleşmesini sağlarlar. Gıdaların hoş koku, renk ve yapısını kararlı hale getirmektedirler. Şelatlar Antioksidan maddelerin işlevlerine olumlu yönde katkı yaparlar, bundan dolayı da sinerjist maddelerdendir. Bunlardan önemli olanları:

- a) Sitrik asit,
- b) Polifosfatlar,
- c) Ekilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

2.2.1.4. İkincil (Sekonder) Antioksidanlar

Bunlar lipit oksidasyonu sırasında antioksidan maddelere yardımcı olurlar.

- a) Tiodipropiyonik asit (TDPA),
- b) Dilauriltiodipropiyonat (DLTDP) (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

2.2.1.5. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Bu kısımda yukarıda belirtilmiş olan antioksidan gruplarının çalışma mekanizmaları açıklanmaktadır. Antioksidanlar; zincir tepkimesinin ilerleme safhasında meydana gelen peroksit radikaline (ROO[•]) Hidrojen atomu vererek aşağıda şekilde belirtildiği gibi zincir tepkimeyi durdururlar (Kıralan ve diğ., 2004).



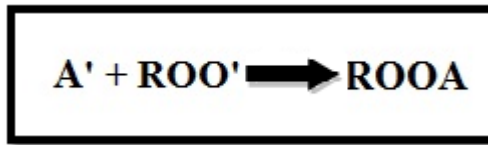
Şekil 2.7: Serbest radikalle bağlanan antioksidanların kompleks oluşturması (ROOH: Hidroperoksit).

Bitiş safhasında serbest antioksidan radikalleri kendi aralarında reaksiyona girerler ve böylece antioksidan rejenerasyonu sağlanacaktır (Kıralan ve diğ., 2004).



Şekil 2.8: Antioksidan radikallerinin kendi aralarındaki tepkimesi.

İlerleme safhasında meydana gelen peroksit radikali ile antioksidan radikallerinin tepkimeye girmesidir. Bu durum Şekil 2.9'da gösterilmektedir (Kıralan ve diğ., 2004).



Şekil 2.9: Serbest radikal ile antioksidan radikali tepkimesi.

Metal şelat reaksiyonu ile antioksidanların etkisinin fazlalaştırılmasıdır (Kıralan ve diğ., 2004).



Şekil 2.10: Metallerle şelat oluşumu.

2.3. FENOLİK BİLEŞİKLER (POLİFENOLLER)

Suda çözünen antioksidanların en önemli grubunu teşkil etmektedirler. Bitkilerde fazlaca bulunmaktadır ve sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Bir hidroksil iyon grubunun (-OH), aromatik bir hidrokarbon grubuna bağlanması ile oluşan kimyasal bileşiklere ait sınıfa fenoller, fenolikler denilmektedir. En basit fenolik bileşik ise fenoldür (C_6H_5OH). Bütün fenolik maddeler, fenolden türemişlerdir. Bitkisel gıdaların kendine has renk, tat ve koku gibi özelliklerinin oluşumuna etki etmektedirler. Bitkilerde antioksidatif özellikte sekonder metabolit olarak üretilmektedirler ve patojenlere, UV ışınlarına, parazitlere karşı koruyucu vasıftadırlar. Fenolik bileşiklerin antioksidatif özellikleri bulunmaktadır. Bundan dolayı, radikal süpürücü, antimikrobiyal, antihipertansif, antiinflamatuvar, hipoglisemik ve antitrombotik vasıftadırlar (Vermerris ve Nicholson, 2006).

Ayrıca biyolojik özellikleri sebebiyle gıda koruyucularında, beslenme takviyelerinde, renklendiricilerde, ilaç formülasyonlarında tercih edilmektedirler. Hidrojen iyonu veya elektron verme kabiliyetleriyle serbest radikalleri nötralize etmeleri ve yağ asitleri gibi bileşiklerin oksidasyonunu engellemeleri sebebiyle antioksidan gibi davranmaktadırlar. Bunun yanında, Fe^{+2} and Cu^{+} gibi metalleri şelatlayarak ortamın redoks potansiyelini değiştirmektedirler (Topdaş, 2018). Fenolik asitler ve Flavonoidler olarak iki ana grupta incelenmektedirler. Bu gruplar Tablo 2.2’de örnekleriyle beraber özetlenmiştir.

Tablo 2.2: Fenolik bileşiklerin sınıflandırması ve yaygın örnekleri (Meral ve diğ. 2012).

FENOLİK BİLEŞİKLER	
FLAVONOİDLER	YAYGIN ÖRNEKLERİ
Antosiyaninler	<i>Depihidin-3-glikozit, Siyanidin-3-glikozit, Petunidin-3-glikozit, Malvidin-3-glikozit</i>
Flavonoller	<i>Kuersetin, Kaemferol, Kuersatagetin</i>
Flavon-3-oller	<i>Kateşin, Epikateşin, Epikateşin gallat, Epikateşin-3-gallat</i>
İzoflavonoidler	<i>Genistein, Formononotein, Diadzein</i>
Flavonlar	<i>Rutin, Apigenin, Luteolein</i>
Flavononlar	<i>Mirisetin, Naringin, Naringenin</i>
FENOLİK ASİTLER	YAYGIN ÖNEKLERİ
Hidroksibenzoik asitler	<i>Gallik asit, Siringik asit, Total gallatlar</i>
Hidroksisinamik asitler	<i>Kafeik asit, Ferulik asit, p-Kumarik asit</i>
Stilbenler	<i>Resveratrol</i>

2.3.1. Flavonoidler

4000'den fazla sayısı ile, polifenollerin en geniş grubunu oluşturmaktadır. Güçlü antioksidatif özelliğe sahiptirler. Bitkilerin renk oluşumundan sorumlu olup iki fenil halkasının propan zinciriyle birleşiminden oluşan C6-C3-C6 karbon iskeletinden oluşmuştur. Sağlık üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle nutrasötik, farmasötik, medikal ve kozmetik alanlarda kullanılmaktadır (Topdaş, 2018).

Flavonoidler, serbest radikal yakalayıcı özellikleri, enzim aktivitelerinde görev almaları, antidiyaretik, antiülser, antiallerjen, antibiyotik, antiinflamatuvar özellik göstermeleri sebebiyle dikkatleri üzerine çekmektedir (Meral ve diğ., 2012).

Karbon halkalarındaki fonksiyonel grupların değişimiyle flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonoidler, neoflavonoidler, flavanoller (Kateşinler), antosiyanidinler/antosiyaninler, kalkanlar olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Çıkrıkçı, 2005).

2.3.2. Fenolik Asitler

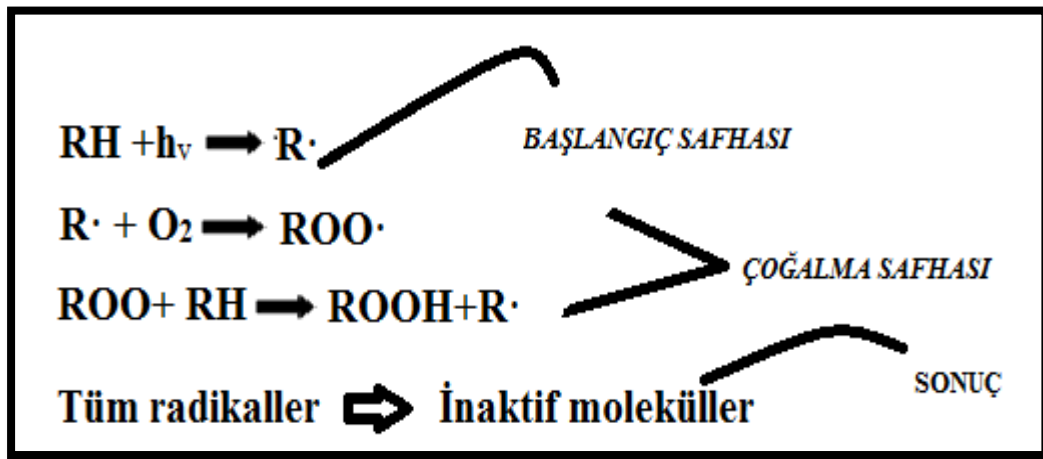
Fenil propanoidler olarak da bilinmektedir. Glikozit ya da organik asit esterleri şeklinde proteinlere ya da hücre duvarı polimerlerine bağlıdır. Hidroksisünamik asitler büyük kısmını teşkil etmektedir. Fenolik asitler, güçlü antioksidatif ve antikanserojenik özellikteki gallik asit ve elajenik asitleri içeren hidroksibenzoik asit grubunu ihtiva eden mühim bir polifenol sınıfıdır. En yaygın olanı hidroksisünamik asitlerden olan kafeik asit ve ferulik asittir. Fenolik asitler, birer şelatlayıcı olarak önemli serbest radikal süpürücülerdir. Fenolik asitler; Hidroksibenzoik asitler, hidroksisünamik asitler, azot içermeyen buruk bir lezzete sahip olan tanenler, resveratrol'ün üyesi olduğu stilbenler, lignanlar olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Topdaş, 2018).

2.4. GIDALARDAKİ OKSİDATİF BOZULMALAR

Genellikle yağ veya yağ ihtiva eden besinlerde, serbest oksijen nedeniyle istenmeyen türden değişikliklerden olan, lezzet ve kokularındaki olumsuz değişimler oksidasyon sebebiyledir. Sadece yağlar değil, gıdalarda bulunan protein, karbonhidrat ve pigmentler gibi diğer bileşenlerde de oksidasyona uğramaktadır. Doymamış yağ oranı yüksek ürünlerde oksidatif bozulmalar çok daha hızlı olmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile meydana gelen ilk ürün doymamış hiperperoksitlerdir. Yağların oksidasyona uğraması neticesinde

meydana gelen sekonder parçalanma ürünlerinin ketonlar, aldehitler, peroksitler, etilen oksitler, asitler ve alkollerdir (Gür ve Altuğ, 2009).

Atmosferde bulunan oksijen ile yağların oksidasyon tepkimesini en iyi ifade eden teorinin, serbest radikal mekanizmasıyla oluşan zincir reaksiyonu olduğu bilinmektedir. Bu reaksiyonda üç aşama bulunmaktadır. Bunlar, serbest radikal oluşumunun başlangıcı, çoğalma ve sonuncu olarak da sekonder oksidasyon ürünlerinin oluşumu zincirinin son bulmasıdır. Başlangıç aşaması (Initiation) ısı, ışık veya kimyasal enerji ($h\nu$) varlığı ile gerçekleşmektedir. Bu safhada doymamış lipid molekülü (RH), hidrojenin ayrılmasıyla serbest radikale ($R\cdot$) dönüşmektedir. Tepkime karbon-karbon çift bağının yanındaki metilen grubunda meydana gelmektedir. Karbon merkezli bu radikal moleküler oksijenle lipid peroksit içermeyen serbest radikaller ($ROO\cdot$) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girinceye kadar devam etmektedir. Peroksit içermeyen radikaller başka yağ molekülünden (RH) bir hidrojen iyonu alarak hidroperoksit ve başka yağ içermeyen radikal oluşmasına sebep olur ve çoğalma safhasını (Propagation) başlatmaktadır. Peroksit içermeyen radikale hidrojen transferiyle oluşmakta olan lipid hidroperoksitleri, kimyası bilinmeyen ikinci dereceden tepkimelerle monomerik ve polimerik ürünlere dönüşmektedir. Aşağıda gösterilmekte olan sonuç aşamasında (Termination) ise hidroperoksitler katalizörlerin etkisiyle ketonlar, aldehitler, esterler, alkoller, alkil radikalleri ve kısa zincirli hidrokarbonları da kapsayan ve okside olmuş yağlardaki acı tat ve lezzeti oluşturan ikincil ürünlere parçalanmaktadır (Gür ve Altuğ, 2009).



Şekil 2.11: Yağ oksidasyonunun aşamaları (Gür ve Altuğ, 2009).

Oksidasyonla bozulma sonrası gıdalarda ortaya çıkan durumlar aşağıdaki gibi sıralanmıştır.

- Katı ve sıvı yağlar ile yağ içeren gıdalarda ransit tat ve aroma oluşumu,
- Pigmentlerde renk açılması,
- Toksik oksidasyon ürünleri oluşumu,
- Üründe tat ve koku kaybı ve bozuklukları,
- Tekstünde değişmeler,
- A-D-E Vitaminleri ve esansiyel yağ asitlerinin (özellikle linoleik asit) tahribatından dolayı besin değerinin azalması (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

2.4.1. Yağlardaki Oksidatif Bozulmalar

Serbest radikallerden en fazla etkilenen biyomoleküller lipitlerdir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller etkisi ile oksidatif yıkımı nonenzimatik lipid peroksidasyonudur ve zincir tepkime olarak ilerler. Bu reaksiyonunun gerçekleşmesi sebebiyle meydana gelen hasarın geri dönüşümü olmamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Oksidasyon yağ ve yağ içeren gıdalarda üründe arzu edilmeyen tada neden olan önemli bir kimyasal reaksiyondur. Oksidasyonun daha da ileri gitmesi durumunda toksik özellikte yan ürünler ortaya çıkabilmektedir ancak, çoğu zaman bu oksidatif reaksiyon toksik yan ürünlerin ortaya çıkacağı safhaya kadar gelememektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

Oksidatif reaksiyon neticesinde yağlarda aşağıda belirtilen bozulma şekilleri ortaya çıkmaktadır. Bu durum ürünlerin pazarlanabilirliğine de zarar vermektedir.

Hidroliz: Gliserol ile serbest yağ asitleri yağların hidrolizi sonucu meydana gelmektedir. Bu tepkime yüksek sıcaklık ve lipolitik enzimlerle katalizlenebilmektedir. Trigliseridler hidroliz esnasında tat kayıplarına uğrarlar. Bu durum neticesinde, yüksek su içeriğine sahip patates gibi gıdaların kızartıldıklarında meydana gelen köpürme, oluşan serbest yağ asitlerine bağlı olarak işlemede kullanılan aletlerin aşınması ve sabunumsu tat olarak ortaya çıkmaktadır. Bunlar hidroliz sonucu meydana gelen değişimlerdendir. Antioksidan kullanımı buna engel olamamaktadır (Gür ve Altuğ, 2009).

Acılık: Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucunda oluşan uçucu bileşiklerin arzu edilmeyen lezzet kayıplarına neden olmalarıyla meydana gelir. Oksidasyon yoluyla oluşan acılığa oksidatif ransidite, hidroliz yoluyla oluşan acılığa ise hidrolitik ransidite denilmektedir. Antioksidan kullanımı olumlu sonuç verebilmektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

Lezzet Dönmesi (Deversion): Yüksek oranda doymamış yağların lezzetinde oluşan bozulmalardır. Linoleik tip asitlerin oksidasyonu neticesinde meydana geldiği düşünülmektedir ve antioksidan kullanımıyla önlenememektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

Polimerizasyon: Doymamış yağ asitlerinin iki karbon atomu arasındaki çapraz bağlanma olarak bilinmektedir. Polimerler doymamış kısımdaki iki yağ asidi arasında oksijen bağlarıyla da meydana gelebilmektedir. Otooksidasyon ilerledikçe yeni molekül oluşumu, uzama olayları ve büyük polimerlerden başka olarak parçalanma olayları ortaya çıkan parçalanma ürünleri (aldehitler, ketonlar, organik asitler) ve bunların hidroksi türevleri cinsinden bileşikler görülmektedir. Antioksidan kullanımı olumlu sonuç verebilmektedir (Gür ve Altuğ, 2009).

2.4.2. Karbonhidratlarda Oksidatif Bozulmalar

Karbonhidrat içeren gıdalarda da oksidasyon sonucu renk ve aroma değişimleri meydana gelmektedir. Renk değişimleri üründe kahverengi, sarı, gri rengin ortaya çıkmasıyla fark edilmektedir. Karbonhidratlar, Maillard reaksiyonu, enzim reaksiyonu, doğal pigmentlerin oksidasyonu ile bozulabilmektedir.

Maillard Reaksiyonu enzimatik değildir, bu reaksiyon indirgen şekerler ile proteinlerin serbest amino grupları veya aminoasitler arasında meydana gelmektedir. Maillard reaksiyonuna karşı askorbik asit, sitrik asit veya diğer organik asitler kullanılabilir (Stuckey, 1972; Saldamlı, 1985; Dinçer, 1987).

Peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerin reaksiyonları sonucu karbonhidratlarda oluşan tipik oksidasyon sonucu olumsuzlukları önlemenin yolu ise ısı işlem uygulayarak enzimleri etkisiz hale getirmektir (Stuckey, 1972; Dinçer, 1987).

Gıdalardaki karoten gibi doğal pigmentlerin okside olması sonucu renk kayıpları oluşmaktadır. Bunu önlemek için ise çoğu zaman üründe tokoferoller, bütillenmiş hidroksi

anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) kullanılmaktadır (Stuckey, 1972; Saldamlı, 1985; Dinçer, 1987).

2.4.3. Proteinlerdeki Oksidatif Bozulmalar

Proteinler lipolitik enzimler vasıtasıyla parçalanmakta, ısı ve hidrolitik enzimler yardımıyla denatüre olmaktadır. Oksijenle tepkime yapabilecek özellikte çift bağları yoktur. Proteinlerde bulunan hem-pigmentler hızlı okside olarak renk değiştirir. Renkteki bu degradasyon hiçbir gıda katkı maddesiyle engellenememektedir. Bundan dolayı hemoglobin içeren gıdalarda renk kontrolü amacıyla belirli gazlara geçirgen olan ambalaj maddeleri kullanılmaktadır (Gür ve Altuğ, 2009).

2.5. GIDALARDA KULLANILMAKTA OLAN BAZI SENTETİK KORUYUCU (ANTİMİKROBİYAL) MADDELER

2.5.1. Sodyum Benzoat

Gıdalarda antimikrobiyal amaçlı kullanılan E211 olarak bilinen düşük maliyetli bir katkı maddesidir. Kokusuzdur ve görünüm itibariyle buğday ununa benzemektedir. Beyaz toz halindedir. Benzoik asitin sodyum tuzudur. Küflerle mukayese edildiğinde mayalara karşı daha etkilidirler. İnsan için günlük kullanılabilirlik miktarı $< 5\text{mg/g}$ vücut ağırlığıdır. Erime noktası yaklaşık 300°C 'dir. Kozmetik, ilaç ve gıda sektörlerinde kullanıldığı bilinmektedir (Karakahya, 2011).

Kimyasal formülü $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$, molekül ağırlığı ise $144,11\text{ g/mol}$ 'dür. Suda iyi çözünür (20°C 'de $550\text{-}630\text{ g/L}$). Etanol, metanol ve etilen glikolde de çözünmektedir (13g/L). İlk kez 1911 yılında gıda katkı maddesi olarak kullanılmıştır. 10g/L konsantrasyonundaki sodyum benzoat çözeltisinin pH'ı yaklaşık olarak 7.5 'tir. Sodyum benzoatın pH 4.5 üzerinde etkileri azalmakta olduğundan bakteriler için kullanılması önerilmemektedir. Genellikle bakterilerin faaliyetleri bu pH düzeyinden sonra fazlalaşmaktadır (Karakahya, 2011).

Bugün çoğu gıdada, işlenmiş balık ürünlerinde, margarinlerde, içeceklerde, soslarda, kakaolu ürünlerde, bisküvi, gofret, kek ve kremalarda, turşularda, soslarda, marmelat ve reçellerde, zeytin üretiminde kullanımı çok yaygındır. Genel kullanım oranı $\% 0.1 - 0.2$ aralığındadır. Ülkemizde $\% 0.1$ oranında kullanılmasına müsaade edilmektedir.

Antimikrobiyel özelliğini, yapısındaki benzoik asidin dissosiyeye olmamış molekülünün lipofilik karakterinden aldığı ifade edilmektedir. Benzoik asit astıma, deri döküntüleri gibi çeşitli allerjik reaksiyonlara ve anaflaktik şoka sebep olduğu ifade edilmektedir. Metabolizmada % 0.1 konsantrasyonda 0.5 g sodyum benzoat toksin etkisi tolere edilebilmektedir. Daha fazla dozlarda mide bağırsaklardan emilimiyle zehirlenme yapmaktadır. Lethal doz altı seviyelerde idrarla dışarı atılmaktadır (Yetük, 2013).

2.5.2. Nitrat ve Nitritler

Sodyum nitrat (NaNO_3) ile potasyum nitrat (KNO_3) ve sodyum nitrit (NaNO_2) ile potasyum nitrit (KNO_2), nitrat ve nitritlerin sodyum ve potasyum tuzlarıdır ve bunlar balıklarda, et ve et ürünlerinde arzu edilen renk ve lezzet özelliklerini ürüne kazandırmak ve mikrobiyal dayanıklılığı sağlamak için kullanılan kürleme ajanıdır. Nitrit hem indirgen hem de yükseltgen olup organik maddelere karşı çok reaktiftir. Isıya dayanıklı da değildir. Stabil yapıda olan nitrat iyonu ise bakteri faaliyetleri sonucu nitrite indirgenmektedir. Nitrit tek başına veya NaCl ile kullanıldığı takdirde bakterilere karşı daha etkili olsa da, nitritin antibakteriyel etkisi sınırlıdır. Bunun yanı sıra, nitritin etkisine karşı çoğu *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Enterococcus* türleri ve gram (-) bakteri türlerinin dirençli olduğu bildirilmektedir. Nitrit ve nitrat kullanımının gıda zehirlenmesine ve enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmaların inhibe edilmesinde önemli bir rolü vardır. Nitritin bakteri üstündeki engelleyici kesin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Spor çimlenmesini önlemediği, hücrelerin üremesini inhibe ettiği bildirilmektedir. *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Escherichia* türü bakterileri ve *C. botulinum* inhibe etmek amaçlı kullanılmaktadır. Bu ajanlar, ısıtılmamış ürünlerde arzu edilmeyen mikroorganizmaların, pastörize mamüllerde termotolerant sporsuz formların ve bazı kürlenmiş ürünlerdeki yüksek ısı işlemi sırasında canlı kalan sporların gelişimini inhibe etmektedir (Ova, 2009).

Gıdaya nitrit katılması sonrası ısıtılmasıyla birtakım engelleyici bileşiklerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu inhibitörler Perigo Faktör (PF) olarak bilinmektedir. Nitritin antimikrobiyal gücü pH 7'den pH 5 seviyesine düşüldükçe artmaktadır. Optimum pH düzeyi ise yaklaşık 5.5'tir. Nitritin inhibe edici gücünün çözülmemiş nitroz asit konsantrasyonuyla bağlantılı olduğu bildirilmektedir (Ova, 2009).

2.6. ANTİMİKROBİYAL MADDELERİN MİKROORGANİZMA ÜZERİNDEKİ ETKİ MEKANİZMALARI

Koruyucu nitelikteki kimyasallar mikroorganizmalara, enzimlerin inhibisyonuyla, proteinlerin denatürasyonu, DNA hücre çeperi veya stoplazmik membranın tahrip edilmesi veya değiştirilmesiyle, hücre duvarı sentezinin inhibisyonuyla ve esansiyel metabolitlerle rekabet edilmesi mekanizmalarıyla etki etmektedir (Ova, 2009).

2.6.1. Enzimlerin İnhibisyonu

Enzimler protein yapısında olduklarından dolayı ağır metallerle, alkollerle, fenollerle, yüzey aktif maddelerle, yüksek tuz konsantrasyonlarıyla, pH değişiklikleriyle inaktive edilip mikroorganizmaların üremelerini durdurumaktadırlar. Okside edici ajanlar vasıtasıyla (-SH) aktif sülfidril içeren bazı enzim sistemlerini inaktive edilmektedir. (-SH) grupları okside olduklarında (S-S) disülfid zincirleri formu enzimlerin inaktive olmasına sebep olmaktadır. İndirgeyici ajanlar (S-S) zincirlerini ayırarak tekrar (-SH) grubunu üretmektedir. Bu yolla oksidasyon maddeleri mikrobiyal hücreleri inhibe etmektedir (Ova, 2009).

2.6.2. Genetik Sistemin Etkilenmesi:

a)Replikasyon ve transkripsiyonun İnhibisyonu:

İki yolla oluşmaktadır. Bunlardan ilki, bazı kimyasalların DNA'ya bağlanarak DNA'ya ait fonksiyonların durdurulmasıyla, ikincisi ise DNA veya RNA polimerazı inhibe edilmesiyle gerçekleşmektedir. Kimyasal ajan DNA'nın iki ipliliği arasında köprü kurmakta ve iplikçiklerin ayrılmasına mani olmaktadır. Bazı kimyasal ajanlar ise DNA baz çiftleri ile çiftler oluşturarak yapıyı bozmaktadır (Ova, 2009).

b)Protein Sentezinin İnhibisyonu:

Hücre içine giren bazı kimyasallar protein sentez yeri olan ribozomlara bağlanarak veya ribozomlara karşı atağa geçerek protein sentezini engellemektedir. Genler kimyasal ajanlardan etkilenirse, gen ile kontrol edilen enzim sentezi de engellenmiş olmaktadır (Ova, 2009).

2.6.3. Hücre Çeperi ve Membrana Etkisi

Bakteri hücreleri hayvan hücrelerinden farklı olarak hüce çeperi bulundurmaktadır. Bu çeper oldukça sert ve dayanıklı bir özelliğindedir. Bu çeperin yapısının bozulması veya üretiminin engellenmesiyle hücre ölmektedir (Ova, 2009).

Çeper, mukopeptitlerin, lipopolisakkaritlerin, lipoproteinlerin ve proteinlerin kompleks polimerleridir. Bu maddelerden herhangi birinin üretiminin kimyasal ajanlarla engellenmesi bu maddelerin polimerizasyonlarının inhibe edilmiş olması ve hücre çeperi yapısının bozulması demek olacaktır. Böylece veya kusurlu bir hücre çeperine sahip olan bakterinin hücre geçirgenliği artmış olacak ve kimyasal ajan hücre içine girip hücreyi lizis edebilecektir veya hücre stoplazması koagülasyonuna sebep olarak mikroorganizmayı öldürecektir. Antimikrobiyal maddeler, stoplazmik membranın seçici geçirgenlik özelliğini etkilemesiyle besinler hücre içine girememekte ve hücre içeriği dışarıya sızarak hücre ölmektedir (Ova, 2009).

2.6.4. Esansiyel Besleyici Ögelere Bağlanma

Mikroorganizma için esansiyel nitelikte olan bileşiklere kimyasal ajanların bağlanması, mikroorganizmanın bu bileşeni kullanmasına mani olarak yaşam faaliyetlerini engellemekte ve mikroorganizmanın ölmesine neden olmaktadır (Ova, 2009).

2.7. ET GRUBU GIDALARDA MİKROBİYAL EKOLOJİ

Sağlıklı hayvan etleri kesim öncesi steril kabul edilirler bundan dolayı hayvanda ette patojen bakteri mevcudiyeti canlıda kesim öncesi herhangi bir enfeksiyon varlığından ya da kesim sonrası meydana gelmiş kontaminasyon sebebiyledir. Çiğ etteki bozulmalar maya ve küften ziyade, daha hızlı üreyebildiklerinden çoğu zaman bakteri kaynaklıdır (Ova, 2009).

Küfler, et yüzeyi bakteri gelişimi için uygun olmayıp kuru olduğu takdirde gelişmektedir ve bu da paketlemede endüstri için bir problemdir. Parça etler ile karkas etlerin mikrobiyal floraları birbirlerine benzerdir fakat parça etlerin mikrobiyal yükleri elle temasın çok daha fazla olması dolayısıyla ve depolama şartları nedeniyle farklı olabilmektedir. Kıyma haline getirilmiş etlerde hücre öz suyu dışarıya çıktığından ve oksijenle temas yüzeyi artmış olduğundan bozulma karkas etlere nazaran daha çabuk olmaktadır (Ova, 2009).

Kanatlı eti ve derisi bileşimi ve diğer özellikleri sebebiyle birçok mikroorganizma için çok iyi üreme ortamıdır. Kanatlıların barsakları da önemli bir enterik bakteri kaynağıdır. Kanatlıların tüyleri ve ayaklarında daha çok psikrotrof bakteriler bulunmaktadır. Kanatlılarda bulunan organizmaların başlıcaları; *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Eschericia*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paracolobactorum*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* ve *Salmonella* türlerinden oluşmaktadır (Ova, 2009).

Balık etinde bozulmalar bakteriyel bozulma, oksidasyon, otoliz ve bu faktörlerin birlikte faaliyetiyle oluşmaktadır (Ertaş, 1981). Balıktaki bozulmalar genel olarak kimyasal, mikrobiyal ve enzimatik olarak değerlendirilmektedir. Balık eti rigor mortis sonrası oluşan yumuşama ile bakteriyel gelişime açık hale gelmektedir. Buzlama, soğutma, pH düşürme mikrobiyal kaynaklı bozulmayı geciktirmektedir. Ölüm sonrası enzim ve mikroorganizmalar balığın kas dokusuna geçmektedir ve kas dokusundaki mikroorganizma sayısı önce yavaş daha sonra hızlıca artmaktadır (Gram, 1992).

Balıklarda ise mikroorganizmalar özellikle solungaçlarında, derisinde ve gastro intestinal sistemlerinde yer almaktadır. Soğuk su balıklarında ise *Moraxella*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinsi psikrofilik gram (-) bakteriler baskın florayı oluşturmaktadır (Stammen ve diğ., 1990). Ilık su balıklarının mikroflorasında psikrotrofik, aerobik veya fakültatif anaerobik gram (-) çubuk formu bakteriler ve bilhassa *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Aeromonas* ve *Photobacterium* türleri bulunmaktadır (Stammen ve diğ., 1990). Sıcak su balıkları floralarında *Micrococcus*, *Corynebacterium* ve *Bacillus* gibi gram (+) mezofilik bakterileri taşımaktadırlar (Stammen ve diğ., 1990).

İç sularda ise *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Moraxella*, *Bacillus* bakterileri dominanttır (Anonymous, 2005). Denizlerde genellikle *Photobacterium*, *Vibrio* ve *Shewanella putrefaciens* gibi G (-) bakteriler daha çok bulunmaktadır. Taze stoklanan balıklarda psikrotrofik bakteri cinsleri baskın florayı oluşturmaktadır. Depolama sürecinde 1-2 hafta içerisinde florada değişim meydana gelir. Soğukta depolamada psikrotrofik *Shewanella*, *Pseudomonas* bakteri cinsleri baskın duruma geçmektedir. 25°C civarı sıcaklıklarda üründe bozulmaya yol açan mezofilik *Vibrionaceae* baskın duruma geçmektedir. Balık eğer temiz sulardan avlanmamış ise *Enterobacteriaceae* baskınlığı söz konusudur (Gram, 1992).

Aerofilik ortamda muhafaza edilen balıklarda bozulma, gram (-) psikrotrofik basiller nedenlidir. Aerobik ortamda buzla muhafazada flora nerdeyse sadece *Pseudomonas* ve *S. putrefaciens*'i içermektedir. Anaerob koşullar altında bozulma, karbondioksit dayanaklı gram (+) bakterilerce meydana gelmektedir (Gram, 1992).

Listeria monocytogenes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Clostridium botulinum*, *E. coli*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, su ürünlerinde zehirlenmeye neden olan bakteriler arasında bulunmaktadır (FDA, 2012).

2.7.1. Gıdalarda Mikrobiyal Bozulma ve Zehirlenmeler

Antimikrobiyal maddeler bakteriyostatik, fungistatik ya da bakteriyosidal, fungisidal sporisidal etki gösterirler. Bakteri sporları kimyasal maddelere ve diğer antibakteriyal faktörlere en dirençli mikrobiyal formdur ve vejetatif formlarından çok daha dayanıklıdır. Fungal sporlar da kimyasal koruyucuların aktivitesine karşı vejetatif hücrelerden daha dayanıklıdır. Birçok durumda küfler inhibitörlerin etkisine mayalardan daha hassas olmaktadır (Ova, 2009).

Gıdalarda saprofit mikroorganizmalarla enfeksiyon ve zehirlenmelere neden olan patojen mikroorganizmaların faaliyetleri sonucu gıda güvenliğinin azalması gıdalarda "Mikrobiyal Bozulma" olarak tanımlanabilmektedir. Gıdalarda bulunan besin öğeleri mikroorganizmalar için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Ayrıca gıdanın pH'sı, su aktivitesi, oksidasyon redüksiyon potansiyeli ve inhibitör maddeler, ortamda bulunan gazlar, ortam ısı ve nemi de mikrobiyal kaynaklı bozulmada önemlidir (Ova, 2009).

Vejetatif mikroorganizmalar ısıyla etkisiz hale getirilebilmekte fakat sporları ısıdan etkilenmemektedir. Bu sporlar uygun koşulları bulduğunda tekrar gelişmektedir. Bakteri kaynaklı gıda zehirlenmelerinin büyük çoğunluğu özellikle Enterobacteriaceae familyası üyelerinden olan *Salmonella* serotipleri, enteropatojenik *E. coli* ve *Shigella spp.*, Campylobacteraceae familyası üyelerinden olan *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* orjinlidir. İkincil öneme sahip olanlar *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* kaynaklı toksikoenfeksiyonlar, stafilokoksal enterotoksin, emetik *B. cereus* toksini, botulinum nörotoksini kaynaklı intoksikasyonlar, *Vibrio spp.*, *Streptococcus spp.*, ve *L. monocytogenes* kaynaklı enfeksiyonlardır. Yüksek oranda ölümlere neden olan başlıca mikroorganizmalar *L. monocytogenes* ve *C. perfringens* olmak üzere iki tanedir (Kocatepe ve diğ., 2013).

2.8. GIDA KAYNAKLI BAKTERİYAL PATOJENLER

2.8.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasına ait en patojen türdür. *S. aureus* hareketsiz, sporsuz, yuvarlak şekilli, koagülaz pozitif, fakültatif, gram (+) anaerofilik bir bakteridir. Mezofiliktirler ve 7-48°C arası üreyebilirler, insan ve hayvanların üst solunum sistemi, deri, alt ürogenital sistem ve sindirim sistemi mukozalarında bulunmaktadır ayrıca toz, hava, kanalizasyon suları, gıda ve gıda işleme ekipmanlarında da bulunabilmektedir (Sağlam ve Şeker, 2016). Nem oranı yüksek ortamlarda ve yüksek tuz konsantrasyonlarında da üreyebilmektedirler (Boz, 2009).

Isıl işleme ve mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı hassas olmalarına rağmen, toksinleri ısıya dayanıklıdır ve insanlarda gıda zehirlenmesine neden olan ürettikleri enterotoksinleri yüksek ısılarla dayanıklıdır. Bu enterotoksinler antijenik yapıda ekstraselüler proteinlerdir. *S. aureus*'un enterotoksinleri, gıdanın tüketiminden 1-7 saat sonra bulantı, kusma, mide krampları ve ishal şeklinde kişide kendini göstermektedir. *S. aureus* intoksikasyonunun gerçekleşebilmesi için bu enterotoksinin minimum 1 mg'ının vücuda alınması gerekmektedir. *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasında en büyük pay insanlara aittir. Mastisitli sütler hariç, işlem görmemiş gıdalarda kolay kolay hastalık yapacak kadar yüksek sayılara ulaşamazlar. Stafikokal hastalıklar, gıda işlendikten sonra, işletme personelinin hijyen ihlalinden kaynaklı veya işleme alet ekipmanı kaynaklı olarak ortaya çıkar, yani sonradan oluşmuş bir kontaminasyon kaynaklıdır (Argudin ve diğ. 2010).

Staphylococcus aureus bakımından risk taşıyan besinler; peynir, süt, dondurma, et ve ısıl işlem görmüş et ürünleri, balık, tavuk eti, hazır gıdalardır. Tüketilen ürünlerdeki *S. aureus* miktarı 100.000 adet/g'ı bulduğunda enterotoksin tehlikeli seviyeye gelmiş demektir (Kocatepe ve diğ., 2013). *S. aureus* kontrolünde en önemli nokta, personel hijyeni, ısıl işlem gören gıdanın hızla soğutulması buzdolabında muhafaza edilmesidir ve çapraz kontaminasyonun önlenmesidir (Hastein ve diğ., 2014).

2.8.2. *Bacillus Cereus*

Bacillaceae familyasına aittir. Gram pozitif, çubuk şeklinde, peritrik flagellası ile genellikle hareketli, endospor oluşturan, aerobik bir bakteridir. Fakültatif anaerobik ortamda da gelişebilmektedir. Zehirlenme için gıdadaki bakteri sayısının 10^6 cfu/g olması gerekmektedir.

Emetik ve enterotoksin olarak iki farklı toksin oluşturmaktadır. Enterotoksinleri diyare benzeri sendromlara yol açmaktadır. Emetik toksinleri ise kusma benzeri şikâyetlere sebep olmaktadır. Çoğalma ısıları 10-45° C arasındadır. Optimum çoğalma 37°C’de gerçekleşmektedir. Emetik toksinleri ısıya duyarlıdır. Enterotoksinler ısıya dayanıklıdır (Logan ve Rodriguez, 2006). Etkeni toprak olan bir bakteri türüdür ve katalaz, lesitinaz pozitifdir. Çiğ nebati gıdalar başlıca kaynaklarıdır.

Hücreler 1.0-1.2 µm genişlik ve 3.0-5.0 µm uzunluğundadır. Sporları yüksek ısı işlemlere dayanıklıdır. Bu da gıda sanayisinde sorun oluşturmaktadır. 8-10 saatlik bir inkübasyon periyodu vardır. Zehirlenme vakalarında mide bulantısı, kusma, diyare, huzursuzluk görülmektedir. Bu şikâyetler 12-24 saat içerisinde geçmektedir. Emetik toksinlerin alımı, genellikle pişmiş pirinç gibi nişastalı gıdaların tüketimiyle yakından ilgili olmaktadır (Kramer ve Gilbert, 1989).

2.8.3. *Salmonella* spp.

Enterobacteriaceae familyasına aittir. Çubuk formu, gram negatif, birçoğu hareketli, fakültatif anaerobik, katalaz pozitif ve oksidaz negatif özellikte sporsuz bakterilerdir. Isıl işleme duyarlıdır ve 60°C sıcaklıkta 1-6 dakikada elimine olurlar. Etkenleri üç yolla gıdalara bulaşmaktadır. Birincisi, *Salmonella* taşıyıcısı hayvanlara ait gıda ürünleridir. İkincisi, sulama suyu ve gübreleme ile veya çevresal faktörlerle meyve ve sebzelere bulaşabilmektedir. Üçüncüsü ise, çapraz kontaminasyon ile pişmeden tüketilecek besinlere bulaşmasıdır. Kırmızı et, kanatlı et ve ürünleri, çiğ kıymalar, süt ve süt mamülleri, su ürünleri, pastane ürünleri, mamalar, salatalar, hazır yiyecekler, kuru çorbalar, bulaşmada rolü olan besinlerdir (Sağlam ve Şeker, 2016).

Gıda zehirlenmesi vakalarında sıklıkla karşılaşılan bir bakteridir. En yaygın serotipleri *S. enteritidis* ve *S. typhimurium*’dur. *Salmonella*’nın neden olduğu enfeksiyona “Salmonellozis” denilmektedir. Salmonellozis genellikle kontamine çiğ gıdalar tüketen kişilerde ortaya çıkmaktadır. Kontamine olmuş gıdanın tüketiminden sonraki 8-72 saat sürecinde bu semptomlar ortaya çıkmaktadır ve 4-7 gün arasında bu şikâyetlerin çoğu kaybolmaktadır. Semptomları diyare, ateş, abdominal kramptir. Salmonellozis’e karşı işlenecek olan etin orta sıcaklığının 62.8°C olmasına dikkat etmek gerekmektedir (Mann, 2006).

2.8.4. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens, anaerob ortamda üreyebilen, mezofilik karakterde, spor oluşturan, Gram pozitif hareketli bakterilerdir. Katalaz negatif, lesitinaz pozitif özelliktedir. Bu bakterinin termofil sporları pişirme işlemine dayanıklıdır ve toksin-enfeksiyona neden olmaktadır. Bu sporlar pH ve sıcaklık değişimlerine de dayanıklılık göstermektedirler. Doğada çok yaygın olarak su, balık, et, donmuş ürünler, konserve gıdalar, fermente ürünler, hazır gıdalarda bulunmaktadır. En az 10^8 cfu/g dozu zehirlenmeye yol açmaktadır. İnkübasyon süresi 2-24 saat arası değişir. Kirli sular, toprak hava yoluyla bulaşabilmektedir. Zehirlenme belirtileri diyare, ateş, kusma, karın ağrısıdır (Üçok, 2009).

C. perfringens nedenli gıda zehirlenmeleri, kişinin enterotoksijenik *C. perfringens* ile kontamine olmuş gıdayı tüketimi sonrası, bu bakteriye ait etkenlerin ince barsakta çoğalması, spor oluşturması ve enterotoksinlerin meydana gelmesi ile meydana gelmektedir. Kontamine gıda tüketildikten 8-24 saat sonra oluşan intoksikasyonda ishal, mide bulantısı, karın ağrısı ile başlayan semptomlarda 24-48 saat süresi içerisinde iyileşme görülmektedir (Halkman, 2013).

Bu bakterinin kontrolü için ısıtma işlemi uygulanacak gıdalarda sıcaklık olarak 70°C 'nin üstü tercih edilmeli ve sonrasında da personelin hijyen ve sanitasyon kurallarına uyması gerekmektedir. Tekrar ısıtılacak gıdalara 60°C 'nin üzerinde bir sıcaklıkta ısıtma işlemi uygulanması vejetatif bakterilerin öldürülmesi açısından önem taşımaktadır. Etler geniş, kalın bloklar halinde pişirildiğinde, ısının transferi ve ısıtma işlemi sonrası soğuma yavaş gerçekleşeceğinden, ısıtma ile oksijensizleşen gıdada oluşan anaerofilik ortam şartları *C. perfringens*'in gıdada gelişimine çok uygun bir duruma getirmektedir. Ülkemizde sucuk, *C. perfringens* zehirlenmesi potansiyeli taşıyan riskli bir besindir. Önceden soğutulup sonra tekrar ısıtılarak tüketilen ızgara, et suyu, haşlanmış veya hafifçe kızartılmış et, etli börek, salatalar önemli bir *C. perfringens* kaynağıdır (Halkman, 2013).

2.8.5. *Listeria monocytogenes*

Listeria familyası içerisindeki en patojen tür olan *Listeria monocytogenes*, $0,5\ \mu\text{m}$ çap, $1-2\ \mu\text{m}$ uzunlukta, gram pozitif kısa kokobasil, sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerobik özelliktedir. Peritrik flagellalara sahiptirler. En iyi üremeyi $30-37^{\circ}\text{C}$ arasında göstermektedir. Katalaz pozitif, oksidaz negatif bir bakteridir. Ayrıca, Metil-Red, Voges-Proskauer testlerine pozitif, üre testlerine negatif sonuç vermektedirler. % 10 tuz içeriğinde üreyebilmektedirler ve 4°C 'de

%25.5 tuz konsantrasyonunda dört ay boyunca yaşayabildikleri bildirilmiştir. Bu bakteriler için optimum pH gelişim aralığı 7.0-7.3'tür fakat, pH 4.4-9.4 aralıklarında bile yaşayabilmektedirler. *Listeria monocytogenes*'ler 30°C'ye kadar olan sıcaklarda takla atar gibi dönme hareketi ile karakterizedir. Buzdolabı sıcaklıklarında da iyi üremektedirler (Tosun, 2010).

Doğada yaygın olarak bulunmaktadırlar. Tatlı ve tuzlu sularda, lağım sularında, canlı veya çürümüş bitkilerde, hastalık belirtisi göstermeyen taşıyıcı insanlarda, koyun, sığır, ördek, hindi ve tavuk dışkılarında, su ürünlerinde, sinek ve böcek larvalarında bulunabilmektedirler. *Listeria monocytogenes* açısından riskli gıdalar hazır ve soğukta uzun süre depolanmış, yapısında 10² kob/g'dan fazla sayıda *L. monocytogenes* barındıran gıdalardır. Gıda koruyucu katkı maddelerinden etkilenmemesi nedeniyle salgınlar söz konusu olabilmektedir. Enfeksiyonlarından korunmak için ürünün pişirme orta nokta sıcaklığı minimum 72°C'ye çıkmalıdır (Halkman, 2013).

L. monocytogenes, *Clostridium botulinum* ile beraber yüksek oranda ölümlere yol açan iki patojen bakteridir. Tüketilecek gıda 100.000 cfu/g'dan fazla *L. monocytogenes* barındırıyorsa, tüketen kişide Listeriozis ihtimali yüksektir. Genellikle grip ve mide iltihabına benzer belirtiler baş gösterir. Bazı insanları yaklaşık 1000 cfu/g bakteri miktarı dahi ciddi etkileyebilmektedir, hastalık ölümle bile sonuçlanabilmektedir. Her ne kadar, Listeriozis'e süt ve süt ürünlerinin sebep olduğu düşünülmekteyse da, genellikle yarı işlem görmüş su ürünleri olan midye, soğuk tütsülenmiş su ürünleri de zehirlenmeye yol açabilmektedir (Kocatepe ve diğ., 2013).

2.8.6. *Campylobacter jejuni*

Campylobacter türleri hayvanların, özellikle kuşların bağırsaklarında fazlaca doğal olarak bulunmaktadır. Gelişim istekleri bakımından, zor gelişen bir mikroorganizmadır. *Campylobacteraceae* familyasına aittir. Sporsuz, kıvrık çubuk şeklinde, hareketli gram negatif bakterilerdir. Karbohidratları okside veya fermente ederek kullanamamaktadırlar. Katalaz, oksidaz pozitif bakterilerdir. Mikroaerofiliktir ve gelişmesi için %5 O₂, % 10 CO₂ ve %85 N₂ bir ortama ihtiyaç duymaktadırlar. Optimum gelişme sıcaklıkları 42°C'dir. 30°C'nin altında gelişmemektedir. Bu sıcaklık aynı zamanda kanatlı hayvanların vücut ısılarıdır. Bundan dolayı kanatlılarda bu termotrof bakteriye sıklıkla rastlanmaktadır. Tavuklardan izole edilen *C. jejuni*'lerin çoğu patojendir. Neden olduğu hastalığa "Campylobacteriosis" denilmektedir.

Enfeksiyonları kanlı mukozlu diyareye, kusma ve ateşe sebebiyet verir. Zehirlenmeye yol açacak minimum dozun 10^3 - 10^5 arası olduğunu ifade edilmektedir. Kontamine olmuş gıda veya suyun tüketiminden 2-5 gün sonra şikâyetler başlamakta ve yaklaşık 10 gün devam etmektedir. Antibiyotiklere duyarlılıkları hususunda kesin bir düşünce yoktur (Halkman, 2013).

Enfeksiyona aracı gıdalar olarak kabuklu su ürünleri, kümes hayvanları, pastörize edilmemiş süt, et, meyve ve sebzeler olarak listelenebilmektedir. Bu bakteriler, -20°C 'de 5 hafta, oda sıcaklığında ise birkaç gün canlı kalabilmektedirler. Dezenfektanlara dirençsizdirler ve gama ışınlarına hassastırlar. Tam olarak pişmiş ya da ısıtılmış besinlerde canlı kalabilme ihtimalleri yoktur. Kontrolü için çapraz kontaminasyona dikkat edilmelidir. Yapılan geniş çaplı tarama çalışmalarında yetersiz pişmiş ya da tekrar kontaminasyona uğramış tavukların, zehirlenmelerin % 50'sinden fazlasına sebep olduğu bildirilmiştir (Halkman, 2013).

2.8.7. *Escherichia coli* O157:H7

Enterobacteriaceae familyasına aittir. Kısa çomak şeklinde, gram negatif, fakültatif anaerobik ve sporsuzdur. Bazı suşları hareketlidir. *Escherichia coli* mezofiliktir ve 4°C ile 45°C arası üreyebilmektedir. *E. coli* O157:H7 serotipi ise ölümcül enfeksiyonlara neden olmaktadır ve en önemli gıda patojenlerinden birisidir. Sağlıklı sığır dışkılarında çok yoğun olarak bulunmaktadır. Bundan dolayı sığır dışkısı ile kontaminasyona uğramış her türlü gıda büyük risk altında sayılmaktadır. Bunlara su ürünleri de dahildir. Dünyada görülen enfeksiyonların çoğu sığır kaynaklıdır. Bunların tam pişmemiş etleri, pastörize olmayan sütleri bu tehlikeyi taşıyan besinlerden bazılarıdır.

Enfeksiyon nedeni olarak başı, sığır dışkısıyla kontamine olmuş etlerin yeterli ısı işlem uygulanmadan tüketilmesi çekmektedir. Enfeksiyon için minimum infektif doz 10^1 'dir. Enfeksiyon durumunda hemarajik kolitis, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura, sistitis, konvülziyonlar, sepsis ve anemi görülebilmektedir. Enfeksiyonundan korunmada, fekal ve çapraz kontaminasyonun önlenmesi gerekmektedir. Karkasların temiz su veya uygun bir solüsyonla yıkanmasının fekal kontaminasyonu engellediği bildirilmektedir (Sağlam ve Şeker, 2016).

E. coli O157:H7 serotipi diğer *E. coli*'lerden farklı olarak, 42°C ve üzerinde üreyememektedir. Ayrıca, sorbitolü fermente edememektedir. β -glikorunidaz enzimleri

yoktur. Enterohemolizin üretebilmektedirler. *E. coli*'lere göre safra tuzlarına daha hassastırlar. *E. coli* serotiplerinde tipik olan MUG reaksiyonu, *E. coli* O157:H7 serotipinde negatiftir. *E. coli* O157:H7 serotipinde biyokimyasal testlerden, Voges-Proskauer, hidrojen sülfür oluşturma, sorbitol testleri negatif, hareket ve lizin dekarboksilaz, laktoz-glikoz gaz oluşturma, indol, metil red testleri ise pozitif sonuçlanmaktadır (Ertaş ve diğ. 2013). |

Ülkemizde, piyasadan satın alınan salam, sosis, sucuk numuneleri üzerinde yapılan birtakım çalışmalarda koruyucu özellikteki nitrat-nitrita ait kalıntı miktarlarının yasal limitlerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Nitrit, nitrata göre 10 kat daha toksiktir ve özellikle nitrit insan vücudunda karaciğer, akciğer, böbrek, gırtlak, mide ve pankreas kanserlerini tetikleyen nitrosaminleri oluşturmaktadır (Öztürk ve diğ., 2015).

Almanya'da birtakım et ürünlerine nitrit ve nitratın fazla miktarlarda katıldığından ötürü ölümlerin meydana geldiği ve bu yüzden kullanımına belli sınırlamalar çerçevesinde müsaade edildiği bildirilmektedir (Öztürk ve diğ., 2015). Ülkemizde ançüzlerde koruyucu katkı maddesi olarak kullanılmakta olan sodyum benzoatın ise genotoksik olduğu, önemli oranda yüksek bir DNA hasarına neden olduğu bildirilmektedir (Şen ve diğ., 2017; Mamur ve diğ., 2018). Kontrol mekanizmasının insana bırakıldığı sistemlerde toksisiteye sahip geri dönüşü olmayan etkileri bulunan kimyasalların gıdalarda kullanılması büyük risk teşkil etmektedir.

Bu yüzden, insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri gün geçtikçe ortaya çıkan gıda katkı maddesi olarak kullanılan senetetik kimyasal maddeler yerine doğal ve güvenilir yeni katkı maddelerinin keşfine büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Sağlık üzerine birçok olumlu etkileri ispatlanmış deniz algleri gibi doğal maddelerin ihtiva ettikleri biyoaktif maddeler sebebiyle antimikrobiyal ve antioksidatif özellikler gösterdiği konusunda birçok çalışmaya literatürlerde rastlanmaktadır. Doğal ekstraktların gıdalarda sentetik koruyucu katkı maddeleri yerine kullanımı gün geçtikçe daha çok tartışılan ve araştırılan konular arasına girmektedir. Bu araştırmada *Ulva lactuca*'dan elde edilen ekstraktların bu amaçla kullanımı üzerine odaklanılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEME

3.1.1. Ekstraksiyon Denemeleri için *Ulva lactuca* Toplanması ve İşlenmesi

Bu çalışma, ülkemizde deniz marulu olarak bilinen kurutulmuş *Ulva lactuca* 'ların beş ayrı solvent kullanılmasıyla elde edilen ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyal etkilerinin incelenmesi amacıyla İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı'na ait laboratuvarlarda yürütülmüştür.

İthalat yoluyla temin edilen kuru *Ulva lactuca* 'lar ekstraksiyon işlemlerinin başlayacağı tarihe kadar vakum ambalajlama tekniği kullanarak 4°C'de muhafaza altına alınmıştır. Çeşitli kimyasallar kullanarak yapılan ilk ekstrakt üretimi deneme çalışmaları, Marmara Denizi'nden toplanmış olan *Ulva spp.*'ler ile 2018 yılı Nisan ayı içerisinde başlamış olup aynı yılın Eylül ayı içerisinde sonlandırılmıştır. Asıl çalışmada antibakteriyal ve antioksidan etkilerinin incelenmesinde kullanılacak ekstraktların üretimleri yurtdışından temin edilen *Ulva lactuca* 'da yapılmıştır.

Marmara Denizi'nden toplanan *Ulva spp.*'ler 2 hafta süresince açık havada kurutulup ilk ekstrakt denemelerinin yapılacağı Nisan 2018 tarihine kadar -18°C'de saklanmıştır. Toplanmış olan *Ulva spp.*'lere ait yaş ağırlık yaklaşık 5 kg olarak ölçülmüştür. Kurutulduktan sonra bu ağırlığın yaklaşık 1 kg'a kadar fire verdiği görülmüştür. Marmara Denizi'nden toplanıp kurutulduktan sonra vakumlanan örnekler Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de yer almaktadır. Solventler ile muamele edilmesine ait görsele Şekil 3.3'te, evapore edilmesine ait görsele Şekil 3.4'te ve son ürün olan ekstraktların soğuk depolama öncesine ait görsele ise Şekil 3.5'te yer verilmiştir.



Şekil 3.1: Ön deneme çalışmaları için Marmara Denizi'nden toplanan *U. lactuca*'lar.



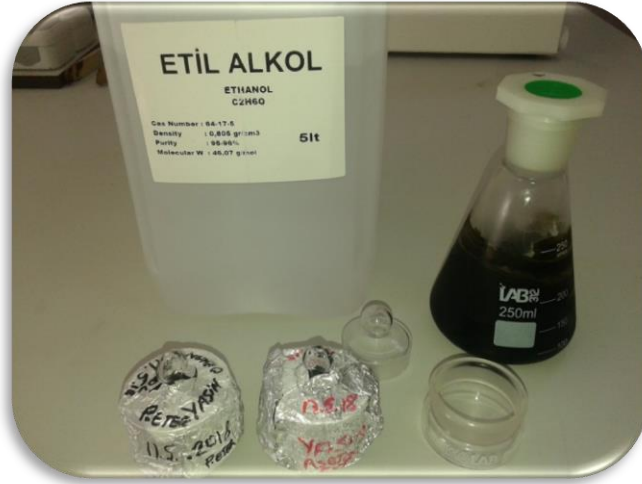
Şekil 3.2: Kurutulup vakumlanan *U. lactuca*'lar. |



Şekil 3.3: İlk deneme çalışmaları; Solvent ile ekstraksiyon işlemi (Aralıksız 48 saat 35 RPM).



Şekil 3.4: Ana çalışma öncesi ilk saf ekstraktın evaporatörde elde edilmesi.



Şekil 3.5: Elde edilen ekstraktların folyolanarak -18°C 'de depolanmasından önce.

Türkiye sularından elde edilen ürünlerde ekstraksiyon prosedürleri konusunda ön denemeler yapıldıktan sonra ithal edilen *Ulva lactuca*'da üretim sürecine geçilmiştir. Üretim sonrası ise elde edilen ekstraktlar üzerinde Kirby Bauer disk difüzyon testleri ve DPPH antioksidan aktivite tayini yapılmıştır ve bu çalışmalar sonrası elde edilen sonuçlar ışığında optimum sonucu veren konsantrasyon ve yöntemle elde edilmiş ekstrakt belli periyotlarda analiz edilecek ançüez ve salama tatbik edilmiştir.

Salamlar 15 günde bir olmak üzere, 90 gün boyunca mikrobiyolojik olarak; Psikrofil bakteri, Anaerob bakteri, Maya ve Küf, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* üremeleri bakımından takip edilmiştir, kimyasal olarak ise pH ve TBA değerleri açısından izlenmiştir.

Ançüez grubu ürünler ise 7 günde bir olmak üzere, 35 gün boyunca mikrobiyolojik olarak; Psikrofil bakteri, Anaerob bakteri, Maya ve Küf, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* üremeleri bakımından takip edilmiştir, kimyasal olarak ise pH, TBA ve TVB-N değerleri açısından izlenmiştir.

3.1.2. Bakteriyel Suşlar

Antimikrobiyal aktivite testlerinde ATC (American Type Culture Collection) 25923 *Staphylococcus aureus* (Microbiologics, Kwik-Stik), ATC 11778 *Bacillus cereus* (Microbiologics, Kwik-Stik), *Campylobacter jejuni* (Microbiologics, Kwik-Stik), ATC 13124

Clostridium perfringens (Microbiologics, Kwik-Stik), ATC 14028 *Salmonella typhimurium* (Microbiologics, Kwik-Stik) .

ATCC 7644 *Listeria monocytogenes* suşu, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü kültür koleksiyonundan, *Escherichia coli* O157:H7 suşu ise İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.



Şekil 3.6: Bakteri suşlarına ait görünüm.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Petrol eter (Isolab), dietil eter (Merck KGaA.), aseton (Merck KGaA.), etanol (Isolab), etil asetat (Carlo Erba), DPPH (Sigma Aldrich), Folin-Ciocalteu reaktifi, Plate Count Agar (Merck KGaA.), Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Merck KGaA.), Mannitol-Egg-Yolk-Polymyxine Agar (MYP Agar), Baird Parker Agar, Tryptic Soy Agar (Merck, KGaA.), Tryptic Soy Broth (Merck KGaA.), Tryptose Sulfite Cycloserine Agar, (Biolife), Lactose Sulfite Medium (Biolife), Yeast Extract Powder (Himedia Ltd.), Peptone From Meat (Himedia Ltd.), Mueller Hinton Agar, 2-Thyobarbitüric asit (Fluka GmbH), trichloroacetic asit (Merck KGaA.), %1'lik fenolfitaleyn, %3'lük borik asit, %20'lik sodyum hidroksit, 0.01 N hidroklorik asit, sodyum benzoat (Alfasol), fosfat (Tunçkaya A.Ş.) nitritli tuz (Tunçkaya A.Ş.), askorbik asit (Sigma Aldrich).

3.1.4. Algerin Temin Edilmesi

2-3 mm boyutlarında kurutulmuş pul formundaki *U. lactuca*'lar Çin Halk Cumhuriyeti'nde HACCP standartlarında üretim yapmakta olan Fuzhou Beautiful Agricultural Development Co., Ltd. firmasından "Food Grade" olarak 20 kg miktarında temin edilmiştir ve 4°C'de çalışmaların başlama tarihine kadar depolanmak üzere vakum ambalajlanarak soğuk hava deposunda saklanmıştır.



Şekil 3.7: *Ulva lactuca*'lara ait ambalaj görüntüleri ve HACCP, Bitki Sağlık Sertifikası.



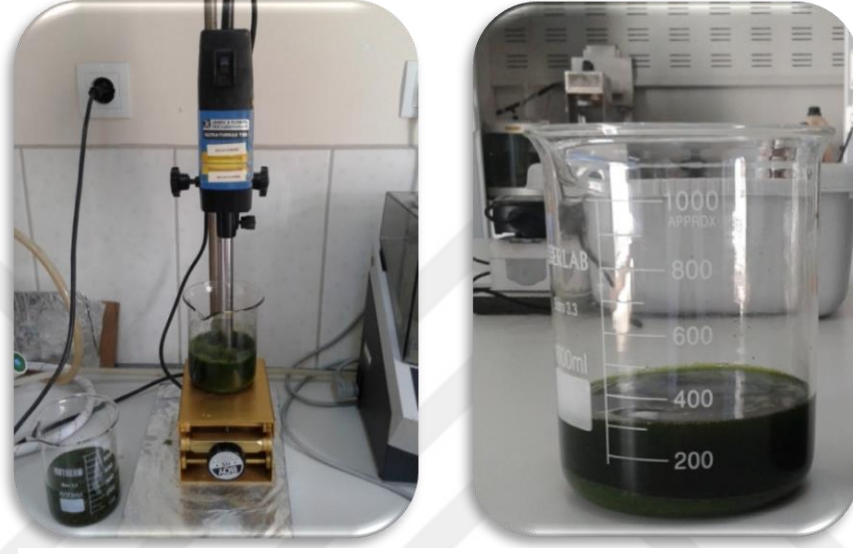
Şekil 3.8: Vakum cihazı ve deniz marullarının vakum ambalajlanması sonrası görünümü. |



Şekil 3.9: Vakum ambalajlanan deniz marullarının soğuk hava deposunda stoklanması. |

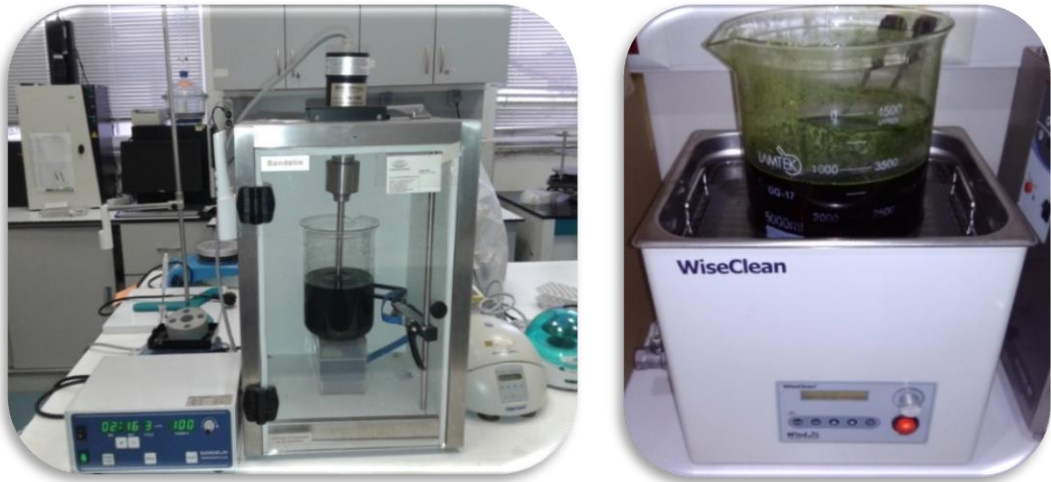
3.1.5. Ekstraksiyon İşlemi

Ekstraksiyon işlemi için kurutulmuş deniz marulları, solvent olarak petrol eter (Isolab, Germany), dietil eter (Merck, Germany), etil asetat (Carlo Erba, Italy), etanol (Panreac, Spain) ve aseton (Merck, Germany) (1:4) içine bırakıldıktan sonra 20 dakika boyunca IKA Ultra Turrax (Janke&Kunkel, T-25, Germany) cihazıyla işleme tabi tutulmuştur.



Şekil 3.10: Ultra-Turrax işlemi ve sonrasına ait görünüm.

Hemen ardından ise, ilgili solvent ve deniz marulunu içeren ekstraksiyon sıvısına 30 dakika boyunca ultrasonik törde (Bandelin HD 2200, Germany ve WiseClean WUC-D10H, Korea) işlem uygulanmıştır.



Şekil 3.11: Ekstraksiyon sıvısına ultrasonik işlem uygulanmasına ait görünümler.

Ekstraksiyon sıvısı, ultrasonik işlem süresi sonunda otomatik karıştırıcıya aktarılmıştır ve otomatik mekanik karıştırıcıda (Daihan SH 100D, Güney Kore) 650 rpm dönme kuvvetinde doğrudan ışık almayacak şekilde beherin etrafının tamamı alüminyum folyo ile kapatılarak 48 saat boyunca karıştırılmıştır.

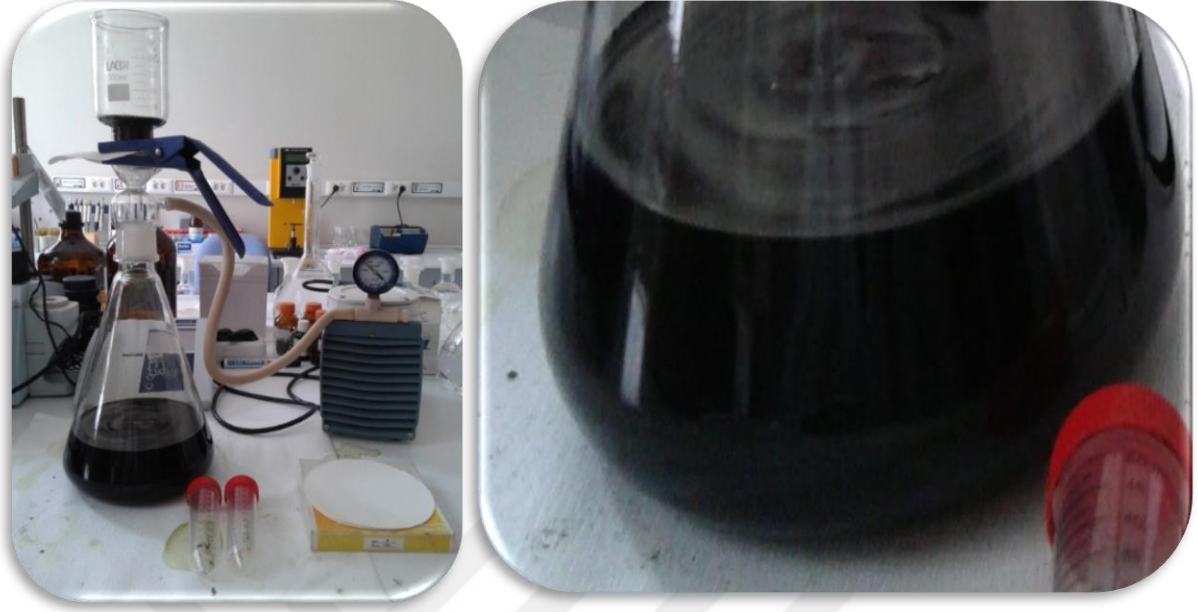


Şekil 3.12: Ekstraksiyon sıvısına otomatik karıştırma işlemi uygulanması.

Otomatik mekanik karıştırıcıdaki 48.saatin sonunda ise, ekstraksiyon sıvısına filtrasyon işlemi uygulanmıştır. Filtrasyon işlemi, 589/1 Schleicher & Schuell, Schwarzband 110 mm, <2mm filtre kâğıdı kullanarak vakum filtre cihazında gerçekleştirilmiştir. Vakum filtre sonrası ekstraksiyon sıvısı pulcuk ve toz formundaki *Ulva lactuca* parçacıklarından tamamen arınmış hale getirilmiştir. Sıvının rengi filtrasyon sonrası Şekil 3.14'deki gibi homojen koyu yeşil renkte oluşmuştur.



Şekil 3.13: Vakum filtrasyonda kullanılan filtre kâğıdı tipi.



Şekil 3.14: Ekstraksiyon sıvısının vakum filtre cihazıyla filtre edilmesi.

Filtrasyon işlemi sonrasında elde edilen sıvı, içindeki çözen maddenin uzaklaştırılması için bekletilmeden her solventin kendi kaynama noktasında evapore edilmiştir. Bu işlem için Buchi, R3000, Switzerland ve vertikal tip Wisd WEV-1001V, China, model rotary evaporatörler kullanılmıştır.



Şekil 3.15: Ekstrakttaki çözen maddelerin buharlaştırılarak uzaklaştırılması işlemi. |



Şekil 3.16: Solventlerin buharlaştırılması sonucu elde edilen *U. lactuca* ekstraktına ait görünümler.

Tablo 3.1: Beş farklı ekstraktın evaporasyon işleminde tabi tutuldukları sıcaklıklar.

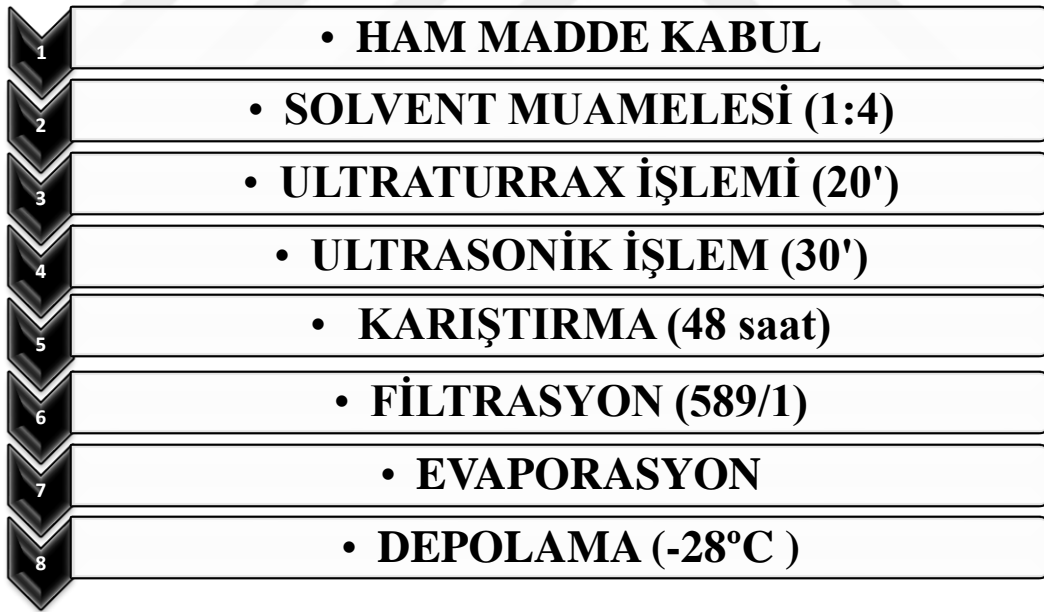
Solvent Çeşidi	I.Evaporasyon Sıcaklığı	II. Evaporasyon Sıcaklığı
<i>Dietil Eter</i>	34°C	44°C
<i>Petrol Eter</i>	60°C	70°C
<i>Aseton</i>	56°C	66°C
<i>Etil Asetat</i>	77°C	85°C

Elde edilen ekstraktların fiziksel yapısı, hafif alg kokulu, koyu yeşil renkli, yapışkan ve zift kıvamında olduğu görülmüştür. Evaporasyon sonucu erlen ve balonlarda elde edilen ekstraktların üretim tarihleri, hangi solventle muamele edildiği ve parti net verim oranları bilgileri üzerlerine etiketlenerek, alüminyum folyo ile kaplanarak, cam erlen ve balonlarda ağzı parafinlenerek çalışma gününe kadar -28°C'de derin dondurucuda Şekil 3.17'deki gibi muhafaza altına alınmışlardır.



Şekil 3.17: Ekstraktların folyo ile sarılarak derin dondurucuda (-28°C) muhafaza edilmesi

Beş ayrı solvent ile yapılan, *Ulva lactuca*'dan beş farklı ekstrakt üretim çalışmaları tamamlandıktan sonra, bu ekstraktların antimikrobiyal ve antioksidatif etkileri disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir.



Şekil 3.18: Ekstraksiyon işlemi iş akış şeması.

3.1.6. Disklerin Hazırlanması

Disk Diffüzyon Yöntemi'ne hazırlık amacıyla, petrol eter, dietil eter, aseton, etil alkol ve etil asetat ile 5 ayrı ekstrakt elde edilmiştir. Laminar hava akışlı kabin içerisinde bek alevi altında, ekstrakte edildiği solventlerle hazırlanan 10 mg/mL konsantrasyondaki ekstrakt 6 mm çapındaki steril antimikrobiyal duyarlılık test disklerine (Bioanalyse Limited, Turkey) mikropipet ile emdirilmiş ve yine bek alevi altında steril kabin içerisinde 1 saat solventin diskten buharlaşıp kuruması beklenmiştir. Kurutma işlemi gerçekleşmiş, konsantrasyonları ayarlanmış farklı solventlerle elde edilmiş ekstrakt yüklü diskler steril cam petripler içerisinde -28°C'de Disk Difüzyon Testi'nin yapılacağı tarihe kadar derin dondurucuda muhafaza altına alınmıştır.

Bu konsantrasyon, ekstraktın koruyucu katkı maddesi olarak tatbik edilecek son ürünler olan salam ve ançüzlerin ağırlıklarının %1'ine karşılık gelecek şekilde planlanmıştır. Ayrıca, pozitif kontrol amacıyla besiyerlerine yerleştirilmek üzere steril chloramphenicol 30 µg/disk (Liofilchem s.r.l., Italy) ve ciprofloxacin 5µg/disk (Liofilchem s.r.l., Italy) referans antibiyotik diskler temin edilmiştir.



Şekil 3.19: Steril disklere ekstraktın yüklenmesine ait çalışmadan bir görünüm.



Şekil 3.20: Çalışmada kullanılan antibiyotik ve blank diskler.

3.1.7. Ançüez

3.1.7.1. Ançüez için Malzemelerin Tedarik Edilmesi ve Ön Hazırlık İşlemleri

Dünyada, tuzlanmış balıktan yapılan gıda ürünlerinin geneli “Ançüez” olarak adlandırılmaktadır. Ülkemizde ise biraz farklı olarak, tuzlama işleminden geçmiş balıkların baharat, şeker ve katı yağ ilaveleriyle beraber ezme haline getirilmesiyle oluşan bir gıda ürünü olarak bilinmektedir (Mol ve Özden, 2011).

Sodyum benzoat yerine, antioksidatif ve antimikrobiyal etkinliğinin test edilmesi amacıyla %1 oranında *Ulva lactuca* ekstraktının kullanılacağı ançüezde, hammadde olarak 26 Mayıs 2019 tarihinde temin edilen 6 kg sardalya balığı kullanılmıştır. Balıklar, Başak Su Ürünleri Ltd. Şti.’den (İstanbul) polistiren kutuda taze soğutulmuş olarak temin edilmiş ve 1 saat içinde ayıklanmıştır. Hemen ardından, 1 saat 4°C’de tuz içeren buzlu su içerisinde kan giderme işlemi yapılmış ve 1 saatlik sürenin sonunda musluk suyuyla tekrar yıkanarak kirlilik unsurlarından arındırılan balıklar derin dondurucuda -18°C’de şoklanmıştır.

Ançüez üretimi için gerekli olan tuzlama işleminin yapılacağı güne kadar -18°C’de muhafaza altına alınmıştır. Ayıklama sonrası fire oranının yaklaşık % 40 olduğu görülmüştür. Ürünler soğuk zincirleri kırılmadan 1 saatlik süreçte İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Analiz Laboratuvarı’na getirilmiştir.



Şekil 3.21: Tedarik edilen balıklar ve ayıklanmış hallerine ait görünüm.

Balıklar tedarik edildikten sonra, ançüz yapımında gerekli olan malzemeler ve sentetik katkılı grupta koruyucu katkı maddesi olarak kullanılacak olan sodyum benzoat (Alfasol, Türkiye) temin edilmiştir. Üretilen ançüzlerin ambalajlanması için ise 40 adet 30 cc'lik cam kavanozlar otoklavda steril edilerek hazırlanmıştır.

Ançüzler iki grupta üretilmiştir. Bunlar katkı maddesi olarak sodyum benzoat ve askorbik asitin kullanıldığı sentetik katkılı ançüzler (SA) ve sodyum benzoat, askorbik asit yerine *Ulva lactuca*'nın aseton kullanarak ekstrakte edilmiş ekstraktının kullanıldığı algi ançüz (AA) grubudur.

Ulva lactuca ekstraktı, ançüzde ürünün %1'ini teşkil edecek oranda kullanılmıştır. Ançüz yapımında gerekli diğer malzemelerden olan, tereyağ, limon suyu, beyaz karabiber, pişmiş katı yumurta sarısı, askorbik asit de (Sigma Aldrich, Germany) tedarik edilerek üretim için hazır hale getirilmiştir. Algi grup için ise aseton kullanarak elde edilmiş ekstrakt, miktarı ayarlanarak hassas terazide (AND, GR-200, Japan) hazırlanmıştır.



Şekil 3.22: Ekstraktın konsantrasyonunun ayarlanması.

Asıl üretim aşamasına geçmeden önce Mayıs 2019'da İstanbul-Yenikapı Balıkçılar Çarşısı'ndan temin edilen taze soğutulmuş sardalya balıklarından kuru tuzlanarak yapılan üretim ön deneme çalışmalarında, asıl çalışma için üretilmesi planlanan ançüz ürün terkininin aşağıda Tablo 3.2'de yer aldığı gibi olması belirlenmiştir.

Ayrıca, ön deneme işlemleri sürerken son üründe arzu edilen tuz oranının tespiti için ayrı bir kuru tuzlama işlemi yapılmış ve sonrasında tuzlamadan çıkan sardalya balıkları gruplanarak sırasıyla 30 dakika, 45 dakika, 60 dakika ve 90 dakika suda bekletilerek duysal olarak tuzluluk açısından değerlendirilmiştir. Bu işlem sonucunda arzu edilen tuz oranına, tuzlanmış balıkların 60 dakika suda bekletilmesi neticesinde ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bu ön üretim deneme çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ışığında asıl üretim aşamasına geçilmiştir.

Tablo 3.2: Ançüz gruplarına ait formülasyonlar.

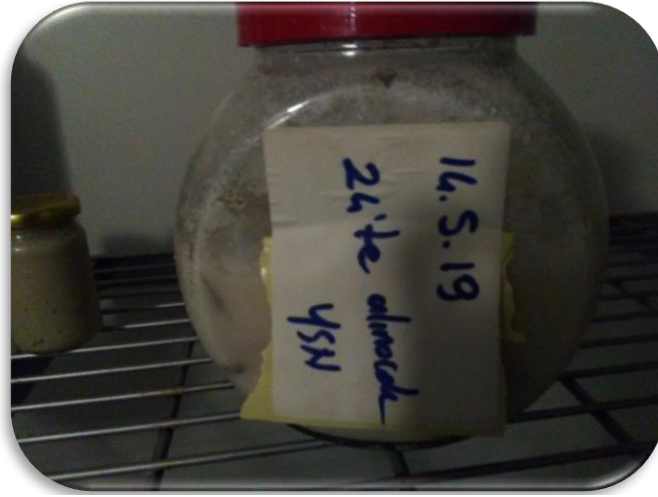
SENTETİK KATKILI ANÇÜZ (SA)	
MALZEMELER	MİKTAR
Sardalya balığı	500 g
Tereyağı	250 g
Beyaz karabiber	3 g
Limon suyu	15 mL
Yumurta sarısı	6 adet
Askorbik asit	0.66 g
Sodyum benzoat	0.844 g

ULVA EKSTRAKTLI ANÇÜZ (AA)	
MALZEMELER	MİKTAR
Sardalya balığı	500 g
Tereyağı	250 g
Beyaz karabiber	3 g
Limon suyu	15 mL
Yumurta sarısı	6 adet
Askorbik asit	X
Sodyum benzoat	X
<i>U.lactuca</i> ekstraktı	8.45 g

3.1.7.2. Kuru Tuzlama Aşaması

Ançüez üretimi öncesi, kuru tuzlamaya hazırlık olarak, üretim işlemini öncesinde ayıklanan ve temizlenen sardalya balıkları derin dondurucudan çıkarılmış ve 1 saat kadar çözünmeleri oda sıcaklığında beklenmiştir. Çözünme işleminin hemen ardından balıkların suları süzdürülerek karınca baş tipi kaya tuzunda et ve deri tarafları tuzla iyice temas edecek şekilde harmanlanarak kuru tuzlama işlemi yapılmıştır. Olgunlaştırma işlemi ise 4°C'de 20 gün sürmüştür. Tuzlama çeşidi olarak yoğun tuzlama tercih edilmiştir ve bu işlem için cam kavanozlar kullanılmıştır.

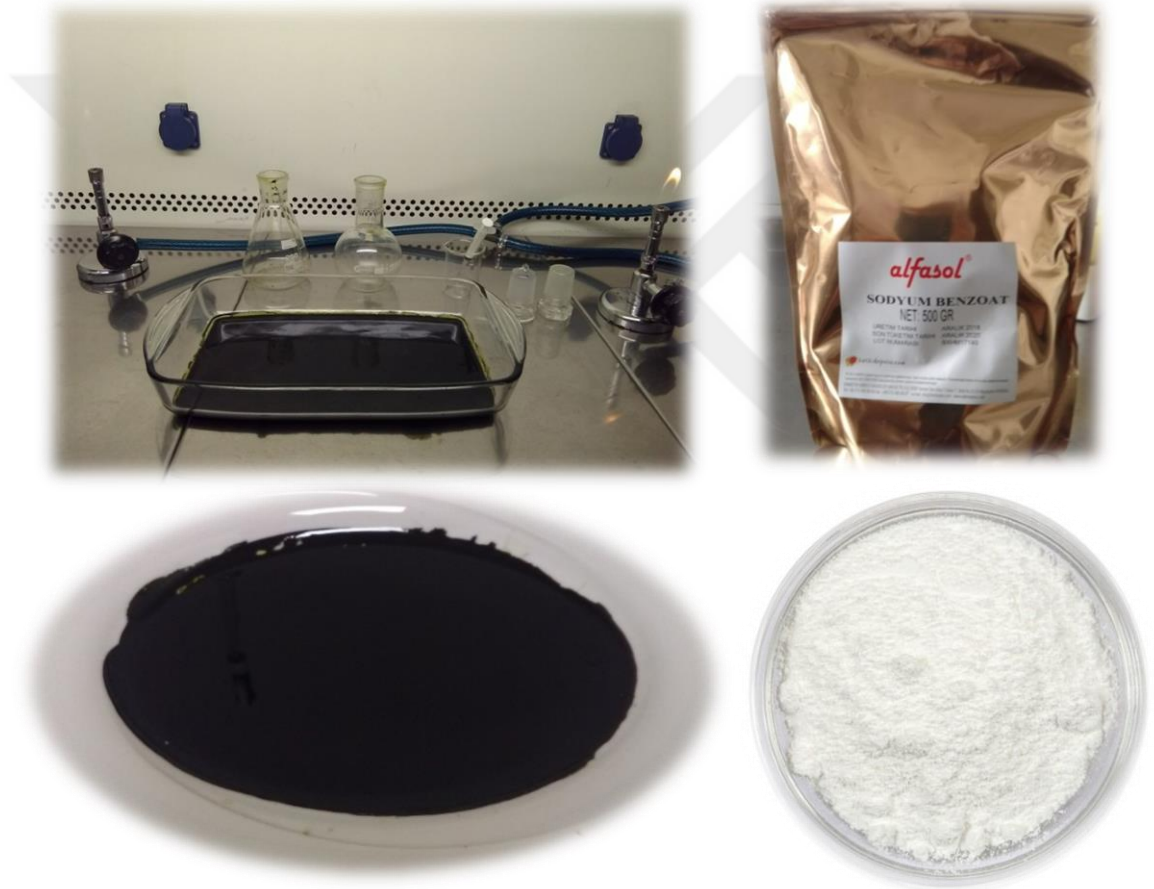
Öncelikle cam kavanozun dibine taban kısmını iyice kaplayacak şekilde yaklaşık 1cm kalınlığında tuz tabakası oluşturulmuştur. Bu tuz tabakasının üstüne ilk sıra balıkların derileri alta gelecek şekilde bir sıra dizilmiştir. Bu sıranın üzerine tekrar tuz dökülerek bu defa derileri yukarı bakacak şekilde balıklar dizilmiştir. Bu şekilde işlem kavanoz doluncaya kadar bir kat tuz bir kat balık olarak dizilerek devam etmiştir. Cam kavanozun en üst kısmındaki balıkların derilerinin dışa bakması ve üzerlerinin kalın bir tuz tabakasıyla kapatılması sağlanarak kapağı kapatılıp olgunlaşması beklenilmiştir.



Şekil 3.23: Sardalya balıklarına kuru tuzlama işleminin uygulanması.

3.1.7.3. Ançüez (Ançüez Ezmesi) Üretim Aşaması

Tuzlama işlemi sonunda balıklar musluk suyu altında yıkanarak tuz oranının son üründe istenen tuz konsantrasyonuna indirgenmesi için 1:5 (balık/su) oranında 60 dakika boyunca buzlu musluk suyunda 4°C’de plastik bir tank içerisinde bekletilmiştir ve hemen ardından ançüez yapım işlemine geçilmiştir. İlk iş olarak hammaddede kullanılacak olan tuzlamadan çıkan balıklardan numune alınarak, bu numuneler üzerinde *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes* aranmış olup, netice olarak bu bakterilerin hammaddede tespit edilmediği saptanmıştır.



Şekil 3.24: Ançüezde kullanılmak üzere *Ulva lactuca* ekstraktı ve sodyum benzoat.

Tuzlanmış balıklar laboratuvar tipi mekanik rondoya (Waring WFP 14SE, USA) atılıp iyice hamur haline gelinceye kadar çekilmiştir. Daha sonra tabloda yer alan ingredientler belirlenen miktarlarda buz ilavesiyle birlikte karıştırılmıştır (Bkz. Şekil 3.25).



Şekil 3.25: Kavanozlaşma öncesi ve sonrası ançüzeler.

Balık eti ve diğer ingredientlerden oluşan hamurun homojen olarak karıştığına emin olunduktan sonra, 30 cc'lik steril cam kavanozlara her bir kavanoz yaklaşık 30 g olacak şekilde krema torbasıyla dolmaları Şekil 3.26'daki gibi gerçekleştirilip kapakları kapatılmıştır.



Şekil 3.26: Kavanozlanmış algli ve sentetik katkı ançüzeler.

Kavanozlaşma sonrası 4°C'de soğuk hava deposunda analiz günlerine kadar bekletilmiştir. Analiz sıklığı ançüzelerde 7 gün olarak belirlenmiştir. Her analiz günü pH, TBA, TVB-N, duysal ve mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır.



Şekil 3.27: Ürünlerin soğuk hava deposunda analiz gününe kadar muhafaza edilmesi.

3.1.8. Salam

3.1.8.1. Salam için Malzemelerin Tedarik Edilmesi ve Ön Hazırlık İşlemleri

Nitritli tuz yerine, antioksidatif ve antimikrobiyal etkinliğinin test edilmesi amacıyla %1 oranında *Ulva lactuca* ekstraktının kullanılacağı tavuk salamında hammadde olarak 19 Mayıs 2019 tarihinde temin edilen tavuk etinin but incik kısmı kullanılmıştır.

Yaklaşık 6 kg tavuk eti, Bim A.Ş'den (İstanbul) jelâtin streçle kaplı polistiren kutuda taze soğutulmuş olarak temin edilmiştir. Ürünler soğuk zincirleri kırılmadan 1 saatlik süre içerisinde İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Proses Laboratuvarı'na getirilmiştir.

Öncelikle salamlarda hammadde olarak kullanılacak olan çiğ tavuk etlerinden steril bir şekilde numune alınarak, bu numunelerde *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes* ve termotolerant *Campylobacter spp.* testleri yapılmıştır.

Netice olarak, çiğ tavuk etinde *Campylobacter spp.* tespit edilmiştir, diğer bakterilerin ise hammaddede tespit edilmediği rapor edilmiştir. Ürünün ısı işlem görmesi sonrası tüm pişmiş salam gruplarında tekrar aynı mikrobiyolojik analizler tekrarlanmış, sonuç olarak tüm gruplara ait son ürünlerde analizi yapılan hiçbir bakteri türü tespit edilmemiştir. *Campylobacter spp.*'nin elimine olmasında Halkman (2013) bildirdiğine göre salamlara uygulanan ısı işlemin etkin rol oynadığı düşünülmektedir.



Şekil 3.28: Tedarik edilen tavuk etleri.

Salam yapımı için gerekli diğer malzemelerden olan tavuk derisi, ayçiçek yağı, nişasta, tuz, askorbik asit, beyaz karabiber, zencefil, muskat, şeker, sodyum polifosfat, smoke aroması, nitritli tuz hazırlanmıştır. Salamların doldurulması işlemi için plastik dolum kılıfları ve dilimlenip soğuk muhafazası için de Systech 8000 (Systech Instruments Ltd, A.B.D.) cihazı ile ölçüme göre 175 ve 194 mL/m²/gün özellikteki bariyerli düşük yoğunluklu polietilen / etilen vinil alkol vakum poşeti (LDPE / EVOH) ve ambalaj tabanı için folyo kaplı karton tedarik edilmiştir.



Şekil 3.29: Salam dolumunda ve paketlenmesinde kullanılan ambalaj malzemeleri.

3.1.8.2. Salam Üretim Aşaması

Salam için gerekli tüm malzemeler temin edildikten sonra aynı gün üretime başlanmıştır. Salamlar iki grupta üretilmiştir. Birinci grupta yer alan salamlarda koruyucu katkı maddesi olarak nitritli tuz ve askorbik asit, ikinci grupta yer alan salamlarda ise nitritli tuz ve askorbik asit yerine *Ulva lactuca*'nın aseton kullanarak elde edilmiş ekstraktı, ürünün %1'ini teşkil edecek oranda kullanılmıştır. Katkı maddesi olarak nitrit içeren salamlara ait bulgular bu çalışmada sentetikli salam (SS) grubu adı altında değerlendirilmiştir.



Şekil 3.30: Nitritli tuz ve *U. lactuca* aseton ekstraktının hazırlanması.

Çeşitli literatür verileri arasında yapılan araştırmalar neticesinde üretim ön denemeleri yapılmış, renk, tekstür ve lezzet test edilmiş ve analiz için üretilecek olan tavuk salamında Tablo 3.3'de yer alan formülasyonun uygulanması kararı alınmıştır. Salam yapım işine başlangıç olarak öncelikle ambalajlarından çıkarılan tavuk etleri kuşbaşı doğranmıştır ve hemen sonra rondoda parçalanarak hamur haline getirilmiştir. Salam hamuruna aşağıda tabloda yer alan ingredientler ilave edilmiştir. Salam hamuru, laboratuvar tipi otomatik rondo marifetiyle düzenli olarak buz ilave edilerek karıştırılmıştır.



Şekil 3.31: Kuşbaşı doğranan etler.



Şekil 3.32: Ürüne ilave edilen yaprak buzlar.

Tablo 3.3: Sentetik ve algli salam gruplarında kullanılan formülasyonlar.

SENTETİK KATKILI SALAM (SS)	
MALZEMELER	MİKTAR
Tavuk Eti	750 g
Deri	50 g
Buz	225 g
Ayçiçeği Yağı	56 mL
Nişasta	45 g
Tuz	17 g
Şeker	3 g
Beyaz Karabiber	3 g
Zencefil	2 g
Muskat	2 g
Sodyum Polifosfat	5.66 g
Askorbik asit	0.66 g
Nitritli Tuz	17 g
Smoke Aroması	0.66 g

ALGLİ GRUP SALAM (AS)	
MALZEMELER	MİKTAR
Tavuk Eti	750 g
Deri	50 g
Buz	225 g
Ayçiçeği Yağı	56 mL
Nişasta	45 g
Tuz	17 g
Şeker	3 g
Beyaz Karabiber	3 g
Zencefil	2 g
Muskat	2 g
Sodyum Polifosfat	5.66 g
<i>Ulva lactuca</i> ekstraktı	11.45g
Smoke Aroması	0.66 g
Askorbik asit	X
Nitritli Tuz	X



Şekil 3.33: Sentetik katkı (solda) ve algli salam gruplarına ait salam hamurları.

Salam hamurunun iyice homojen olarak karıştığından emin olunduktan sonra, salam hamuru metal uçlu krema torbası vasıtasıyla 50 kalibrelik plastik kılıflara sıkıca ve hava kalmayacak şekilde Şekil 3.34'deki gibi doldurularak kılıf uçlarından kapatılmıştır.



Şekil 3.34: Pişirme işlemi öncesi kılıflara dolmaları yapılmış salamlar.

Kılıflara dolumu yapılan salamlar buharla pişirme işlemi için, süre ve maruz kalacağı sıcaklığı ayarlanabilen otoklavotoklav (ALP CL-40, Japan) içine dikey olarak asılarak yerleştirilmiştir. Her iki grup salam da 85°C’de 120 dakika ısıl işleme tabi tutulmuştur.



Şekil 3.35: Salamlara ısıl işlemin uygulandığı otoklav.

Pişirme süresi sonunda, dijital saplamalı bir termometre ile ürünlerin orta nokta sıcaklıkları kontrol edilmiştir. Bu sıcaklıklar Sentetik katkılu gruba ait salamlarda batonun üst kısmında 80°C alt kısımda ise 84.6°C olarak ölçülmüştür. Algli grup salamlarda ise batonun üst kısmında orta nokta sıcaklığı 82.3°C, alt kısmındaki orta nokta sıcaklığı ise 87.2°C olarak ölçülmüştür. Daha sonra baton salamlara 20°C’de 45-60 dakika bekletilmek suretiyle soğutma işlemi uygulanmıştır.



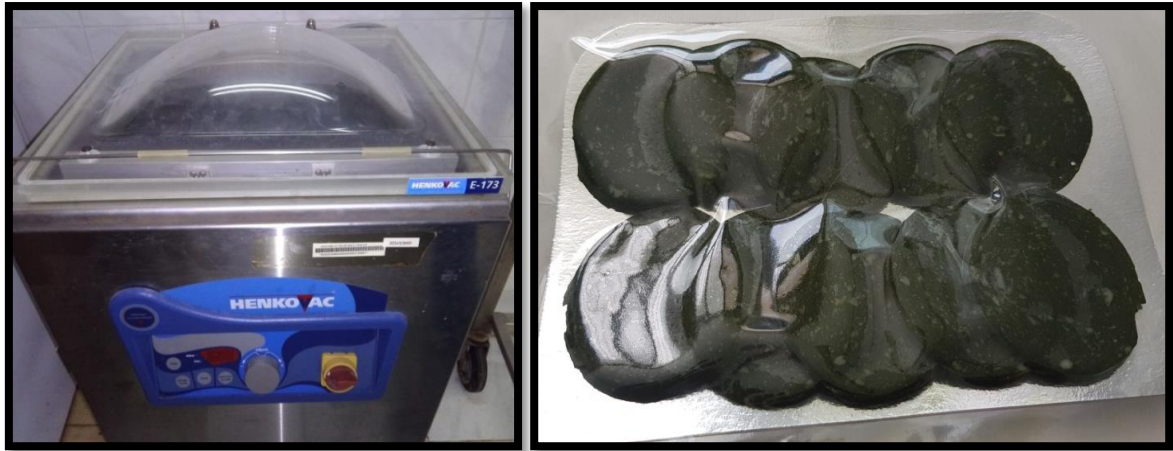
Şekil 3.36: Pişirilmiş salam gruplarının soğutma işlemi uygulanması ve iç yapısı.

Soğutma işleminden sonra salamlar Şekil 3.37'deki gibi eşit kalınlıkta dilimlenerek folyo kaplı kartonlar üzerine 50 g olarak tartılarak vakum paketlenme cihazıyla (HenkoVac E-173, The Netherlands) Şekil 3.38'deki gibi ambalajlanmıştır.



Şekil 3.37: Vakumlanma öncesi dilimlenmiş Sentetik katkıli(solda) ve Algli salamlar.


Ambalajlama sonrası 4°C'de soğuk hava deposunda Şekil 3.39'daki gibi analiz günlerine kadar bekletilmiştir. Analiz sıklığı tavuk salamlarında 15 gün olarak belirlenmiştir. Her analiz günü pH, TBA, duyuşal ve mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır.



Şekil 3.38: Ürünlerin vakum paketlenmesi.



Şekil 3.39: Vakum ambalajlanmış ürünlerin soğuk hava deposunda muhafaza edilmesi.




Polinas

BARIYER FİLMLER

POLIBARR®

Y10C1B



Filmin Tanımı:
Pollamid içeren, tek taraf yapışmalı beyaz film

Özellikleri ve Kullanım alanları:

- Tek taraf koronal
- Mükemmel parlaklık ve düşük pusluluk
- Hot tack özelliği
- Vakum ve modifiye atmosfer paketleme proseslerine uygun
- İşletilmeye uygun

• Taze peynir ve işlenmiş et gibi yüksek oksijen bariyeri gerektiren ürünler ve medikal ürünlerin ambalajları için ideal

Üretilen Kalınlıklar (mikron): 90

Özellikler	Birim	Tipik Değerler	Test Metodu
Kalınlık	mikron	90	POLINAS PKG/KGM 101
	mil	3,60	
Verim	m ² /kg	11,3	POLINAS PKG/KGM 103
	in ² /lb	8.000	
Birim Ağırlık	gr/m ²	88,2	
Toplam Işık Geçirgenliği	%	30	ASTM D 1003
Parlaklık (45°)	% F	60	ASTM D 2457
	kg/mm ² MD	min 3	
Gerilme Direnci (Kopmada)	TD	min 2	ASTM D 882
	MD	min 4.260	
Uzama (Kopmada)	TD	min 2.840	ASTM D 882
	MD	min 400	
İsİÇekme (120° C, 5 dk.)	TD	min 400	ASTM D 882
	MD	1	
Oksijen Geçirgenliği	cc/m ² /gün	160	ASTM E 96
	cc/100 in ² /gün	10	
Nem Geçirgenliği	gr/m ² /gün	8,50	ASTM D 1434
	gr/100 in ² /gün	0,55	
Sürtünme Katsayısı	FF	-	POLINAS PKG/KGM 109
	BB	0,20	
İsİYapışma Aralığı	°C	-	POLINAS PKG/KGM 104
	°F	110	
	°C	-	
	°F	230	
Yüzey Gerilimi	F	38 ± 2	ASTM D 2578
	B	-	

* F: Ön Yüz (PA yüzü) – B: Arka Yüz (PE Yüzü)

Bu Teknik Bültekte belirtilen tüm bilgiler, su anki bilgi ve tecrübeler doğrultusunda geçerlidir. Ürünlerimizin kullanım alanlarındaki ortam ve şartlar, kontrolümüz dışındaki olduğu için belirtilen bilgi ve öneriler garanti kapsamında değildir. Ancak daha geniş ve güncel bilgiler, firmamız yetkililerinden temin edilebilir. Lütfen ilgili tolerans değerleri ve diğer kalınlıklar için Satış ve Pazarlama Müdürlüğümüz'e başvurunuz.

Merkez: Organize Sanayi Bölgesi, 45010 Meniş - Tel: (236) 233 04 70 (pbx) - Fax: (236) 233 52 52 - e-mail: info@polinas.com.tr
 İstanbul Ofis: Mecidiyeköy İş Merkezi, Şehit Ahmet Sokak No: 4 Kat: 13 80310 Mecidiyeköy - İstanbul - Tel/Fax: (212) 288 95 35 - 36
www.polinas.com

Şekil 3.40: Vakum ambalaj poşetlerine ait teknik özellikler.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Petrol eter (Isolab, Germany), dietil eter (Merck, Germany), etil asetat (Carlo Erba, Italy), etanol (Panreac, Spain) ve aseton (Merck, Germany) ile elde edilmiş ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin tespit edilmesi için yapılacak olan Disk Difüzyon testlerinin uygulanacağı bakterilerin dördü gram pozitif, 3 adeti ise gram negatif olmak üzere toplam yedi adettir. Bakteri gruplarına Tablo 3.4’de yer verilmiştir.

Bu test, Bauer ve diğ. (1966) yönteminden bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Test besi ortamı olarak bakteriler için Tablo 3.4’de belirtilen besiyerleri tercih edilmiştir. Analizde kullanılacak bakteri kültürlerini tazelemek amacıyla ise Tablo 3.4’de yer alan canlandırma besiyerleri kullanılmıştır.

Tablo 3.4: Çalışmada kullanılan ön zenginleştirme ve test besiyerleri ve bakteri sınıflandırmaları.

Grup	Mikroorganizma	Canlandırma Besiyeri	Test Besiyeri
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	TSB	Mueller Hinton Agar
Gram (-)	<i>Salmonella typhimurium</i>	TSB+%0.6 Yeast Extract	TSA+%0.6 Yeast Extract
Gram (-)	<i>Campylobacter jejuni</i>	TSB+ %0.6 Yeast Extract	TSA+ %0.6 Yeast Extract
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	TSB+%0.6 Yeast Extract	TSA+%0.6 Yeast Extract
Gram (+)	<i>Listeria monocytogenes</i>	TSB+%0.6 Yeast Extract	TSA+%0.6 Yeast Extract
Gram (+)	<i>Bacillus cereus</i>	TSB+%0.6 Yeast Extract	TSA+%0.6 Yeast Extract
Gram (+)	<i>Clostridium perfringens</i>	Lactose Sulphit Medium	TSC Agar, TSA, TSA+Y, MHA

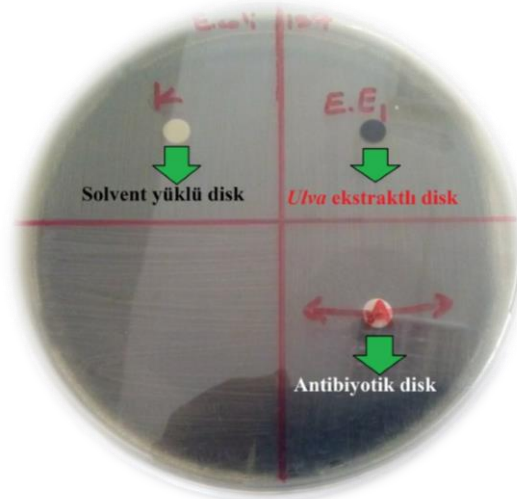
Öncelikle, teste hazırlık olarak stok kültürlerinden alınan bakteri suşları 10 mL buyyon içerisinde süspanse edilmiş ve her bakteriye ait kendi inkübasyon sıcaklığında etüvde 24 saat bekletilerek taze bakteri kültürünün oluşması sağlanmıştır. 24 saatlik sürenin sonunda bakteri süspanasyonu alınarak steril serum fizyolojik ile McFarland 0.5 (-1.5×10^8 cfu/mL) standardına, microplate spektrofotometre (Bio-Tek, µQuant, USA) cihazıyla her bakteriye ait optik yoğunluk değerinde ayarlama yapılmıştır. *Escherichia coli* O157:H7 dışındaki bakteri türleri Mueller Hinton Agar’da üremediği için veya çok zayıf bir üreme olduğu için alternatif bir besiyeri bulma çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucu ortaya yukarıda Tablo 3.4’de yer alan besiyerlerinde bakterilerde optimum seviyede üremenin sağlanmış olduğu tespit edilmiştir ve yapılacak olan disk difüzyon testlerinin bu besiyeri ortamlarında gerçekleştirilmesi kararı alınmıştır.



Şekil 3.41: McFarland 0,5'e ayarlama aşaması.

Daha sonra, 100 μ L pipetlenen bakteri süspansiyonuyla 4.00 mm \pm 0.50 mm'lik bir derinlikte bakteri türüne göre değişen Tablo 3.4'de belirtilen test besiyerlerini içeren plaklara, steril bir eküvyon vasıtasıyla yaygın inokulasyon uygulanmıştır ve petriler, inokulum sıvısının emilebilmesi için steril laminar hava akış kabini içerisinde 15 dakika bekletilmiştir.

Ekim yapılan besiyerleri üzerine aseptik koşullarda 5 farklı solventle elde edilmiş ekstrakt emdirilmiş antimikrobiyal duyarlılık test diskleri, merkezleri arasında en az 24 mm mesafe kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu diskler ekstrakt yüklenmiş disk, ekstraksiyonda kullanılan solvent emdirilmiş negatif kontrol disk ve ticari olarak üretilmiş referans antibiyotik diskten oluşmaktadır.



Şekil 3.42: Disklerin petrilere yerleşimi.

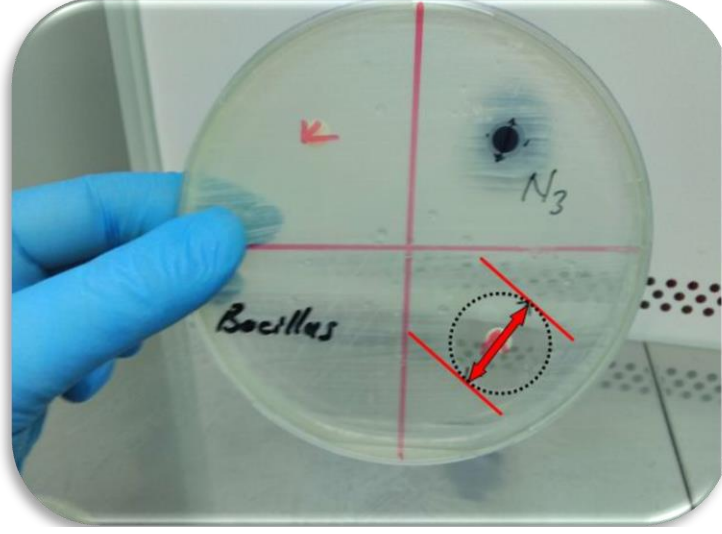
Bakterilerin inokule edildiği plaklar her bakteriye ait farklı inokulasyon sıcaklığında etüvde (WiseVen, Won-105, South Korea) 48 saat inkübe edilmiştir. Anaerob bakteri türü olan *C. perfringens* ve mikroaerofilik ortam isteği bulunan *C. jejuni* için ise CO₂ inkübatörü (Heal Force, Smart Cell) kullanılmıştır.

Tablo 3.5: Mikroorganizmalara uygulanan inkübasyon sıcaklıkları.

Mikroorganizmalar	İnkübasyon Sıcaklıkları	İnkübasyon Süreleri
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	37°C	48 saat
<i>Salmonella typhimurium</i>	35°C	48 saat
<i>Bacillus cereus</i>	32°C	48 saat
<i>Staphylococcus aureus</i>	35°C	48 saat
<i>Listeria monocytogenes</i>	35-37°C	48 saat
<i>Campylobacter jejuni</i>	42°C	48 saat
<i>Clostridium perfringens</i>	37°C	48 saat

**Şekil 3.43:** Çalışmada kullanılan etüvler; karbondioksitli inkübatör (soldaki).

Bu süre sonunda her diskin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları mm cinsinden kaydedilmiştir ve bu değerler antimikrobiyal etkiyi ifade eden bir ölçüt olarak kullanılmıştır. Analiz sonuçları belirtilirken, 3 tekrar neticesinde ulaşılan değerlerin ortalaması alınarak standart sapma değerleri hesaplanmış ve bu değerler de inhibisyon zonu çapı olarak (mm) \pm SD belirtilmiştir.



Şekil 3.44: Ölçülecek inhibisyon çapını gösteren fotoğraf.

3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

Bu çalışmaya ait ançüz ve salam ürünlerinden steril laminar kabin içerisinde bek alevi etrafında aseptik koşullarda hassas tartımı yapılarak steril numune alma poşetlerine alınan 10 g'lık örnekler üzerinde, Toplam Psikrofilik Bakteri, Toplam Anaerobik Mezofilik Bakteri analizleri dökme plak yöntemi kullanarak gerçekleştirilmiştir. Aynı örnekler üzerinde *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ve Maya-Küf analizlerinin ekimi ise yayma plak metodu ile yapılmıştır.

Alınan 10'ar g'lık numuneler, 90 mL'lik Maximum Recovery Diluent içerisine konularak stomacher'de (IUL Instrument, Spain) 3-5 dakika homojenize edilmesiyle ana dilüsyon hazırlanmıştır. Homojenize edilen ana dilüsyondan 1mL alınarak, 9 mL % 0.1 Pepton from meat (Himedia RM635-500G, India) ve % 0.85 NaCl ihtiva eden Maximum Recovery Diluent içeren tüplerde vortekslenerek (Elektro-Mag, M16, Türkiye) homojen bir şekilde seyreltme işlemi yapılmıştır. Analizler hazırlanan bu dilüsyonlar üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Ançüz numuneleri üzerinde yapılmış olan Toplam Psikrofilik Bakteri, Toplam Anaerobik Mezofilik Bakteri ve Maya-Küf Analizlerinde kullanılmış olan besiyerlerine Hernandez ve diğ. (1999)'nin belirttiği gibi %3.5 tuz ilavesi yapılmıştır. Salamlara ait mikrobiyolojik analizlerde ise besiyerlerine tuz ilavesi yapılmamıştır.

3.2.2.1. *Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı*

Toplam psikrofilik bakteri sayımları, hazırlanan dilüsyonların Plate Count Agar (Merck, Germany) besiyerlerine 1ml ekimlerinin yapıp, soğutmalı etüvde 7°C’de 10 gün süresince inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Ortaya çıkan sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir (Baumgart, 1986).

3.2.2.2. *Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı*

Toplam psikrofilik bakteri sayımları, hazırlanan dilüsyonların Plate Count Agar (Merck, Germany) besiyerlerine 1 mL ekimlerinin yapıp, CO₂’li inkübatörde (Heal Force, HF90, China) 37°C’de 24-48 saat süresince inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir (Baumgart, 1986).

3.2.2.3. *Maya-Küf Sayımı*

Maya ve küf sayımları, hazırlanan dilüsyonların Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck, Germany) besiyerlerine 0.1 mL ekimlerinin yapıp 25°C’de 10 gün boyunca inkübe edilmesiyle oluşan kolonilerin sayılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4. *Staphylococcus aureus Sayımı*

Staphylococcus aureus sayımı için hazırlanmış dilüsyon serilerinden 1 mL alınarak içerisinde Baird Parker Agar (Biolife, Italy) içeren plaklara yayma plak metodu ile ekim gerçekleştirilmiştir. Ekimi yapılan plaklar 35°C’de 48 saat etüvde inkübasyona tabi tutulmuşlardır. İnkübasyon süresi sonunda lesitinaz enzim aktivitesi neticesinde oluşan etrafi şeffaf, siyah kolonilerin sayımı yapılmış olup sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir (Bennett ve Lancette, 2001).

3.2.2.5. *Bacillus cereus Sayımı*

Bacillus cereus sayımı için hazırlanan dilüsyonlardan 0.1 mL alınarak yayma plak yöntemi ile Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin Agar’lara (Biolife, Italy) drigalski spatülü yardımıyla ekimler gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, 32°C’de 18-40 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu plaklarda pembe-menekşe merkezli koloniler aranmıştır. Sonuçlar kob/g olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.6. *Clostridium perfringens* Sayımı

Clostridium perfringens sayımı için hazırlanmış dilüsyon serilerinden 0.1 mL alınarak içerisinde Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (Biolife, Italy) içeren plaklara yayma plak metodu ile ekim gerçekleştirilmiştir. Ekimi yapılan plaklar 37°C'de 24 saat CO₂'li inkübatörde inkübasyona tabi tutulmuşlardır. Bu bakterilerin sulfit indirgeme özelliği olduğundan dolayı siyah koloniler şeklinde oluşacaktır. İnkübasyon süresi sonunda ekim yapılan petrilere opak zonlu siyah kolonilerin aranmıştır (Rhodehamel ve Harmon, 1998). Sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.7. *Salmonella spp.* Aranması

Hammaddelerde *Salmonella spp.* aranması, hazırlanan Rappaport-Vassiliadis (RVS) Broth selektif besiyerinden 10 µL alınarak yayma plak yöntemiyle Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) ve RAPID' Salmonella Agar (BIO-RAD, USA) üzerine çizgi ekim yapılmasıyla ISO 6579-1:2017 analiz metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Petrilere 24 ±2 saat 37°C'de inkübe edilmiştir ve besiyeri üzerinde oluşan magenta koloniler sayılarak Türk Gıda Kodeksi (T.G.K.)'ne göre sonuçların değerlendirilmesi yapılmıştır.

3.2.2.8. *Listeria monocytogenes* Aranması

Hammaddelerde *L. monocytogenes* aranması, ½ Fraser Broth'ta (Oxoid, UK) zenginleştirme işlemi sonrası selektif katı besiyerleri olan RAPID' L.mono Agar (BIO-RAD, USA) ve kromojenik karakterli Ottoviani and Agosti Agar (Merck, Germany) üzerine ekim yapılarak ISO 11290-1:1996 metoduna göre analiz gerçekleştirilmiştir. Zenginleştirme işlemi, 25g numune 225 mL ½ Fraser Broth'ta homojenize hale getirilip 1/10 dilüsyonlar hazırlanmıştır ve 30°C'de 24 ±2 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. 10'ar mL Fraser Broth içeren tüplere 0.1 mL homojenizattan katılarak 35 ±2°C'de 48 ±2 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra bu kültürler selektif besiyerlerine ekilmiştir ve 24 ±2 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda petrilere oluşması beklenen sarı renk arka planlı olmayan açık ve koyu mavi tonlu koloniler Türk Gıda Kodeksi (T.G.K.)'ne göre sonuçların değerlendirilmesi için izlenmiştir.

3.2.2.9. Termotolerant *Campylobacter* Sayımı

Hammaddelerde termotolerant *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. laridis*) sayımı ISO 10272-1:2017 analiz metoduna göre, et örneklerinden 10 g alınıp 90 mL Preston Enrichment Broth (Himedia, India) içerisinde kombine edilip mikroaerobik şartlarda 41.5°C’de 24 saat inkübe edilmesiyle ilk süspansiyon oluşturulmuştur. Buradan gerekli dilüsyonlar hazırlanmıştır ve selektif Modified Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar (mCCD) (Himedia, India) üzerine aktarılarak steril bir öze yardımıyla ekim yapılmıştır ve mikroaerobik bir atmosferde 41.5°C’de 44 saat inkübasyon işlemi uygulanmıştır ve petri üzerinde oluşması beklenen grimsi düz, metalik parlaklık içerebilen koloniler izlenmiştir ve sonuçlar Türk Gıda Kodeksi (T.G.K.)’ne göre değerlendirilmiştir.

3.2.2.10. *Escherichia coli* O157 H:7 Aranması

Ürün yapımında kullanılacak hammadde olarak kullanılacak et numunelerinde *E. coli* O157 H:7 aranması ISO 16654:2001 analiz metoduna göre gerçekleştirilmiştir. 25’er g et numunesi tartılarak, ön zenginleştirme amaçlı 225 mL Tryptic Soy Broth (Merck, Germany) ile homojenize edilmiştir ve daha sonra tüpler 41.5°C’de 18 saat süre ile inkübe edilmiştir. Daha sonra, Dynabeads® anti-*E. coli* O157 (Dynabeads anti-*E. coli* O157, Dynal, England) ile immunomagnetic seperasyon (IMS) işlemi uygulanmıştır. Bu işlemden sonra Cefixime Tellurite Rhamnose-MacConkey (CT-SMAC) Agar’a (Oxoid, UK) O157 Dynabead ve bakteri kompleksinin 50 µL’si ile ekim yapılmıştır ve 37°C de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası izolatların VITEC 2 Compact ve anti-*E. coli* O157 serum lateks testi vasıtasıyla *E. coli* O157 koloni identifikasyonları yapılmıştır. Sonuçlar ise Türk Gıda Kodeksi (T.G.K.)’ne göre değerlendirilmiştir.

3.2.3. Duyusal Analizler

Duyusal değerlendirmeler panelist eğitimi almış 5 deneyimli panelist ekibince Varlık ve diğ. (2007) tarafından verilen hedonik duyusal skalanın modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Panelistlerden her analiz günü ürünlere renk, tekstür, gevreklik (ançüzelerde; sürülebilirlik), tat-lezzet, koku ve genel kabul edilebilirlik olmak üzere 6 farklı kriterde puanlama yapmaları istenilmiştir. Duyusal analizlerin tümü laboratuvar koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Duyusal Değerlendirme Formunda 1-9 arası puan bulunmaktadır. Bu puanlamalara karşılık gelen ürün değerlendirme skalası Tablo 3.6’da gösterilmiştir.

3.2.4. Kimyasal Analizler

3.2.4.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini

TVB-N analizleri, Avrupa Birliği'nin 1995 yılında yayınladığı referans limit değerlere uygun olarak Antonocopoulos ve Vyncke (1989) yöntemine göre yapılmıştır. 10 g numuneye, 90 mL %7.5'lük trichloroacetic asit çözeltisi ilave edilip, numuneyi içeren süspansiyon homojen bir yapı kazanıncaya kadar ultraturrax (Janke&Kunkel T-25, Germany) işlemine tabi tutulmuştur. Oluşan homojen karışımın bir müddet kendi cazibesıyla faz oluşturmasının beklenmesi sonrası 250 mL'lik bir erlen mayer içerisine kaba filtre kâğıdı kullanarak süzülmesi sağlanmıştır.

Daha sonra bu süzüntü içerisine 100 µL butil hidroksi toluen (1g/L etanolde hazırlanmış) eklenerek süzüntü elde edilmiştir ve bu filtrattan 50 mL Kjeldahl tüpüne konulmuştur. Bunun üzerine 1 mL %1'lik fenolftaleyn çözeltisi (%95'lik alkolde hazırlanmış) ve 6.5 mL %20'lik NaOH çözeltisi eklenerek oluşacak pembe renk izlenmiştir.

Cihazın toplama ünitesine yerleştirilecek olan erlen mayer içine ise 10 mL %3'lük borik Asit (H₃BO₃) çözeltisi ve 100 mL saf su ve 3-4 damla taşıro indikatörü eklenmiştir. Ardından cihaza yerleştirilerek destilasyon işlemi başlatılmıştır.

Cihazda işlemi biten erlende elde edilen destilata 0.01 N HCl asit ile titrasyon işlemi uygulanmıştır. Titrasyon işlemi destilatın eşit dağılımlı pembe-menekşe bir renk alıncaya kadar otomatik dijital büret (BRAND GmbH., Germany) ile gerçekleştirilerek TVB-N değerleri aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$TVB - N \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{(\text{Örnek için harcanan HCl} - \text{Köre harcanan HCl}) \times 14 \times 0.01 \times 2 \times 100}{\text{Örnek Ağırlığı}}$$

3.2.4.2. *Tiyobarbitürik Asit-reaktif Maddeleri (TBARS) Tayini*

TBARS deneyi Erkan ve Özden (2008)'e göre yapılmıştır. Bu analize ait hesaplamalar eğrinin denklemi vasıtasıyla seyreltme faktörünün kullanılmasıyla yapılmıştır.

TBA standartlarının hazırlanması ve okuması:

Cam bir beher içerisinde 50 µL malonaldehid bis (diethylacetal) (TEP), 50 mL 0.1N HCl ile dilüe edilmiştir. Beherin ağzı kapatılarak, çeker ocak içinde ısıtıcı plaka üzerinde 100°C'de 10 dakika boyunca bekletilmesiyle reaksiyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır. Bu işlem sonunda hidrolize asetalin elde edilmiştir.

Elde edilen bu hidrolize asetalinden 2.4 mL alınıp, balon jodede saf su ile 100 mL'ye tamamlanmasıyla stok standardı hazırlanmıştır. Standart 1, 2, 3 ve 4 ise aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır:

- Standart 1:** Stok standarttan 1 mL alınıp saf su ile balon jodede 50 mL'ye tamamlanmıştır.
- Standart 2:** Stok standarttan 3 mL alınıp saf suyla balon jodede 50 mL'ye tamamlanmıştır.
- Standart 3:** Stok standarttan 5 mL alınıp saf suyla balon jodede 50 mL'ye tamamlanmıştır.
- Standart 4:** Stok standarttan 7 mL alınıp saf suyla balon jodede 50 mL'ye tamamlanmıştır.

Hazırlanmış olan bu standartlardan 2-5 mL alınıp üzerine aynı miktarda TBA reaktif solüsyonu eklenmiştir. Daha sonra 80°C'de 30 dakika süresince benmarinde ısıtılmıştır. Isıtma işlemi sonrası soğutulularak 532 nm'de UV-VIS spektrofotometre (PG Instruments, T80+, UK) cihazıyla ölçüm işlemi yapılmıştır.

TBARS Analizi ve Ölçümü:

10 g örneklere, 90 mL miktarında konsantrasyonu %7,5 olan trichloroacetic asit çözeltisi ilave edilmiştir. Numuneyi içeren süspansiyon ultraturax (Janke&Kunkel T-25, Germany) işlemi ile homojenize edilmiştir. Oluşan homojen karışımın, 250 mL'lik bir erlen mayer içerisinde kaba filtre kâğıdı kullanarak süzölmüştür. Daha sonra, elde edilen bu süzöntü içerisinde 100 µL butil hidroksi toluen (1g/L etanolde hazırlanmış) eklenmiştir.

Deney tüplerine bu süzüntüden ve TBA reaktif solüsyonundan (%10'luk glasiyel asetik asitle hazırlanmış, 0.02 mol/L thiobarbituric acid,) 5'er mL koyularak 80°C'de 30 dakika benmarinde ısıtılmıştır. Isıtılan solüsyonlar oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış ve ardından 532 nm'de UV-VIS spektrofotometrede (PG Instruments, T80+, UK) köre karşı ölçüm işlemi gerçekleştirilmiştir. Kör olarak, 5 mL TCA ve 5mL TBA reaktif solüsyonu karışımı kullanılmıştır (Hamre, 2011).

Spektrofotometrede okunan örneklere ait ölçüm sonuçları standartların regresyon eğrisi denklemi üzerinden hesaplanarak aşağıda belirtilen formülde yerine konarak değerlendirilecek analiz sonuçları bulunmuştur.

$$\text{TBA Değeri} \left(\text{mg} \frac{\text{MDA}}{\text{kg}} \text{ Ürün} \right) = \frac{\text{Standart eğriden okunan MDA değeri} \times \text{dilüsyon faktörü}}{\text{Örnek Ağırlığı}}$$

3.2.4.3. pH Analizi

pH analizleri, ürünlere ait numunelerin 1:10 (w/v) oranında saf suyla utraturrax cihazında (Janke & Kunkel, T25, Almanya) karıştırılıp, kalibrasyon işlemi yapılmış pH metre ile ölçülmesiyle (Inolab, pH level 1, Germany) gerçekleştirilmiştir.

pH metre cihazının probu bu süspansiyona içine daldırılarak ph ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 3 paralelli olacak şekilde yapılmıştır (Vyncke, 1981).

3.2.4.4. Tuz Analizi

Varlık ve diğ. (2007)'e göre yapılan tuz tayini için analizi yapılacak numuneler homojen olarak parçalanarak 20 g'ı bir erlen içine alınmıştır. Bu örnek üzerine 100 mL saf su ilavesi yapılarak 45 dakika kaynayan su içerisinde bekletilmiştir. Bu süre sonunda karışım kaba filtre kâğıdı ile bir balon joje içine süzdürülerek saf suyla 250 mL'ye tamamlanmıştır.

Daha sonra, elde edilen süzüntüden 20 mL erlene koyularak üzerine 2.5 mL %5'lik potasyum kromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$) ilave edilmiş ve 0.1N gümüş nitrat (AgNO_3) ile titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Titrasyon işlemi neticesinde kaydedilen değerler, aşağıda yer alan formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Tuz (g)} = \frac{(0.00585 \times V)}{m} \times S.F. \times 100$$

V= Harcanan AgNO₃ çözeltisinin hacmi (mL)

m= Alınan numune miktarı (g)

S.F.= Seyreltme faktörü

3.2.4.5. Toplam Fenolik Madde Tayini

Bu analiz için standart gallik asit çözeltisinin 0.5-2.5 mg/mL aralığındaki 10 farklı konsantrasyonuyla kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir ($R^2= 0.9976$) ($y = 0.4618x - 0.0312$). Elde edilen eğrinin regresyon eşitliğinden faydalanarak sonuçlar hesaplanmış olup, sonuçlar gallik asit cinsinden mg-GAE/g-kuru malzeme olarak verilmiştir.

Farklı solventler kullanılarak elde edilen *Ulva lactuca* ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı, Malik ve Bradford (2006)'a göre spektrofotometrik Folin-Ciocalteu yöntemiyle tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyonu sonucu verdiği rengin 765 nm'de UV-Vis spektrofotometrede (PG Instruments UV-Vis T60, UK) okunmasıyla ölçülmüştür.

40 µL *Ulva lactuca* ekstraktını 380 µL destile suyla dilüe edilerek, 2 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilavesiyle oluşan karışıma 1600 µL Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra bu karışım karanlık bir ortamda 30 dakika bekletilmiştir ve oluşan absorbans 765 nm'de UV spektrofotometrede okunmuştur. Bütün numuneler üç defa analiz edilmiştir. Sonuçlar ise üç tekrarlı ölçümlerin ortalaması olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.46: Küvetteki ekstrakt içeren solüsyonların spektrofotometrede ölçümleri.

3.2.4.6. DPPH Serbest Radikalini İndirgeme Aktivitesi

Antioksidan aktivitesi tayini, Yu ve diğ. (2005) yönteminden bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde göre, küvet içerisine 200 μ L ekstrakt konulmuş ve üstüne 500 μ L %80 MeOH eklenmiştir. Daha sonra da 3 mL, 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, Germany) reaktifi eklenip, 30 dakika süresince karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu süre sonunda ise 517 nm’de spektrofotometre cihazı ile, 3mL DPPH reaktifi ve 700 μ L %80 MeOH çözeltisi ihtiva eden kuvete karşı absorbans ölçüm işlemi UV-spektrofotometrede (PG Instruments UV-Vis T60, UK) gerçekleştirilmiştir. Hesaplamalar ölçümlerin 3 defa tekrar edilmesiyle yapılmıştır. Troloksun değişik konsantrasyonlarında çizilen kalibrasyon eğrisinden sonuçlar hesaplanmış olup troloks cinsinden mg-TEAK/g-kuru malzeme olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.47: DPPH reaktifi ve spektrofotometrik ölçüm öncesi küvetlerdeki ekstraktlar.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

İstatistik hesaplamaları SPSS 16.0 yazılımı ile yapılmıştır. Analiz sonuçlarının hesaplanmasında iki ayrı grubun ortalamalarının karşılaştırılmasının yapıldığı istatistik analizlerinde bağımsız gruplarda T-Testi yapılmış olup ikiden fazla grubun ortalamalarının mukayese edildiği analizlerde ANOVA testi uygulanmıştır. Test sonuçları P <0.05 önem aralığında değerlendirilmiştir (Renner, 1970).

4. BULGULAR

4.1. DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI

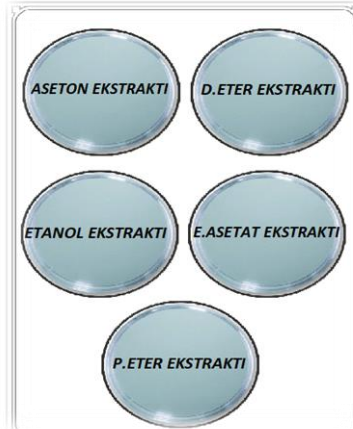
4.1.1. Staphylococcus aureus

Ekstraksiyon işleminde solvent olarak aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanarak elde edilmiş *Ulva lactuca* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin tespiti amacıyla yapılan disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçüm sonucu (mm) aşağıdaki Tablo 4.1 ve Şekil 4.2'deki gibi bulunmuştur.

Tüm ekstrakt türlerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı etki göstermiştir. *Staphylococcus aureus*'a karşı en güçlü etkiyi sırasıyla 14.8 ±0.3 mm ile etanol ekstraktı, 12.7 ±0.3 mm ile etil asetat ekstraktı, 12.0 ±0.7 mm ile aseton ekstraktı, 9.8 ±0.3 mm ile dietil eter ekstraktı ve 9.0 ±0.5 mm ile petrol eter ekstraktı göstermiştir. Farklı solventlerle elde edilen ekstraktlar içinde en zayıf etkiyi ise petrol eter ekstraktı göstermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan 30 µg/disk dozunda chloramphenicol içeren antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu ise 20.2 ±0.3 mm olarak ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak kullanılan saf solvent emdirilmiş disklerde ise herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir.

Tablo 4.1: *S. aureus*'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).

Mikroorganizma	Aseton	D.Eter	Etanol	E.Asetat	P.Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>S. aureus</i>	12.0 ±0.7	9.8 ±0.3	14.8 ±0.3	12.7±0.3	9.0 ±0.5	20.2 ±0.3	-



Şekil 4.1: Test petrilerinin sunum sırası.



Şekil 4.2: *Staphylococcus aureus*'a karşı oluşan inhibisyon zonları.

4.1.2. *Bacillus cereus*

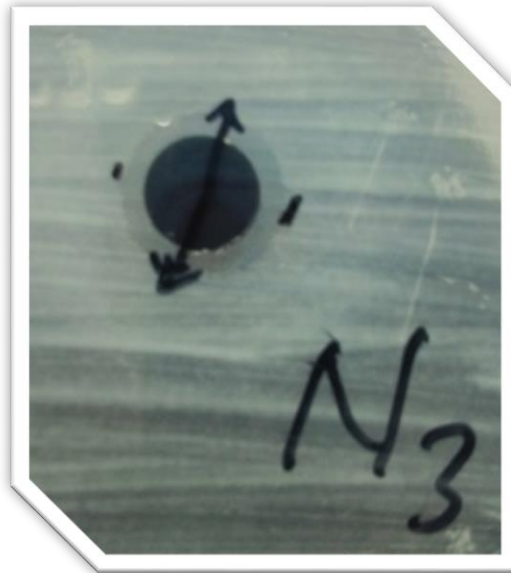
Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanarak elde edilmiş *Ulva lactuca* ekstraktlarının *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal duyarlılık tespiti amacıyla yapılan disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçüm sonucu mm cinsinden aşağıda Tablo 4.2 ve Şekil 4.4'deki gibi gerçekleşmiştir.

Sadece aseton ile elde edilen ulva ekstraktının *B. cereus*'a karşı etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Ulva lactuca* aseton ekstraktı 7.0 ± 0.0 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmuş olduğu kaydedilmiştir.

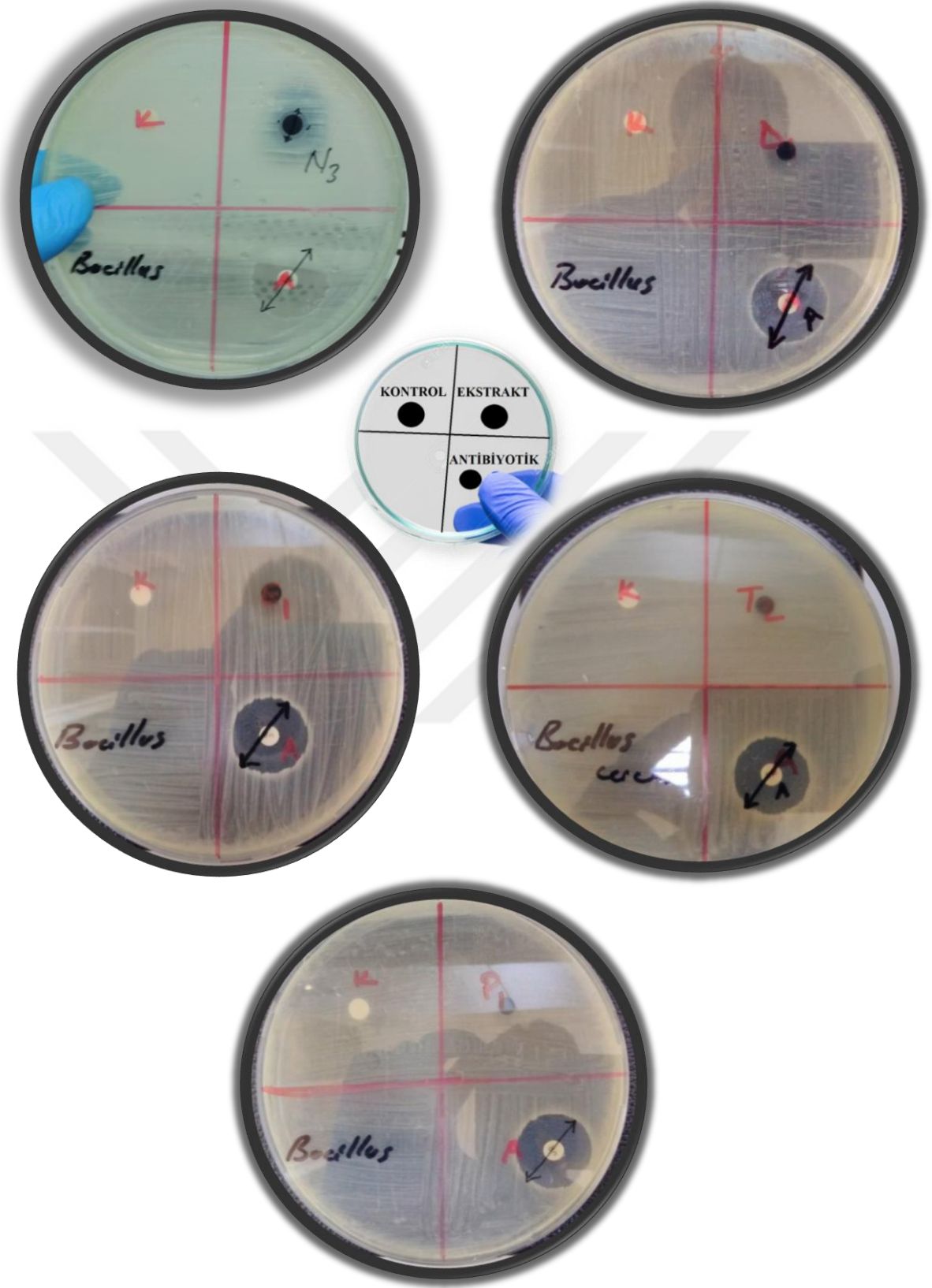
Pozitif kontrol olarak kullanılan $30 \mu\text{g/disk}$ dozunda chloramphenicol içeren antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu ise 22.3 ± 0.6 mm olarak ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak kullanılan saf solvent emdirilmiş disklerde ise herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir.

Tablo 4.2: *B. cereus*'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).

Mikroorganizma	Aseton	D. Eter	Etanol	E. Asetat	P. Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>Bacillus cereus</i>	7.0 ± 0.0	-	-	-	-	22.3 ± 0.6	-



Şekil 4.3: *Ulva* aseton ekstraktının *B. cereus*'a karşı oluşturduğu zon (yakın görünüm).



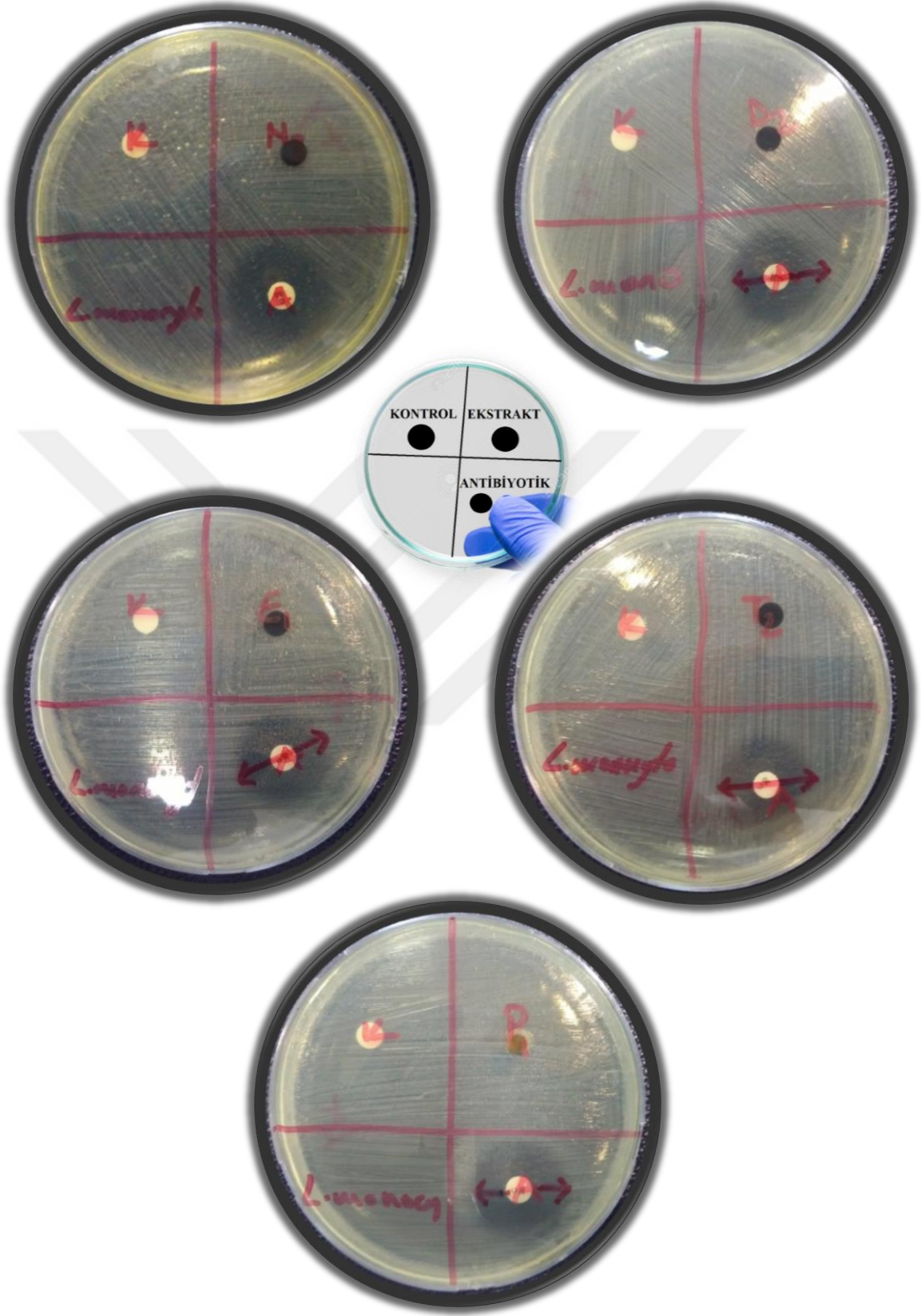
Şekil 4.4: *B. cereus*'a karşı oluşan inhibisyon zonları.

4.1.3. *Listeria monocytogenes*

Elde edilmiş olan 5 farklı ekstraktın *Listeria monocytogenes* bakterisine karşı etki gücü disk difüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçülmesiyle elde edilen verilere aşağıdaki tabloda mm cinsinden yer verilmiştir. Analizde pozitif kontrol amacıyla kullanılan 30 µg chloramphenicol içeren antibiyotik diski, *Listeria monocytogenes*'e karşı 22.3 ±0.6 mm ölçüsünde bir inhibisyon çapı oluşturmuştur. *Ulva lactuca*'nın aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter ekstraktları *Listeria monocytogenes*'e karşı herhangi bir etki göstermemiştir (Bkz: Tablo 4.3 ve Şekil 4.5).

Tablo 4.3: *L. monocytogenes*'in ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).

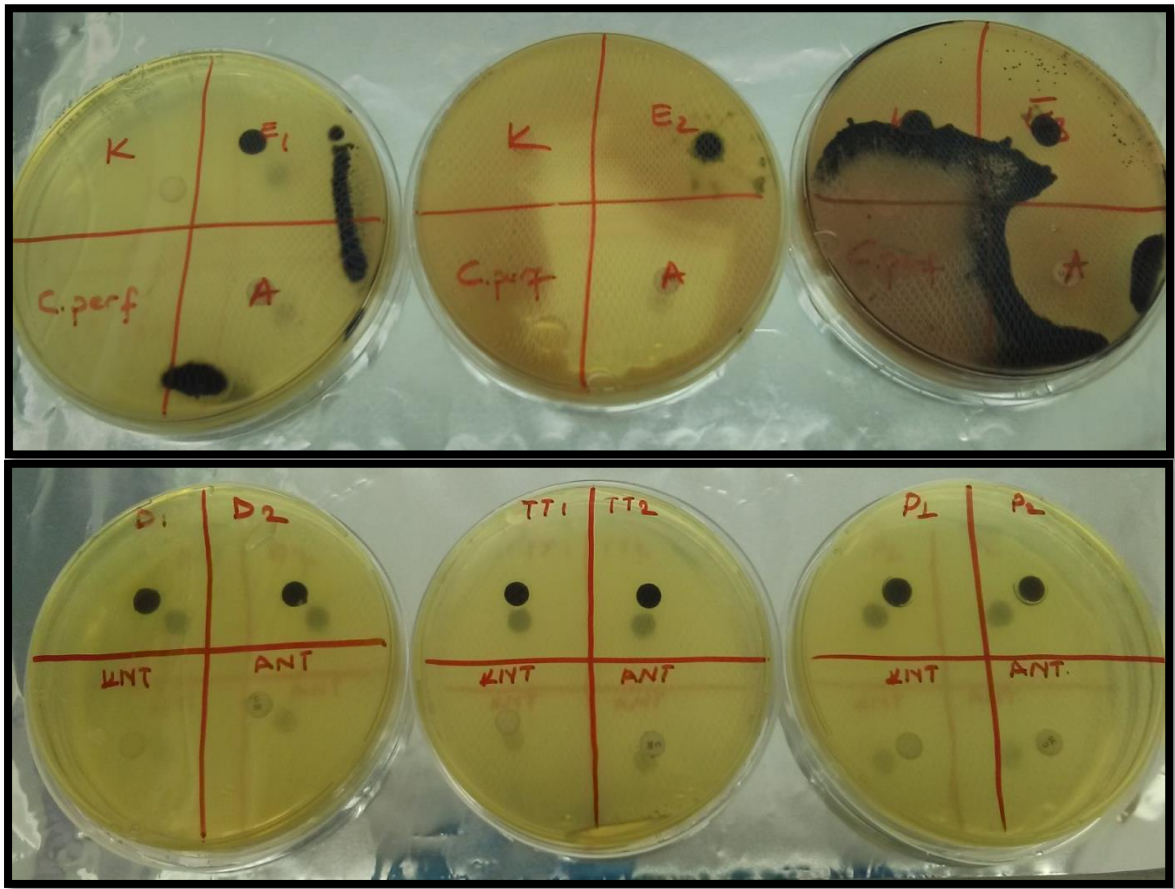
Mikroorganizma	Aseton	D. Eter	Etanol	E. Asetat	P. Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	22.3 ±0.6	-



Şekil 4.5: *L. monocytogenes* 'e karşı oluşan inhibisyon zonları.

4.1.4. Clostridium perfringens

Elde edilen 5 farklı ekstraktın *Clostridium perfringens* üzerinde antibakteriyal aktivitesi, tüm test disklerini içeren besiyerlerinin üzerinde üreme homojen olarak gerçekleşmediğinden dolayı ölçülememiştir. Yapılan disk difüzyon testi çalışmaları TSA, TSA+Y, TSC ve MHA besiyerleri ile hem karbondioksitli inkübatörde hem de anaerobik jar'larda (Karbondioksit kit, Oxoid, UK) tekrarlı olarak gerçekleştirilmesine rağmen besiyeri yüzeylerinde inhibisyon çapı ölçülmesine imkân verecek bir bakteri üremesi gerçekleşmemiştir. Fotoğraftaki siyah alanlar bakteri kolonilerini göstermektedir (Bkz: Şekil 4.6).



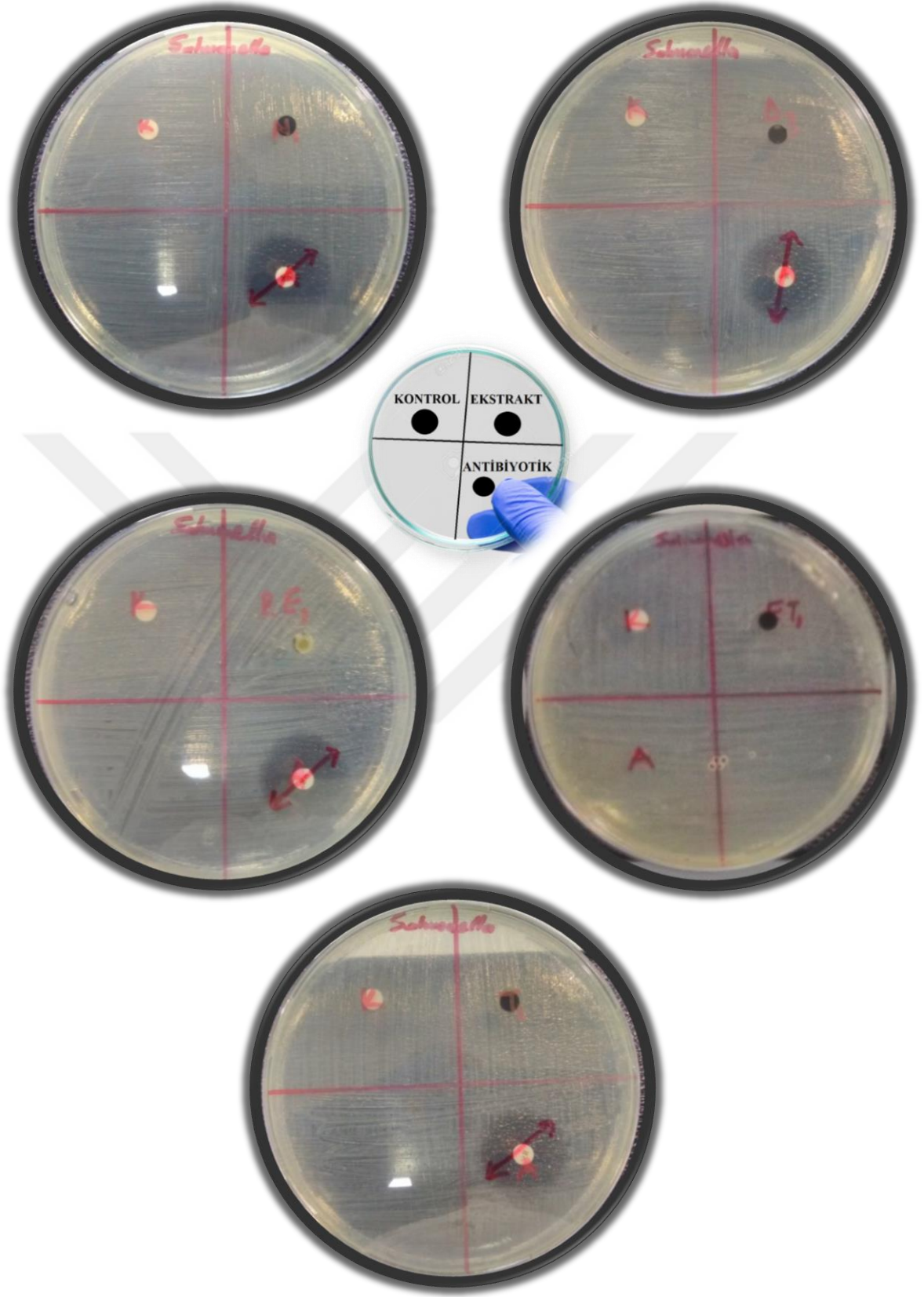
Şekil 4.6: *C. perfringens* üzerinde yapılan duyarlılık testi çalışmaları.

4.1.5. *Salmonella typhimurium*

Elde edilmiş olan 5 farklı ekstraktın *Salmonella typhimurium* bakterisine karşı etki gücü disk difüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçülmesiyle elde edilen verilere aşağıdaki tabloda mm cinsinden yer verilmiştir. Analizde pozitif kontrol amacıyla kullanılan 30 µg chloramphenicol içeren antibiyotik diski, *Salmonella typhimurium*'a karşı 26.0 ±0.0 mm ölçüsünde bir inhibisyon çapı oluşturmuştur. *Ulva lactuca*'nın aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter ekstraktları *Salmonella typhimurium*'a karşı herhangi bir etki gösterememiştir (Bkz: Tablo 4.4 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.4: *S. typhimurium*'un ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).

Mikroorganizma	Aseton	D. Eter	Etanol	E. Asetat	P. Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-	-	26.0 ±0.0	-



Şekil 4.7: *S. typhimurium*'a karşı oluşan inhibisyon zonları.

4.1.6. *Campylobacter jejuni*

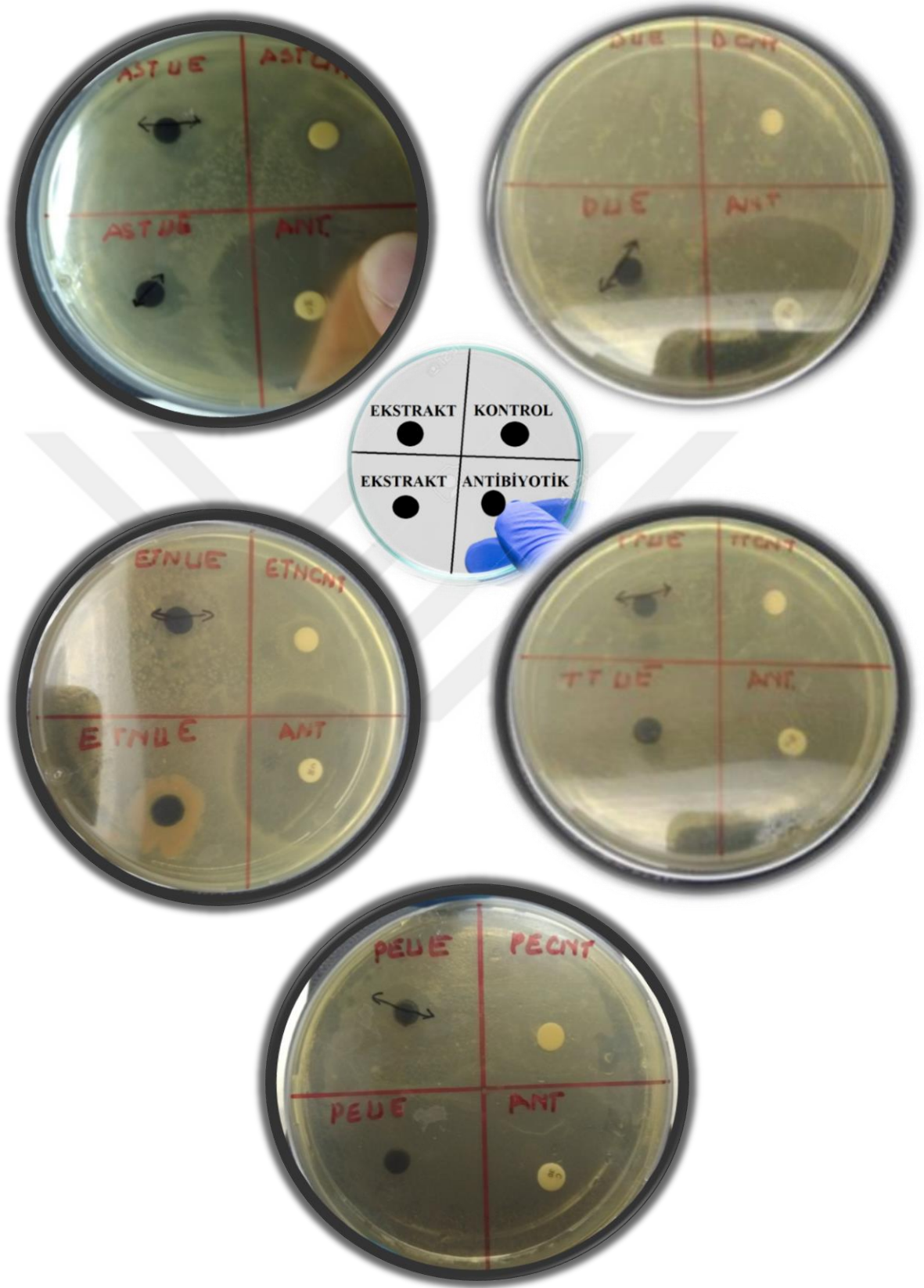
Ekstraksiyon işleminde solvent olarak aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanarak elde edilmiş *Ulva lactuca* ekstraktlarının *Campylobacter jejuni*'ye karşı antimikrobiyal aktivitelerinin tespiti amacıyla yapılan disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçüm sonucu mm cinsinden aşağıda Tablo 4.5 ve Şekil 4.8'deki gibi gerçekleşmiştir.

Etanol ve petrol eter hariç tüm ekstrakt türlerinin *Campylobacter jejuni*'ye karşı etki göstermiş olduğu tespit edilmiştir. *Campylobacter jejuni*'ye karşı en güçlü etkiyi sırasıyla 15.5 ±0.7 mm ile etil asetat ekstraktı, 12.5 ±0.7 mm ile dietil eter ekstraktı ve en zayıf etkiyi 9.0 ±0.0 mm ile aseton ekstraktı göstermiştir.

Pozitif kontrol olarak kullanılan 30 µg/disk dozunda Chloramphenicol içeren antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu ise 39.5 ±0.7 mm olarak ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak kullanılan saf solvent emdirilmiş disklerde ise herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir.

Tablo 4.5: *C. jejuni*'nin ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon çapları (mm).

Mikroorganizma	Aseton	D. Eter	Etanol	E. Asetat	P. Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>Campylobacter jejuni</i>	9.0 ±0.0	12.5 ±0.7	-	15.5 ±0.7	-	39.5 ±0.7	-



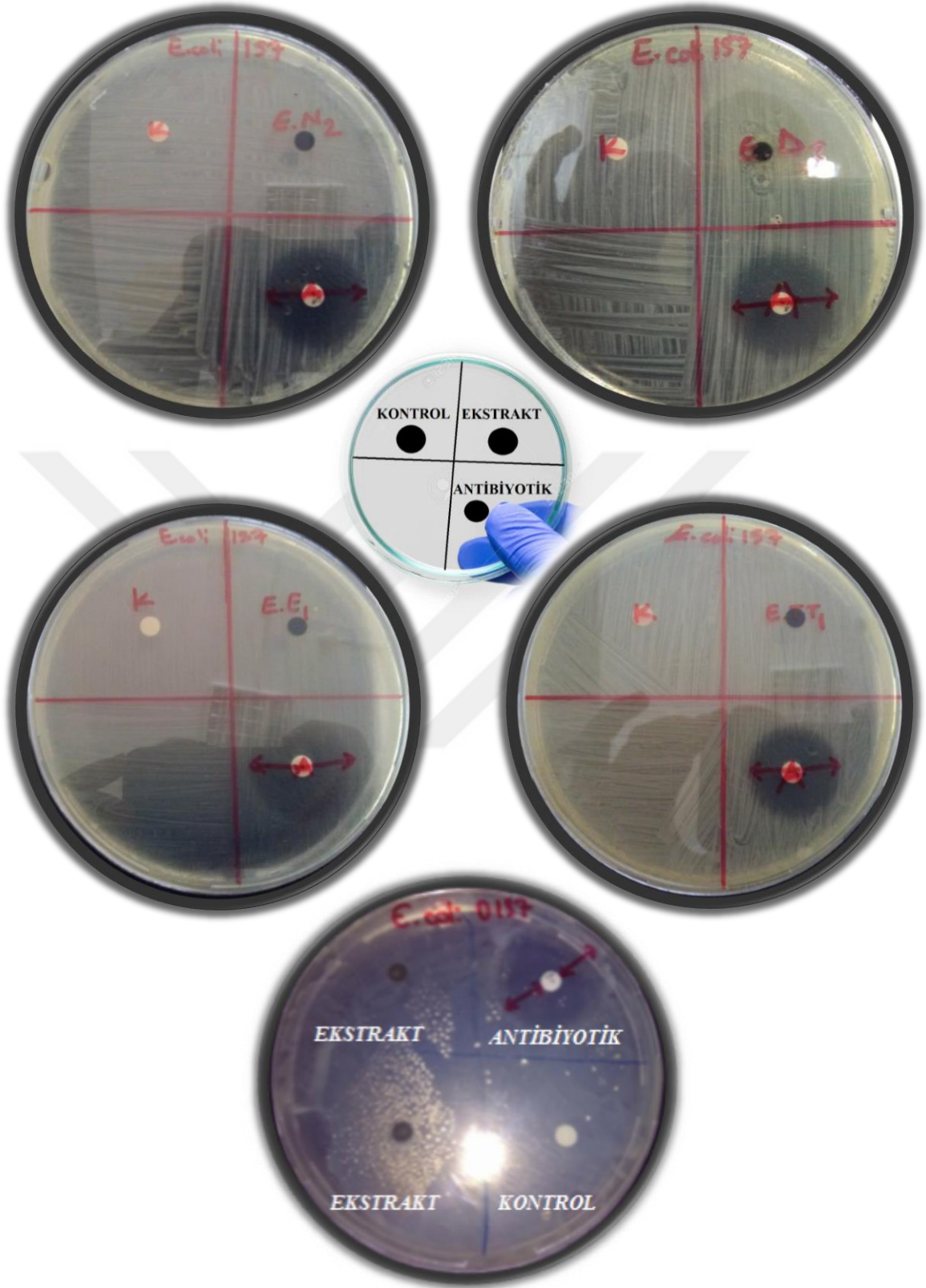
Şekil 4.8: *C. jejuni*'niye karşı oluşan inhibisyon zonları.

4.1.7. *E. coli* O157:H7

Elde edilmiş olan 5 farklı ekstraktın *Escherichia coli* O157:H7 bakterisine karşı antibakteriyal aktivitesi Disk difüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi sonrası oluşan inhibisyon zonlarının ölçülmesiyle elde edilen verilere aşağıdaki tabloda mm cinsinden yer verilmiştir. Analizde pozitif kontrol amacıyla kullanılan 5 µg ciprofloksacin içeren antibiyotik disk, *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı 27.8 ±0.7 mm ölçüsünde bir inhibisyon çapı oluşturmuştur. *Ulva lactuca*'nın aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter ekstraktları *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı antibakteriyal etki gösterememiştir (Bkz: Tablo 4.6 ve Şekil 4.9).

Tablo 4.6: *E. coli* O157:H7'nin ekstraktlara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri (mm).

Mikroorganizma	Aseton	D. Eter	Etanol	E. Asetat	P. Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	27.8 ±0.7	-



Şekil 4.9: *E. coli* O157:H7'ye karşı oluşan inhibisyon zonları.

Tablo 4.7: Bakterilerin ekstraktlara karşı oluşturdukları inhibisyon zonları (mm).

Mikroorganizmalar	Aseton	Dietil Eter	Etanol	Etil Asetat	Petrol Eter	Antibiyotik	Kontrol
<i>S. aureus</i>	12.0 ±0.7	9.8 ±0.3	14.8 ±0.3	12.7 ±0.3	9.0 ±0.5	20.2 ±0.3	-
<i>B.cereus</i>	7.0 ±0.0	-	-	-	-	22.3 ±0.6	-
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	22.3 ±0.6	-
<i>C. perfringens</i>	*	*	*	*	*	*	*
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	26.0 ±0.00	-
<i>C. jejuni</i>	9.0 ±0.0	12.5 ±0.7	-	15.5 ±0.7	-	39.5 ±0.7	-
<i>E. coli O157:H7</i>	-	-	-	-	-	27.8 ±0.7	-

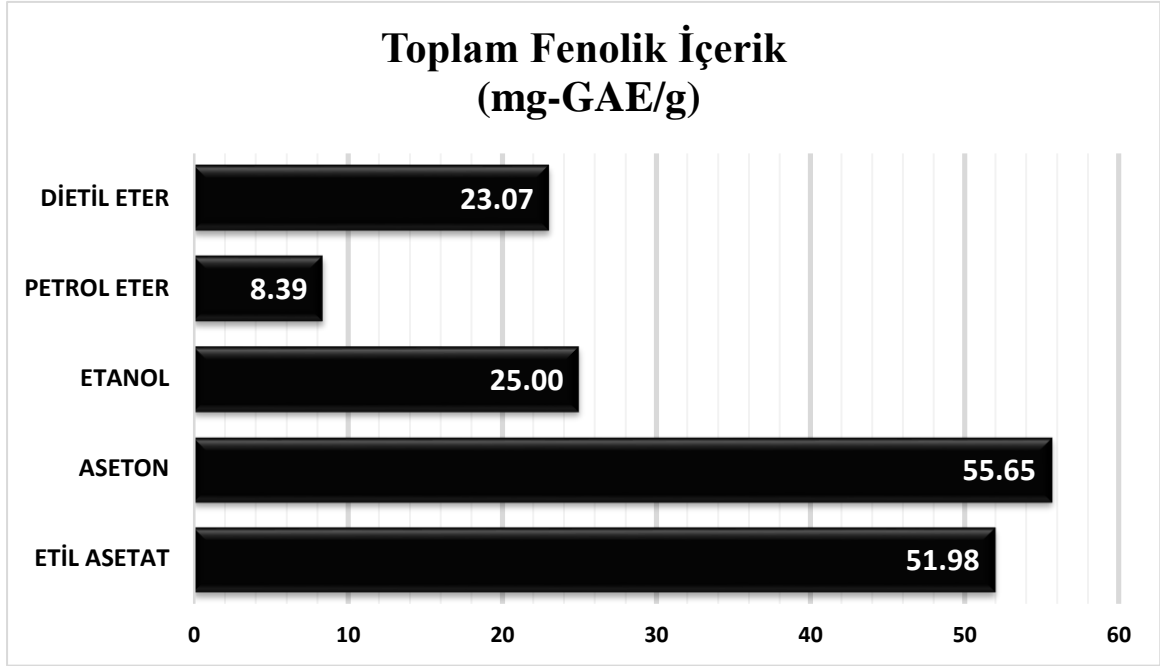
* Test uygulanabilecek kriterde bir üreme gerçekleşmemiştir.

4.2. TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARININ BELİRLENMESİ

Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanılarak elde edilen 5 farklı *Ulva lactuca* ekstraktının toplam fenolik içerik tayinleri sonucu verilerine aşağıda Tablo 4.8 ve Şekil 4.10'da yer verilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek toplam fenolik içerik 55.65 mg/g ile aseton kullanılarak elde edilen *Ulva lactuca* ekstraktında tespit edilmiştir. Daha sonra bunu sırasıyla 51.98 mg/g ile etil asetat, 25.00 mg/g ile etanol, 23.07 mg/g ile dietil eter ve 8.39 mg/g ile en düşük toplam fenolik madde içeriğine sahip olan petrol eter ekstraktı izlemiştir.

Tablo 4.8: *Ulva lactuca* ekstraktlarına ait toplam fenolik madde analizi sonuçları.

EKSTRAKT TÜRÜ	TOPLAM FENOL mg-GAE/g
Etil Asetat	51.98 ±0.02
Aseton	55.65 ±0.00
Etanol	25.00 ±0.00
Petrol Eter	8.39 ±0.00
Dietil Eter	23.07 ±0.01



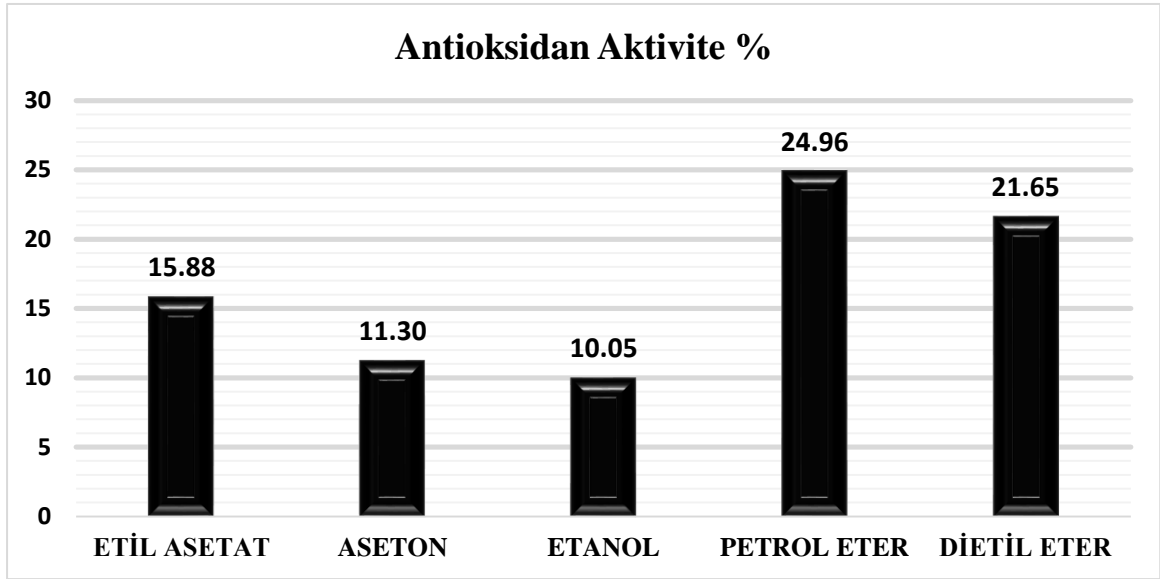
Şekil 4.10: Toplam fenolik madde analizi sonuç grafiği.

4.3. DPPH SERBEST RADİKALİNİ İNDİRGEME AKTİVİTESİ

Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanılarak elde edilen 5 farklı *Ulva lactuca* ekstraktlarının serbest radikal giderim aktivitesi sonuçları aşağıdaki Tablo 4.9 ve Şekil 4.11 gösterildiği gibi gerçekleşmiştir. Elde edilen bu verilere göre en yüksek indirgeme aktivitesi % 10.05 ile etanol ekstraktında tespit edilmiş olup bunu sırasıyla % 11.30 ile aseton, % 15.88 ile etil asetat, % 21.65 ile dietil eter ve % 24.96 ile en düşük giderim aktivitesinin tespit edildiği petrol eter ekstraktı izlemiştir.

Tablo 4.9: *Ulva lactuca* ekstraktlarına ait antioksidan aktivite tayini sonuçları.

<u>Ekstrakt Çeşidi</u>	<u>Antioksidan Aktivite %</u>
E.Asetat	15.88 ±0.02
Aseton	11.30 ±0.02
Etanol	10.05 ±0.03
Petrol Eter	24.96 ±0.00
Dietil Eter	21.65 ±0.03



Şekil 4.11: Ekstraktlara ait DPPH analiz sonuçları grafiği.

4.4. ANÇÜEZE AİT BULGULAR

4.4.1. Kimyasal Analiz Bulguları

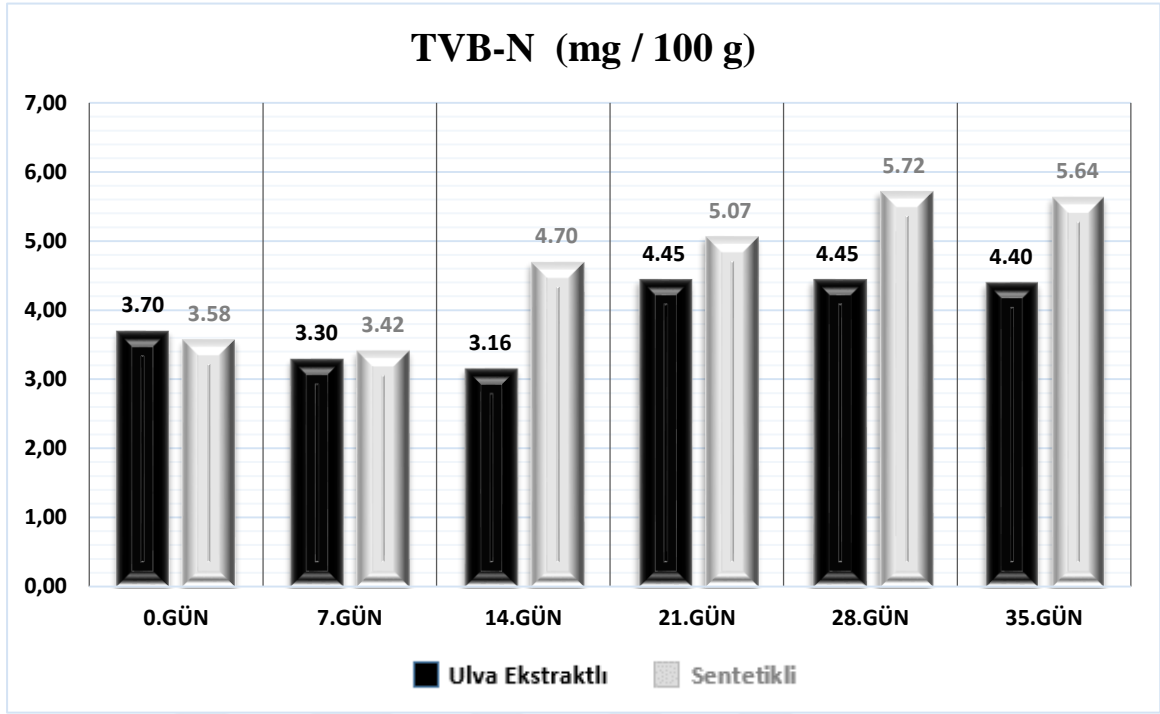
4.4.1.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analiz Bulguları

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait ançüezler 7 günde bir 35 gün boyunca TVB-N analizine tabi tutulmuşlardır. Bu analiz sonucu elde edilen veriler aşağıda Tablo 4.10 ve Şekil 4.12'deki gibi özetlenmiştir.

Tablo 4.10: Ançüez TVB-N analiz sonuçları tablosu.

Analiz Günleri	TVB-N (mg /100 g)	
	<i>Ulva lactuca</i> Ekstraktlı	Sentetik Katkılı
0	3.70 ^a ±0.15	3.58 ^b ±0.08
7	3.30 ^a ±0.13	3.42 ^b ±0.04
14	3.16 ^a ±0.19	4.70 ^b ±0.14
21	4.45 ^a ±0.14	5.07 ^a ±0.04
28	4.45 ^a ±0.04	5.72 ^b ±0.02
35	4.40 ^a ±0.02	5.64 ^a ±0.13

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)



Şekil 4.12: Ançüz TVB-N sonuçları grafiği.

İlk analiz günü ve 14. analiz günleri arasında *Ulva lactuca* ekstraktı içeren ançüzlerde ölçülen TVB-N değerleri 3.16 - 3.70 mg/100g arası seyrederken, bir sonraki analiz günü olan 21 ve 28.günde bu değer 4.45 mg/100g olarak ve son analiz günü olan 35.günde ise bu değer 4.40 ± 0.02 mg/100g olarak kaydedilmiştir.

Sentetik katkılı ançüzlerde ise 0 ve 7.günlerde ölçülen TVB-N değerleri sırasıyla 3.58 ± 0.08 mg/100 g ve 3.42 ± 0.04 mg/100 g iken 14.günde bu değer 4.70 ± 0.14 mg/100 g, 21.günde 5.07 ± 0.04 mg/100 g, 28.günde 5.72 ± 0.02 mg/100 g ve son analiz günü olan 35.günde 5.64 ± 0.13 mg/100 g düzeyine yükselmiştir. Depolamanın 0, 7, 14 ve 28. gününde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.

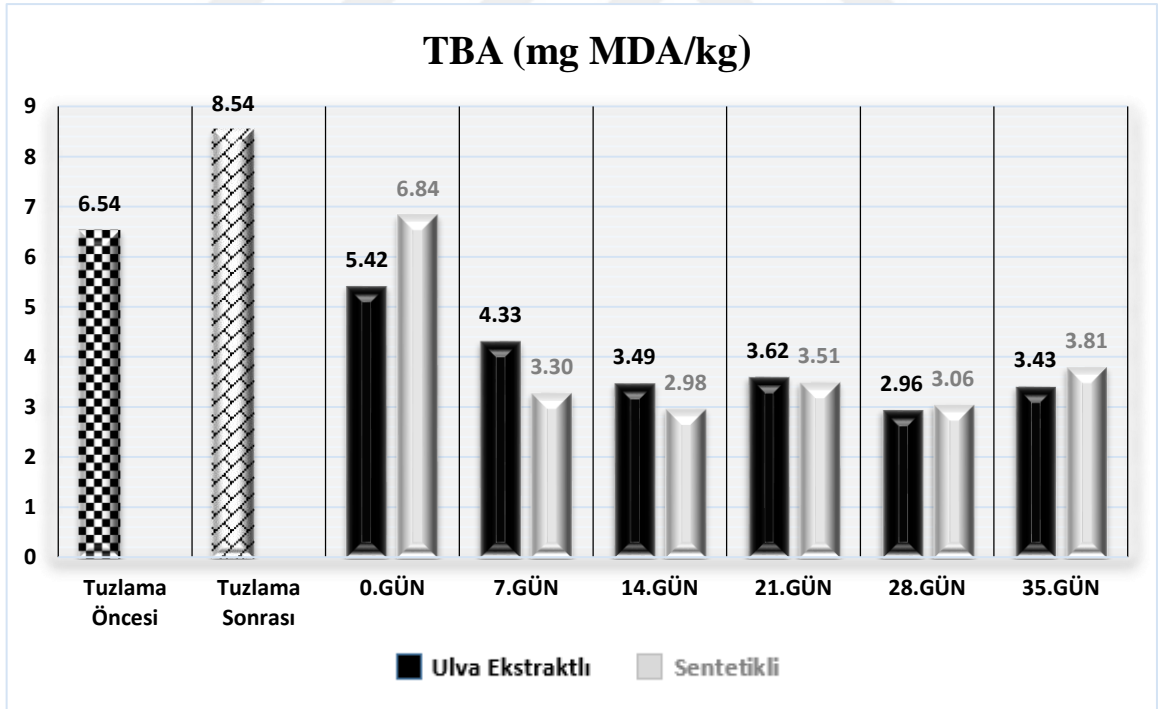
4.4.1.2. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBA) Bulguları

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait ançüzler 7 günde bir 35 gün süresince TBA analizine tabi tutulmuşlardır. Bu analiz sonucu elde edilen verilere aşağıda Tablo 4.11 ve Şekil 4.13'de yer verilmiştir.

Tablo 4.11: Ançüz TBA analiz sonuçları tablosu.

Analiz Günleri	TBA (mg MDA/ kg)	
	<i>Ulva lactuca</i> Ekstraktlı	Sentetik Katkılı
0	5.42 ^a ±0.05	6.84 ^b ±0.02
7	4.33 ^a ±0.01	3.30 ^b ±0.01
14	3.49 ^a ±0.01	2.98 ^b ±0.01
21	3.62 ^a ±0.09	3.51 ^a ±0.01
28	2.96 ^a ±0.06	3.06 ^a ±0.03
35	3.43 ^a ±0.02	3.81 ^b ±0.01

(a,b: aynı günde ki gruplar arası farklı harfler p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)



Şekil 4.13: Hammadde ve ançüz TBA sonuçları grafiği.

Ançüezde hammadde olarak kullanılacak olan sardalya balıkları ançüeze işlenmeden önceki kuru tuzlama işlemi öncesi ve sonrasında da TBA analizine tabi tutulmuştur. Bu analizlerin neticesi olarak sardalya balıklarında tuzlama öncesinde 6.54 ± 0.04 mg MDA/kg ve tuzlama sonrasında ise 8.54 ± 0.01 mg MDA/kg TBA değerleri saptanmıştır.

Ulva lactuca ekstraktı içeren ançüezlerde 0.gün 5.42 ± 0.05 mg MDA/kg ölçülen TBA değeri, 7. analiz gününde 4.33 ± 0.01 mg MDA/kg, 14.analiz gününde 3.49 ± 0.01 mg MDA/kg, 21. analiz gününde 3.62 ± 0.09 mg MDA/kg, 28.analiz gününde 2.96 ± 0.06 mg MDA/kg ve analiz son günü olan 35.günde ise 3.43 ± 0.02 mg MDA/kg olarak kaydedilmiştir.

Sentetik katkılı grup ürünlerinde ilk analiz gününde ölçülen 6.84 ± 0.02 mg MDA/kg TBA değeri, 7.analiz gününde 3.30 ± 0.01 mg MDA/kg, 14.analiz gününde 2.98 ± 0.01 mg MDA/kg, 21.gün 3.51 ± 0.01 mg MDA/kg, 28.gün 3.06 ± 0.03 mg MDA/kg ve son analiz günü olan 35.günde ise 3.81 ± 0.01 mg MDA/kg olarak gerçekleşmiştir.

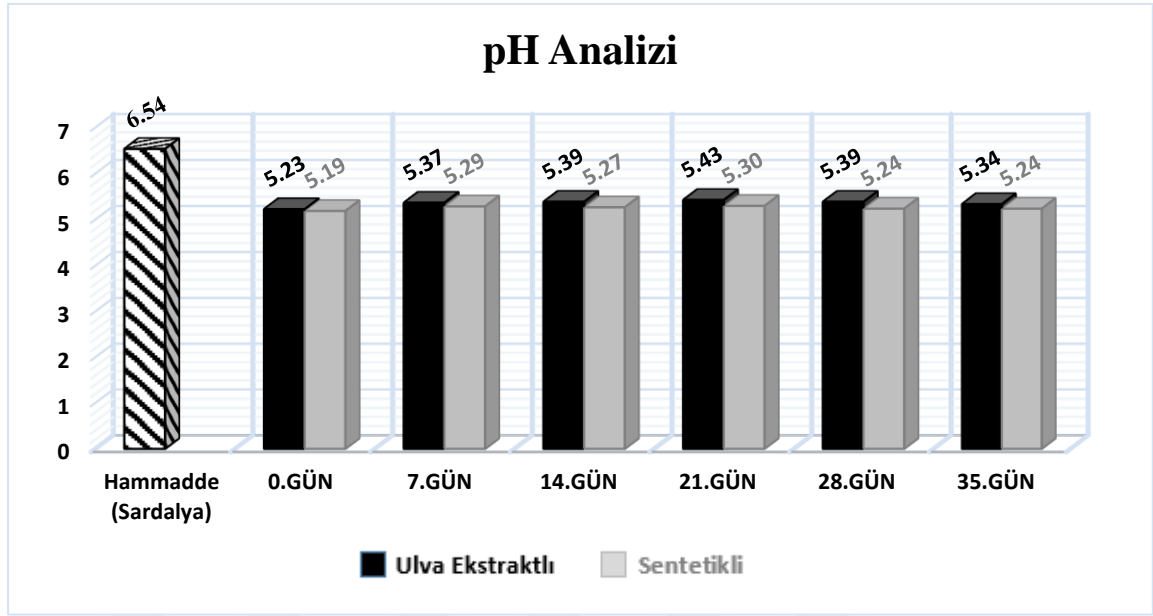
4.4.1.3. pH Analizi Bulguları

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait ançüezlerin 7 günde bir 35 gün süresince pH değişimleri izlenmiştir. Bu analiz sonucu elde edilen verilere aşağıda Tablo 4.12 ve Şekil 4.14'de yer verilmiştir.

Tablo 4.12: Ançüez pH analiz sonuçları tablosu.

Analiz Günleri	pH Analizi Sonuçları	
	<i>Ulva lactuca</i> Ekstraktlı	Sentetik Katkılı
0	$5.23^a \pm 0.02$	$5.19^b \pm 0.01$
7	$5.37^a \pm 0.00$	$5.29^b \pm 0.01$
14	$5.39^a \pm 0.00$	$5.27^b \pm 0.01$
21	$5.43^a \pm 0.00$	$5.30^b \pm 0.01$
28	$5.39^a \pm 0.00$	$5.24^b \pm 0.01$
35	$5.34^a \pm 0.00$	$5.24^b \pm 0.00$

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler
p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)



Şekil 4.14: Ançüez gruplarındaki haftalık pH değişimleri.

Ançüez üretiminde kullanmadan önce, hammadde olarak temin edilen, kuru tuzlamadan çıkan sardalya balığı etine ait pH ölçüm değeri 6.54 ± 0.02 olarak tespit edilmiştir. *Ulva lactuca* ekstraktı kullanılan ançüezlerin ilk analiz gününe ait ölçüm değeri 5.23 ± 0.02 ile başlamış olup, analizin son günü olan 35.günde ise bu değer 5.34 ± 0.00 seviyesine kadar yükselbilmiştir. Sentetik katkıli ançüezlerde ise pH değeri 0.günde 5.19 ± 0.01 ile başlamış olup, analizin son günü olan 35.günde 5.24 ± 0.00 olarak kaydedilmiştir.

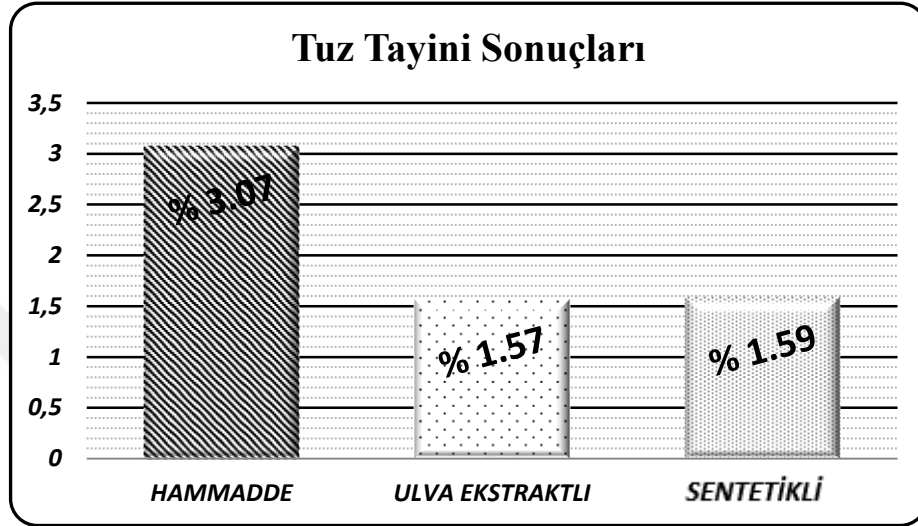
4.4.1.4. Tuz Analizi Bulguları

Ançüezde ve tuzlama sonrası sardalya balığı etinde, son üründe arzu edilen tuzluluk oranına ulaşmak ve mikrobiyolojik analizlerde besiyerine tuz ilave miktarını belirlemek amacıyla tuz analizi yapılmıştır. Bu analize ait veriler aşağıdaki Tablo 4.13 ve Şekil 4.15’de sunulmuştur.

Tablo 4.13: Ançüez ve hammaddede tespit edilen tuz oranları.

TUZ TAYİNİ SONUÇLARI (%)		
HAMMADDE	ULVA EKSTRAKTLI	SENTETİK KATKILI
3.07 ± 0.06	1.57 ± 0.07	1.59 ± 0.08

Kuru tuzlama işleminden alınan sardalya balığı etlerinin 60 dakika 4°C bir ortamda 1:5 oranında buzlu musluk suyunda bekletilmesi sonrası yapılan analizde tuz oranı % 3.07 ±0.06 olarak saptanmıştır. Bu hammaddenin son ürüne işlenmesinden sonra elde edilen ulva ekstraktlı ançüezlerde tuz oranı % 1.57 ±0.07 tespit edilirken, sentetik katkılı gruba ait ançüezlerde bu oran % 1.59 ±0.08 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.15: Ançüez ve hammaddede tuz tayini sonuçları.

4.4.2. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

4.4.2.1. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı

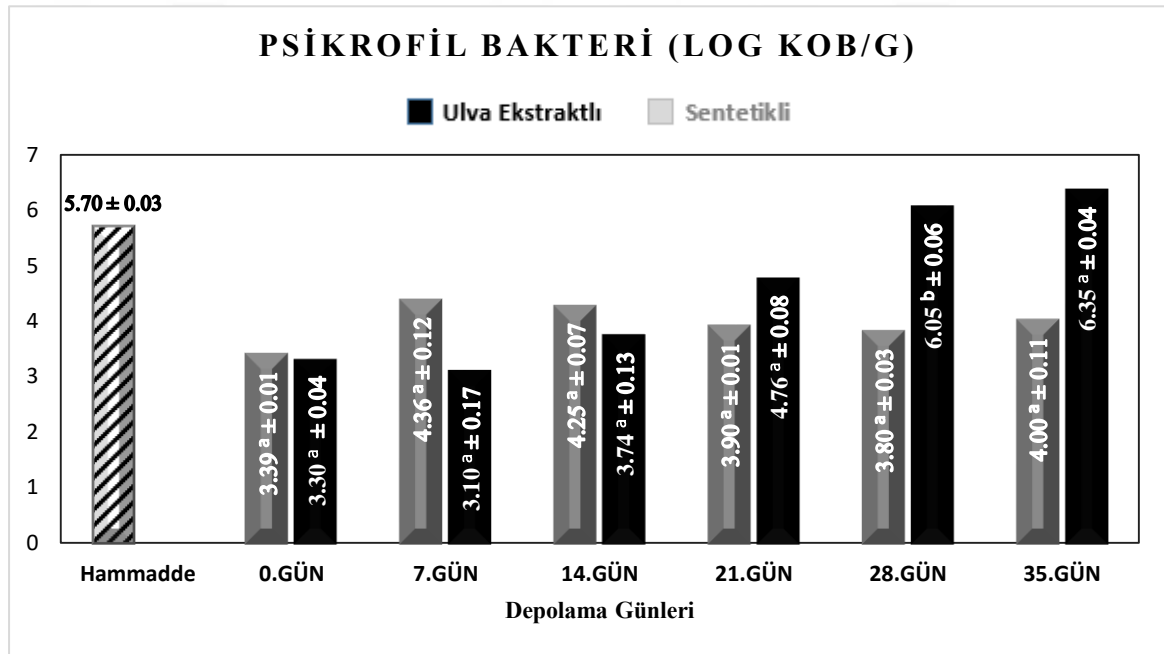
Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüezlerde toplam psikrofilik bakteri yükleri 7 günde bir olmak üzere 35 gün boyunca yapılan mikrobiyolojik analizlerle izlemeye alınmıştır. Bu analize ait bulgulara aşağıdaki Şekil 4.16'da yer verilmiştir.

Ançüez yapımına başlamadan önce hammadde olarak kullanılacak olan kuru tuzlamadan çıkan sardalya filetoalarının psikrofilik bakteri yükleri yapılan analiz sonucu 5.70 ± 0.03 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Bitmiş son ürünlerden olan ulva ekstraktlı ançüezlerden alınan numunelerde ise 0. analiz gününde 3.30 ± 0.04 log kob/g, 7. günde 3.10 ± 0.17 log kob/g düzeyinde bir üreme gözlenmiştir. 14. analiz gününde ise bu miktar 3.74 ± 0.13 log kob/g seviyesine yükselmiştir.

21. analiz gününde ve sonraki analiz günleri olan 28. ve 35. günlerde de bu artışın devam ederek sırasıyla 4.76 ± 0.08 log kob/g, 6.05 ± 0.06 log kob/g ve 6.35 ± 0.04 log kob/g seviyesine kadar ulaşmış olduğu tespit edilmiştir.

Sentetik katkılı ançüzlerinde ise 0.analiz gününde 3.39 ± 0.01 log kob/g, 7.günde 4.36 ± 0.12 log kob/g, 14.günde 4.25 ± 0.07 log kob/g ve devam eden 21 ve sonraki analiz günleri olan 28 ve 35.depolama günlerinde sırasıyla 3.90 ± 0.01 log kob/g, 3.80 ± 0.03 log kob/g ve 4.00 ± 0.11 log kob/g düzeylerinde üreme kaydedilmiştir. Depolamanın 28. gününde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.



Şekil 4.16: Sardalya fileto ve ançüzlerde psikrofilik bakteri yükü değişimleri.

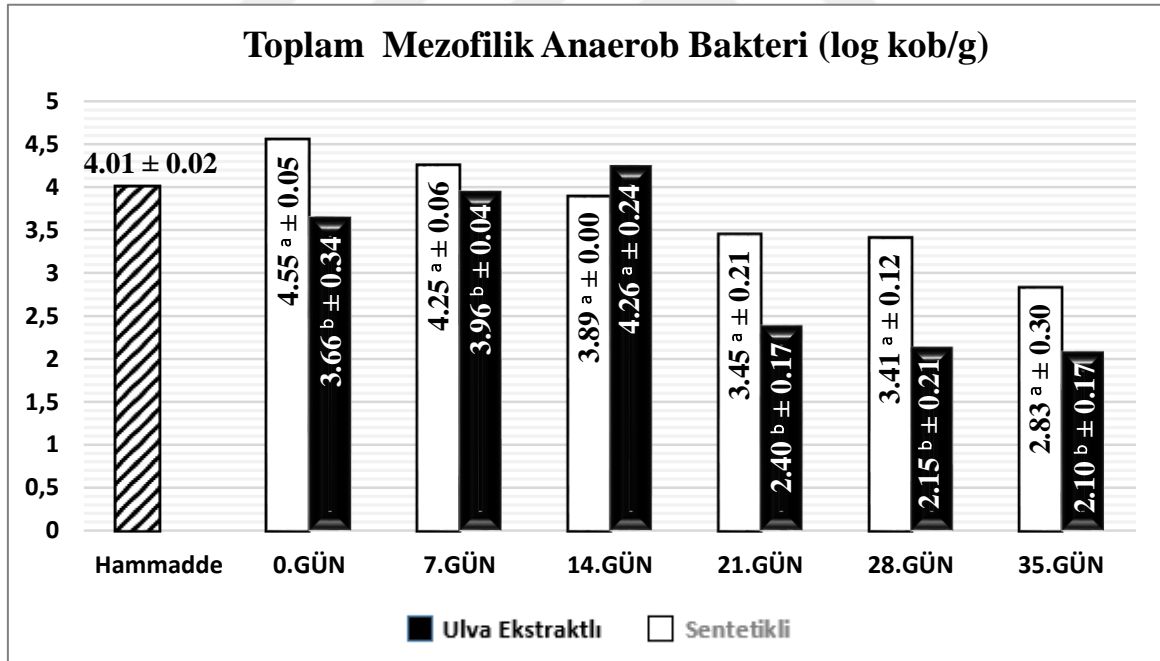
(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

4.4.2.2. Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı

35 analiz günü boyunca soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmış olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüzlerin toplam anaerobik bakteri yükleri 7 günlük periyotlarla yapılan mikrobiyolojik tetkiklerle kontrol edilmiştir. Bu analiz bulgularına Şekil 4.17'de yer verilmiştir. Hammadde olarak kullanılacak sardalya balığı filetoların toplam anaerobik bakteri yükleri 4.01 ± 0.02 log kob/g olarak bulunmuştur.

Ulva ekstraktlı ançüzlerden 0.günde alınan numunelerde tespit edilen anaerobik bakteri yükü 3.66 ± 0.34 log kob/g olarak bulunmuştur. Analizin 7 ve 14. günlerinde hafif bir yükselme kaydedilerek sırasıyla 3.96 ± 0.04 log kob/g ve 4.26 ± 0.24 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Daha sonraki analiz günlerinde ürünlerin toplam anaerobik bakteri yüklerinde yaklaşık % 50 oranında düşüş gerçekleşerek 21. gün 2.40 ± 0.17 log kob/g, 28.gün 2.15 ± 0.21 log kob/g ve son analiz gününde ise 2.10 ± 0.17 log kob/g'e kadar bir düşüş kaydedilmiştir.

Sentetik katkılı ançüzlerde gerçekleştirilen analizlerde ise bakteri yükü 0.günde 4.55 ± 0.05 log kob/g ile başlamış olup son analiz gününe kadar düzenli olarak hafif düşüşler gerçekleşmiştir. 7.gün 4.25 ± 0.06 log kob/g'e düşen bakteri yükü 14.günde 3.89 ± 0.00 log kob/g'a, 21.gün 3.45 ± 0.21 log kob/g'e, 28.gün 3.41 ± 0.12 log kob/g'e ve 35.gün ise 2.83 ± 0.30 log kob/g düzeyine kadar bir düşüş gerçekleşmiştir. 14. depolama günü dışındaki günlerde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur.



Şekil 4.17: Sardalya fileto ve ançüzlerde toplam mezofilik anaerobik bakteri yükü değişimleri.

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

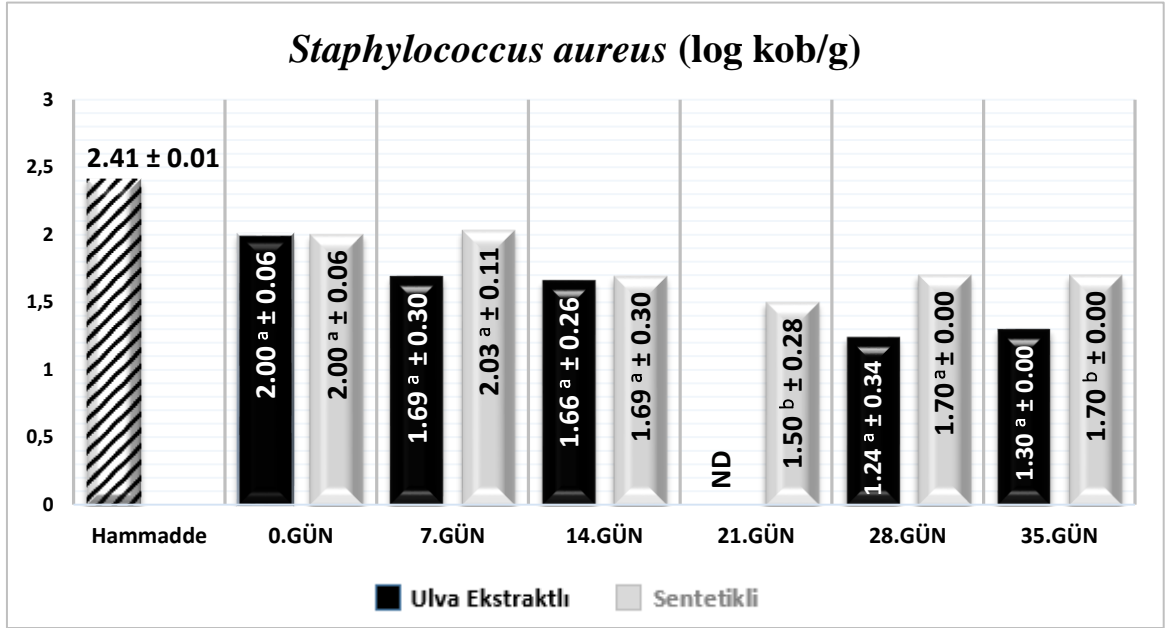
4.4.2.3. *Staphylococcus aureus* Sayımı

35 analiz günü boyunca soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmış olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüezlerin *S. aureus* bakteri yükleri 7 günlük periyotlarla yapılan mikrobiyolojik tetkiklerle kontrol edilmiştir. Bu analiz bulgularına Şekil 4.18'de yer verilmiştir.

Ançüez yapımına başlamadan önce hammaddenin *Staphylococcus aureus* açısından bakteriyal yükü tespit edilmiştir. Yapılan analizde kuru tuzlamadan çıkan sardalya filetolarında bulunan *Staphylococcus aureus* yükü 2.41 ± 0.10 log kob/g olarak saptanmıştır.

Ulva ekstraktlı ançüezlerde ilk gün 2.00 ± 0.06 log kob/g olan bakteri yükünün analizin son gününe kadar genel olarak düşüş eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. 7. depolama gününde 1.69 ± 0.30 log kob/g olarak tespit edilen bakteriyal yük 14.gün 1.66 ± 0.26 log kob/g bulunmuştur. 21.günde alınan numunelerde ise üreme tespit edilememiştir. Daha sonra, 28. ve sonuncu depolama günü olan 35.günde yapılan analizlerde tespit edilen bakteri yükleri ise sırasıyla 1.24 ± 0.34 log kob/g ve 1.30 ± 0.00 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Sentetik katkılı ançüezlerde yapılan mikrobiyolojik tetkiklerde ise 0.gün 2 ± 0.06 log kob/g ve 7.gün 2.03 ± 0.11 log kob/g bakteri yükü bulunmuştur. 14.günde yapılan analizde 1.69 ± 0.30 log kob/g, 21.gün 1.50 ± 0.28 log kob/g, 28 ve son analiz günü olan 35.günde ise 1.70 ± 0.00 log kob/g olarak değişmeyerek sabit kaldığı tespit edilmiştir. Depolamanın 21 ve 35. günlerinde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur.



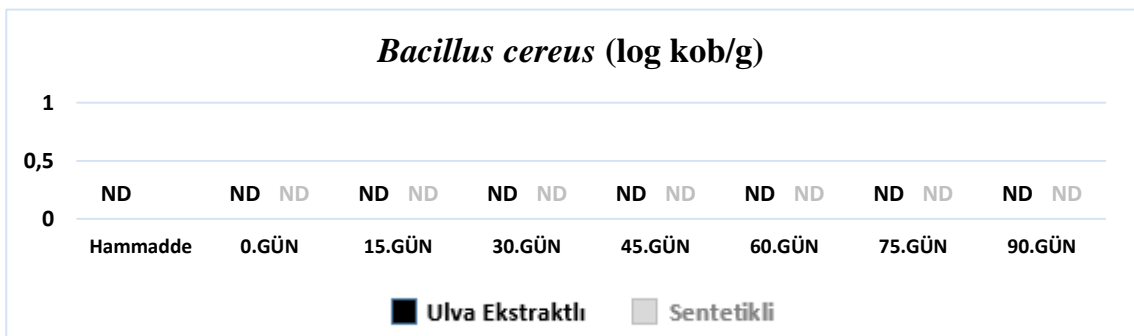
Şekil 4.18: Sardalya fileto ve ançüzlerde *S. aureus* bakteri yükü değişimleri.

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

4.4.2.4. *Bacillus cereus* Sayımı

4 ±2°C’de depolanan ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüzlerin *Bacillus cereus* bakterisi yükleri 35 gün boyunca 7 günde bir yapılan analizlerle kontrol edilmiştir.

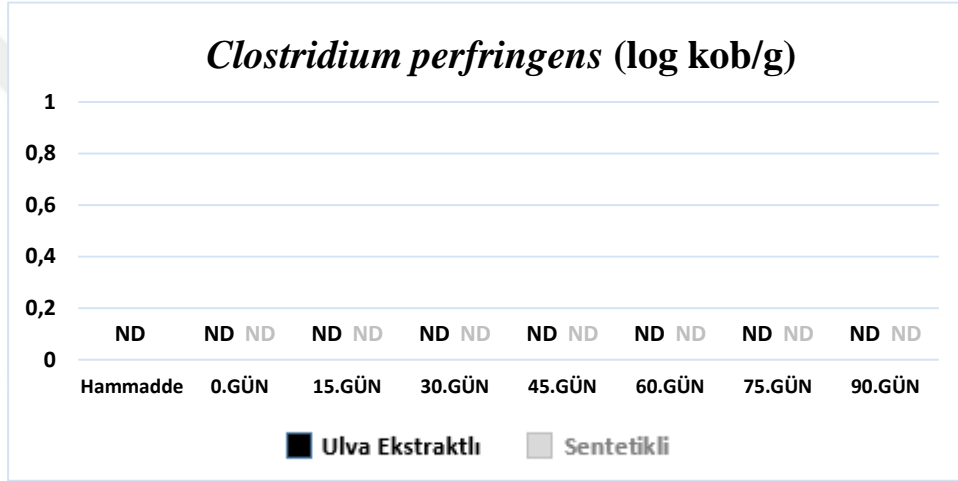
Ançüz yapımı öncesi hammadde olarak kullanılacak tuzlama işleminden çıkan sardalya filetoları *Bacillus cereus* bakteri yükünü tespit etmek amacıyla analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda da, filetolar ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı grubu olmak üzere iki ayrı grupta ançüze işlendikten sonra da alınan numunelerin hiçbirisinde, gerçekleştirilen mikrobiyolojik tetkikler sonucu olarak *Bacillus cereus* varlığına rastlanmamıştır. Analiz verilerine ilişkin grafik Şekil 4.19’da yer almaktadır.



Şekil 4.19: Sardalya fileto ve ançüzlerde *B. cereus* bakteri yükü durumları.

4.4.2.5. *Clostridium perfringens* Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait ançüezler *Clostridium perfringens* bakteri yükü bakımından durumları 35 depolama günü süresince 7 günlük periyotlarla yapılan analizlerle izlenmiştir. Ayrıca, başlangıç yükü tespiti amaçlı hammadde olarak kullanılacak olan tuzlama işlemi sonrası sardalya filetoalarının durumları araştırılmıştır. Hem hammaddeden hem de ulva ekstraktı ve sentetik katkılı gruba ait ançüezlerden belli periyotlarla alınan hiçbir numunede yapılan mikrobiyolojik tetkikler sonucu *Clostridium perfringens* varlığına rastlanmamıştır. Analiz verilerine ilişkin grafik Şekil 4.20'de yer almaktadır.



Şekil 4.20: Sardalya fileto ve ançüezlerde *C. perfringens* bakteri yükü durumları.

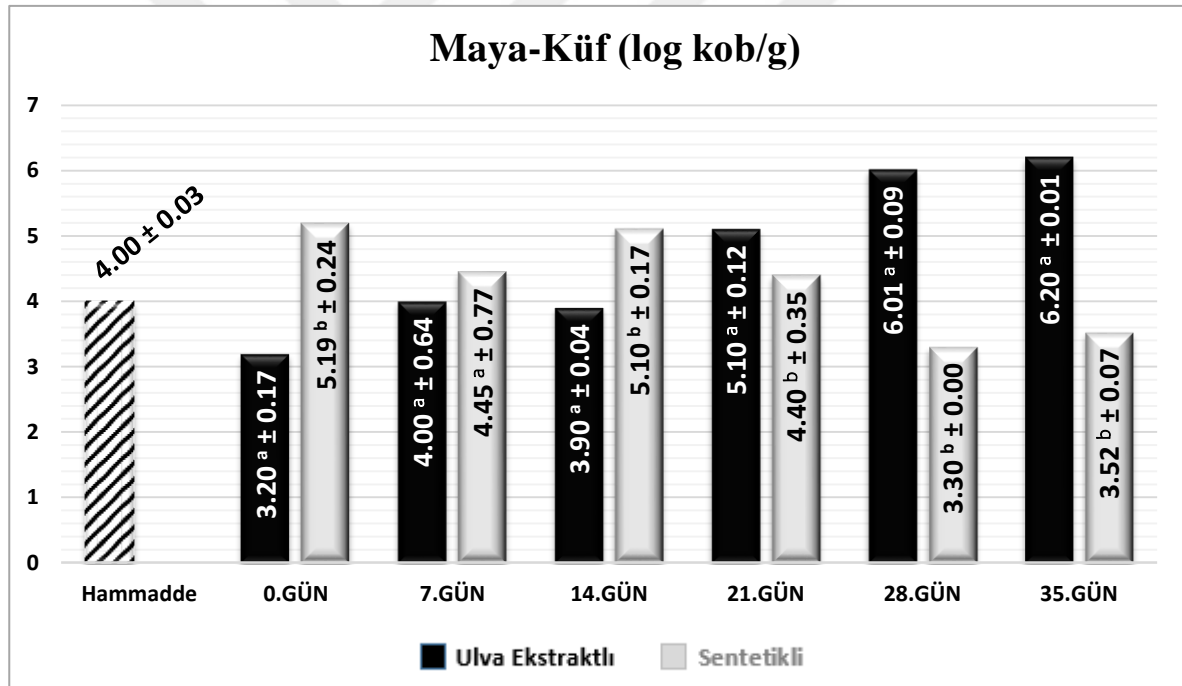
4.4.2.6. Toplam Maya-Küf Sayımı

35 analiz günü boyunca soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmış olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüezlere ait toplam maya-küf sayımı bulguları 7 günlük aralıklarla tespit edilmiştir. Bu analiz bulgularına Şekil 4.21'de yer verilmiştir. Başlangıç olarak hammadde olarak kullanılan tuzlama işleminden geçmiş sardalya balığı filetoalarında toplam maya küf analizi sonucu 4.00 ± 0.03 log kob/g düzeyinde bir maya küf yükü tespit edilmiştir.

Daha sonra gruplara ait son ürünler üzerinde periyodik yapılan toplam maya küf analizleri gerçekleştirilmiştir. Ulva ekstraktlı ançüezlerden ilk gün alınan numunelerde 3.20 ± 0.17 log

kob/g olarak tespit edilen maya-küf yükü miktarı, 7.gün analizinde 4.00 ± 0.64 log kob/g ve 14.gün analizinde 3.90 ± 0.04 log kob/g düzeyinde olarak kaydedilmiştir. 21.gün 5.10 ± 0.12 log kob/g olarak bulunan maya küf yükü miktarı 28.depolama gününde 6.01 ± 0.09 log kob/g'e kadar ulaşmıştır. Son depolama günü olan 35.günde ise artış devam ederek 6.20 ± 0.01 log kob/g düzeyinde gerçekleşmiştir.

Sentetik katkılı ançüzlerde ise ilk analiz gününde 5.19 ± 0.24 log kob/g olarak tespit edilen toplam maya küf miktarı 7. analiz gününde 4.45 ± 0.77 log kob/g ve 14.günde 5.10 ± 0.17 log kob/g olarak bulunmuştur. Daha sonraki analiz günlerinde bu miktar 21.gün 4.40 ± 0.35 log kob/g, 28.gün 3.30 ± 0.00 log kob/g ve son analiz günü olan 35.günde 3.52 ± 0.07 log kob/g olarak tespit edilmiştir. 7. depolama günü dışındaki günlerde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur.



Şekil 4.21: Sardalya fileto ve ançüzlerde toplam maya küf yükü değişimleri.

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

4.4.3. Duyusal Analiz Bulguları

Sentetik ve *Ulva lactuca* ekstraktı katkılı ançüz grupları panelistlerce renk, tekstür, sürülebilirlik, tat-lezzet, koku ve genel kabul edilebilirlik kriterleri açısından 7 günlük periyotlarla 35 gün boyunca değerlendirilmeye alınmıştır. Ürün gruplarına ait her bir kriterlerin haftalık değişimlerinin panelistlerce değerlendirilmesine ait detaylı puanlama

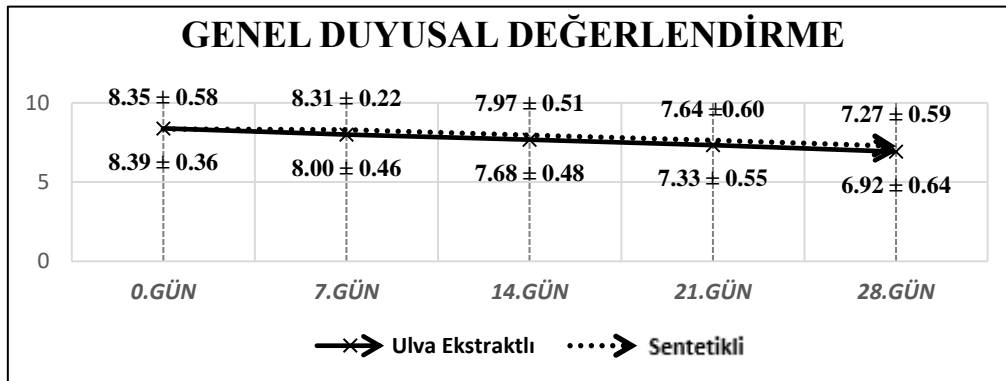
verileri Tablo 4.14'deki gibidir. Ayrıca, her bir analiz gününde, üründe değerlendirilmesi istenen kriterlere panelistlerce verilen puanların toplamı ortalaması alınmıştır ve böylece genel bir ürün puanı oluşturulmuştur. Bu verilere ait grafik ise Şekil 4.22'de sunulmuştur.

İlk analiz günü, *Ulva lactuca* ekstraktlı ançüzelerde 8.39 ± 0.36 ve sentetik katkılı ançüzelerde 8.35 ± 0.58 olarak kaydedilen genel ürün değerlendirme puanları, 28. depolama günü sonunda *ulva* ekstraktlı ançüzelerde 6.92 ± 0.64 , sentetik katkılı ançüzelerde ise 7.27 ± 0.59 olarak tespit edilmiştir. Ürün ambalajlarının genelinde 35. depolama gününde görsel olarak maya-küf tespit edildiği için o gün duyuşal değerlendirme yapılmamıştır ve ürünlerin raf ömrünü tamamlamış olduğu kabul edilmiştir. Buna göre, sentetik katkılı gruba ait ançüzeler, 28. depolama gününde yapılan duyuşal değerlendirme neticesinde "Çok İyi" kategoride, *ulva* katkılı ançüzeler ise "İyi" kategoride puanlanarak duyuşal değerlendirmeler sonlandırılmıştır.

Tablo 4.14: Ançüzede kategori bazında duyuşal değerlendirmeler.

KRİTERLER	0.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	21.GÜN	28.GÜN
<i>Renk S</i>	9.00 ±0.00	8.25 ±0.50	7.75 ±0.50	7.88 ±0.58	7.82 ±0.96
<i>Renk U</i>	9.00 ±0.00	8.00 ±0.25	7.50 ±0.58	7.64 ±0.12	7.32 ±0.32
<i>Tekstür S</i>	8.00 ±0.82	8.50 ±0.58	7.33 ±0.66	7.30 ±0.37	7.90 ±0.66
<i>Tekstür U</i>	8.67 ±0.58	8.50 ±0.58	7.33 ±0.15	7.22 ±0.42	7.74 ±0.82
<i>Sürülebilirlik S</i>	8.00 ±0.89	8.63 ±0.48	8.00 ±0.78	8.10 ±0.49	7.70 ±0.89
<i>Sürülebilirlik U</i>	8.00 ±0.89	8.50 ±0.58	8.00 ±0.22	7.48 ±0.39	7.42 ±0.84
<i>Tat S</i>	7.60 ±0.55	8.25 ±0.50	8.75 ±0.50	7.10 ±0.15	6.83 ±0.66
<i>Tat U</i>	8.00 ±0.76	8.00 ±0.65	8.25 ±0.50	7.04 ±0.22	6.41 ±0.78
<i>Koku S</i>	9.00 ±0.00	8.25 ±0.50	7.67 ±0.58	7.00 ±0.18	6.72 ±0.33
<i>Koku U</i>	8.33 ±0.58	7.33 ±0.65	7.00 ±0.58	6.50 ±0.61	6.38 ±0.41
<i>G.Kabul S</i>	8.50 ±0.58	8.00 ±0.00	8.33 ±0.58	8.48 ±0.76	6.66 ±0.58
<i>G.Kabul U</i>	8.33 ±0.32	7.67 ±0.58	8.00 ±0.00	8.12 ±0.51	6.26 ±0.58

*U: *Ulva* Ekstraktlı, S:Sentetik Katkılı



Şekil 4.22: Ançüz gruplarının genel duyuşal değerlendirmesi.

4.5. SALAMA AİT BULGULAR

4.5.1. Kimyasal Analiz Bulguları

4.5.1.1. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Bulguları

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait salamlar 15 günde bir 90 gün süresince TBA analizine tabi tutulmuşlardır. Bu analiz sonucu elde edilen verilere aşağıda Tablo 4.15 ve Şekil 4.23'de yer verilmiştir.

Tablo 4.15: Salamlarda ölçümlenen TBARS değerleri tablosu.

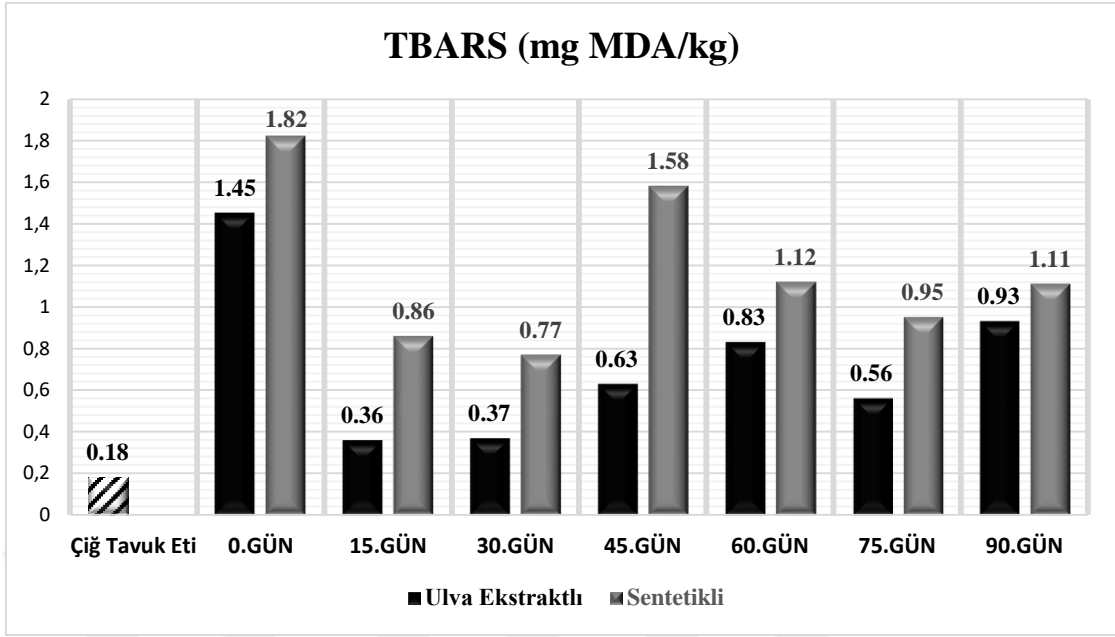
Analiz Günleri	SALAM	
	TBARS (mg MDA/ kg)	
	<i>Ulva lactuca</i> Ekstraktlı	Sentetik Katkılı
0	1.45 ^a ± 0.06	1.82 ^b ± 0.05
15	0.36 ^a ± 0.01	0.86 ^b ± 0.01
30	0.37 ^a ± 0.01	0.77 ^b ± 0.01
45	0.63 ^a ± 0.02	1.58 ^b ± 0.02
60	0.83 ^a ± 0.01	1.12 ^b ± 0.01
75	0.56 ^a ± 0.01	0.95 ^b ± 0.03
90	0.93 ^a ± 0.01	1.11 ^b ± 0.01

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler
p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

Salam hammaddesi olarak kullanılmak üzere temin edilen çığ tavuk eti işlenmeden önce TBA analizine tabi tutulmuştur. Analiz sonucu elde edilen neticeye göre çığ tavuk etlerinde 0.18 ± 0.03 mg MDA/kg olarak TBA değeri tespit edilmiştir.

Son ürün olan *Ulva lactuca* ekstraktı içeren salamlarda 0.gün 1.45 ± 0.06 mg MDA/kg ölçülen TBA değeri, son analiz günü olan 90. analiz gününde % 35.86 düşüşle 0.93 ± 0.01 mg MDA/kg olarak ölçülmüştür.

Sentetik katkılı salamlarda ise ilk gün 1.82 ± 0.05 mg MDA/kg ölçülen TBA değeri son analiz günü olan 90.günde % 39.01 düşüşle 1.11 ± 0.01 mg MDA/kg olarak ölçülmüştür. Tüm depolama günlerinde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur.



Şekil 4.23: Hammadde ve salamlarda TBARS değişim grafiği.

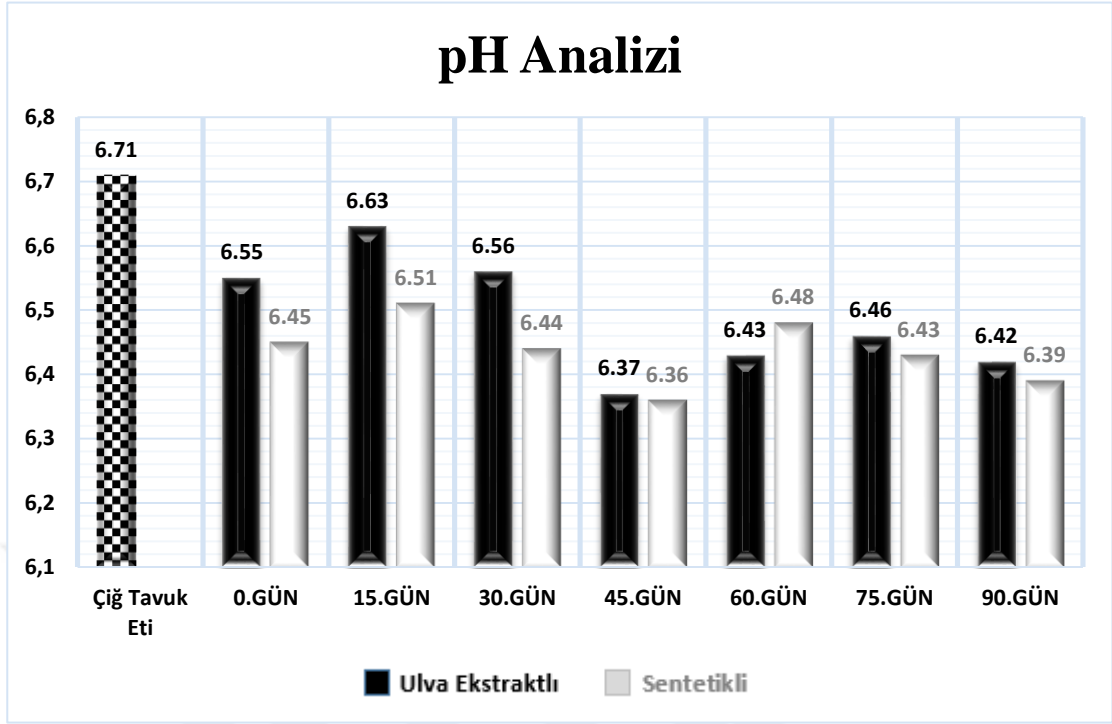
4.5.1.2. pH Analizi Bulguları

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı gruba ait salamların 15 günde bir 90 gün süresince pH değişimleri izlenmiştir. Bu analiz sonucu elde edilen verilere aşağıda Tablo 4.16 ve Şekil 4.24'de yer verilmiştir.

Tablo 4.16: Salamlarda pH değişim tablosu.

Analiz Günleri	SALAM	
	pH Analizi Sonuçları	
	<i>Ulva lactuca</i> Ekstraktlı	Sentetik Katkılı
0	6.55 ^a ±0.01	6.45 ^b ±0.01
15	6.63 ^a ±0.02	6.51 ^b ±0.01
30	6.56 ^a ±0.03	6.44 ^b ±0.01
45	6.37 ^a ±0.01	6.36 ^a ±0.01
60	6.43 ^a ±0.00	6.48 ^b ±0.00
75	6.46 ^a ±0.00	6.43 ^b ±0.00
90	6.42 ^a ±0.01	6.39 ^b ±0.01

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)



Şekil 4.24: Hammaddede ve analiz günlerindeki salamlarda pH değişim grafiği.

Salam yapımında hammadde olarak kullanılan çiğ tavuk etinde pH değeri 6.71 ± 0.01 olarak kaydedilmiştir. *Ulva lactuca* ekstraktlı salamlarda ilk analiz gününde pH değeri 6.55 olarak ölçülmüştür. Bu değer son analiz günü olan 90.gün sonunda 6.42 ± 0.01 olarak ölçülmüştür. Sentetik katkılı salamlarda ise ilk analiz günü 6.45 ± 0.01 olarak ölçülen pH değeri, 90.gün sonunda 6.39 ± 0.01 olarak ölçülmüştür. Depolamanın 45. gün dışındaki günlerinde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.

4.5.2. Mikrobiyolojik Bulgular

4.5.2.1. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda toplam psikrofil bakteri yükleri her analiz gününde ayrı olarak tespit edilmiştir. Bu analize ait bulgulara aşağıdaki Şekil 4.25'de yer verilmiştir.

Bu iki salam grubunun yapımında kullanılan çiğ tavuk etinden alınan numune üzerinde de psikrofil bakteri yükü salam yapımı öncesi tespit edilmiştir. Bu analiz verisine göre, çiğ tavuk etlerindeki toplam psikrofil bakteri yükü 4.60 ± 0.02 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

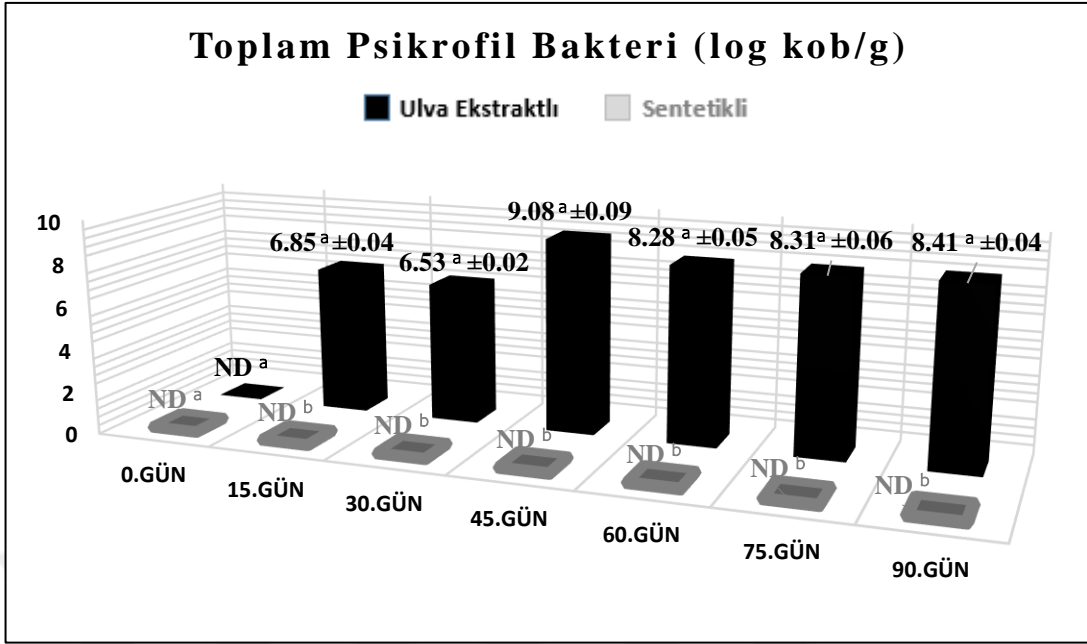
Her iki salam gruplarına ısıtma işlemi uygulamadan önce, çiğ tavuk etine diğer ingredientlerin ilavesi sonucu oluşan salam hamurlarından da numune alınarak, gruplara ait salam hamurlarının toplam psikrofil bakteri yükleri analiz edilmiştir. Bu analiz sonucuna göre ise ulva ekstraktlı salam hamurlarının psikrofil bakteri yükü 4.64 ± 0.07 log kob/g sentetik katkılı salam hamurlarının psikrofil bakteri yükü ise 4.40 ± 0.04 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu bilgilere aşağıda Tablo 4.17’de yer verilmiştir.

Tablo 4.17: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki toplam psikrofil bakteri yükleri.

Numune	Toplam Psikrofil Bakteri Yükü
Çiğ Tavuk Eti	4.60 ± 0.02 log kob/g
Ulva Ekstraktlı Hamur	4.64 ± 0.07 log kob/g
Sentetik Katkılı Hamur	4.40 ± 0.04 log kob/g

Salam yapımı sonrası her analiz gününde gruplardan numuneler alınmıştır. Ulva ekstraktlı salamlarda 0. analiz gününde psikrofilik bakteri üremesi görülmemiştir. 15. analiz gününde ise bakteri yükü 6.85 ± 0.04 log kob/g’ a kadar yükselmiştir. 30.gün analizinde 6.53 ± 0.02 log kob/g düzeyinde hafif bir düşüş göstermiştir. Daha sonra 45. analiz gününde 9.08 ± 0.09 log kob/g’ a kadar tekrar yükseliş yaparak tekrar düşüş göstermiş ve 60. analiz gününde 8.28 ± 0.05 log kob/g olarak kaydedilmiştir. Bakteri yükü 75. ve son analiz günü olan 90. analiz günlerinde ise sırasıyla 8.31 ± 0.06 ve 8.41 ± 0.04 log kob/g olarak hafif bir dalgalanmayla yatay seyrine devam etmiştir. Sentetik katkılı salamlarda ise tüm analiz günlerinde herhangi bir psikrofil bakteri yükü gözlenmiştir.

Depolamanın 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş olup diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.



Şekil 4.25: Salamlarda toplam psikrofil bakteri yükü değişimleri.

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

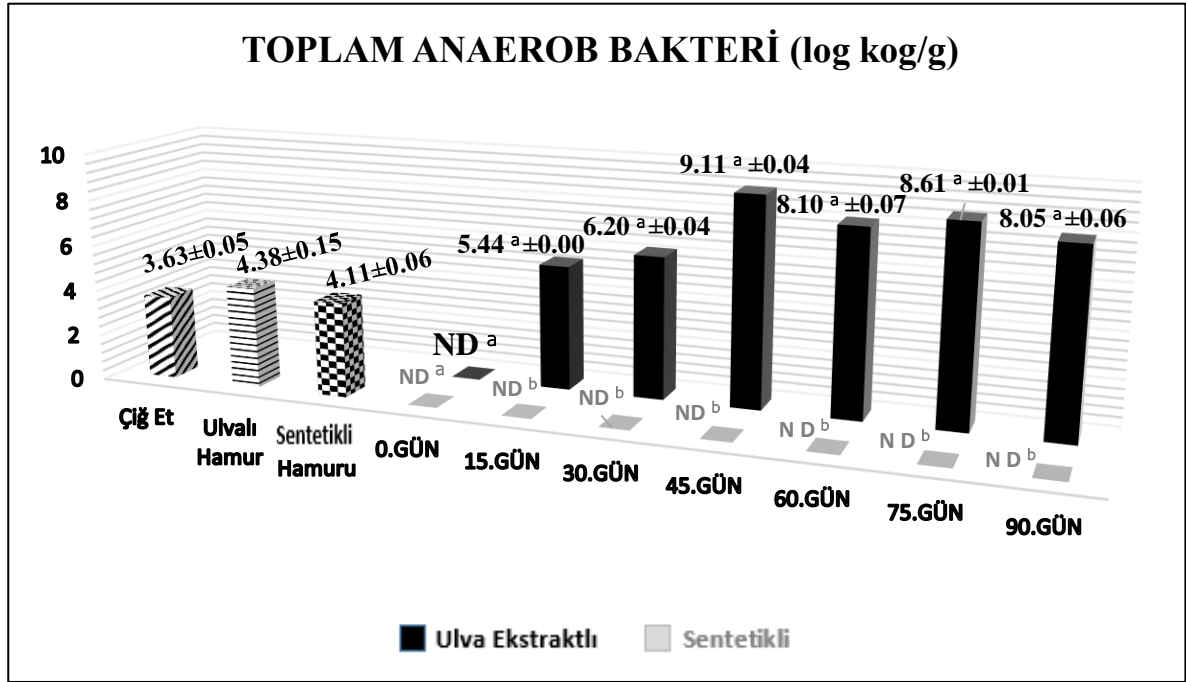
4.5.2.2. Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkı salamlarda toplam anaerobik bakteri yükleri her analiz gününde ayrı ayrı kaydedilmiştir. Bu analizlere ait sonuçlara aşağıdaki Şekil 4.26'da yer verilmiştir

Salamlarda yapımında kullanılacak hammadde olan çiğ tavuk eti ve ingredientlerle muamele edilmiş her iki gruba ait salam hamurlarının pişirme işlemi öncesi toplam anaerobik bakteri yükleri tespit edilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre toplam anaerobik bakteri yükü çiğ tavuk etinde 3.63 ± 0.05 log kob/g olarak kaydedilirken, ulva ekstraktlı salam hamurunda 4.38 ± 0.15 log kob/g, sentetik katkı salama hamurunda ise 4.11 ± 0.06 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu verilere Tablo 4.18'de yer verilmiştir.

Tablo 4.18: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki toplam anaerobik bakteri yükleri.

Numuneler	Toplam Anaerobik Bakteri Yükü
Çiğ Tavuk Eti	3.63 ± 0.05 log kob/g
Ulva Ekstraktlı Hamur	4.38 ± 0.15 log kob/g
Sentetik katkı Hamur	4.11 ± 0.06 log kob/g



Şekil 4.26: Hammadde ve salamlarda toplam anaerobik bakteri yükü değişimleri.

(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

Pişirme işlemi sonrası soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan her iki gruba ait salamlarda da 0. analiz gününde toplam anaerobik bakteri yükü tespit edilememiştir. Daha sonraki tüm analiz günlerinde de sentetik katkılı salamlarda anaerobik bakteri üremesi görülmemiştir. Ulva ekstraktı içeren tavuk salamlarında ise 0. analiz günü üreme görülmezken, 15.günde 5.44 ± 0.00 log kob/g düzeyine bir artış görülmüştür. Bir sonraki analiz günü olan 30.günde ise alınan numunelerde bakteri sayısı 6.20 ± 0.02 log kob/g olmuştur. Bakteri sayısındaki artış 45.gün de devam ederek en yüksek düzeye ulaşmıştır ve 9.11 ± 0.04 log kob/g olarak kaydedilmiştir. Takip eden 60, 75 ve 90. analiz günlerinde ise üreme miktarı bir miktar düşerek inişli çıkışlı bir seyir izlemiştir. Bu veriler ise sırasıyla, 8.10 ± 0.02 , 8.61 ± 0.01 ve 8.05 ± 0.06 log kob/g olarak saptanmıştır.

Depolamanın 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerde gruplar arası değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş olup diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.

4.5.2.3. *Staphylococcus aureus* Sayımı

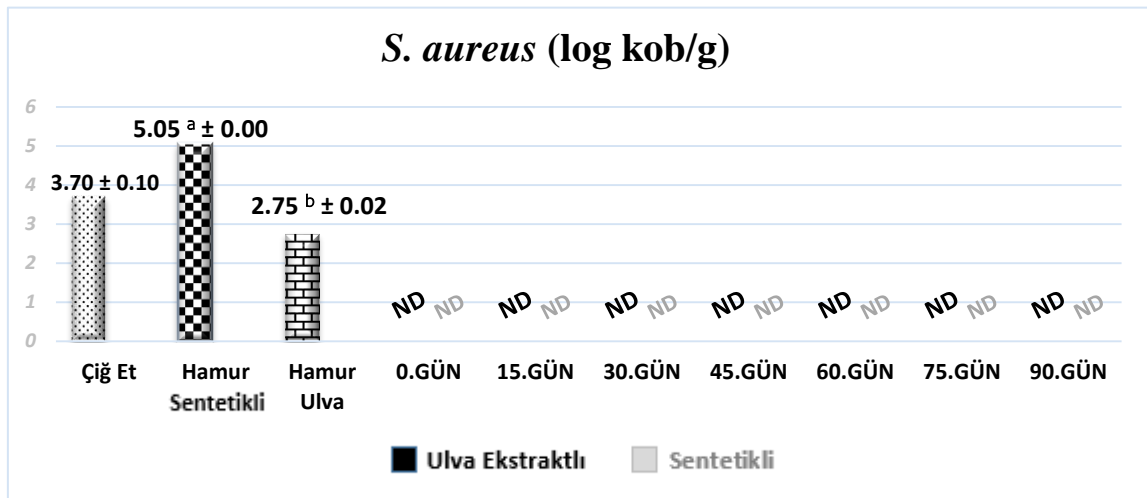
Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda *Staphylococcus aureus* bakterisi yükleri 90 gün boyunca 15 günde bir yapılan analizlerle kontrol edilmiştir.

Ayrıca salam yapımında kullanılacak çiğ tavuk etinde ve ingredientleri ilave edilmiş gruplara ait salam hamurlarında da *Staphylococcus aureus* bakterisi kontrolleri yapılmıştır. Bu sentetik katkılı sonuçlarına göre, çiğ tavuk etinde 3.70 ± 0.10 log kob/g, ulva ekstraktlı salam hamurunda 2.75 ± 0.02 log kob/g, sentetik katkılı salam hamurunda ise 5.05 ± 0.00 log kob/g bakteri yükü tespit edilmiştir. Bu bilgiler aşağıda yer alan Tablo 4.19'da toplu olarak verilmiştir.

Tablo 4.19: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki *S. aureus* yükleri.

Numuneler	<i>S. aureus</i> Yükü
Çiğ Tavuk Eti	3.70 ± 0.10 log kob/g
Ulva Ekstraktlı Hamur	2.75 ± 0.02 log kob/g
Sentetik Katkılı Hamur	5.05 ± 0.00 log kob/g

Son ürünlerden olan ulva ekstraktlı salamlardan alınan numunelerde 90 günlük depolanma süreci boyunca 15 günde bir yapılan tüm analizlerde ise *Staphylococcus aureus* üremesi tespit edilememiştir. Sentetik katkılı salamlarda da depolama süreci boyunca yapılan tüm *S. aureus* sayımlarında herhangi bir üremeye rastlanmamıştır. Tüm bu bulgulara ilişkin veriler aşağıda Şekil 4.27'de gösterilmiştir. Pişirme işlemi öncesi sentetikli salam ve ulvalı salam hamurları arasındaki değerlerin karşılaştırması $p < 0.05$ güven aralığında önemli bulunmuş olup diğer günlerde ise fark bulunmamıştır.



Şekil 4.27: Hammadde ve salamlarda *S. aureus* yükü değişimleri.

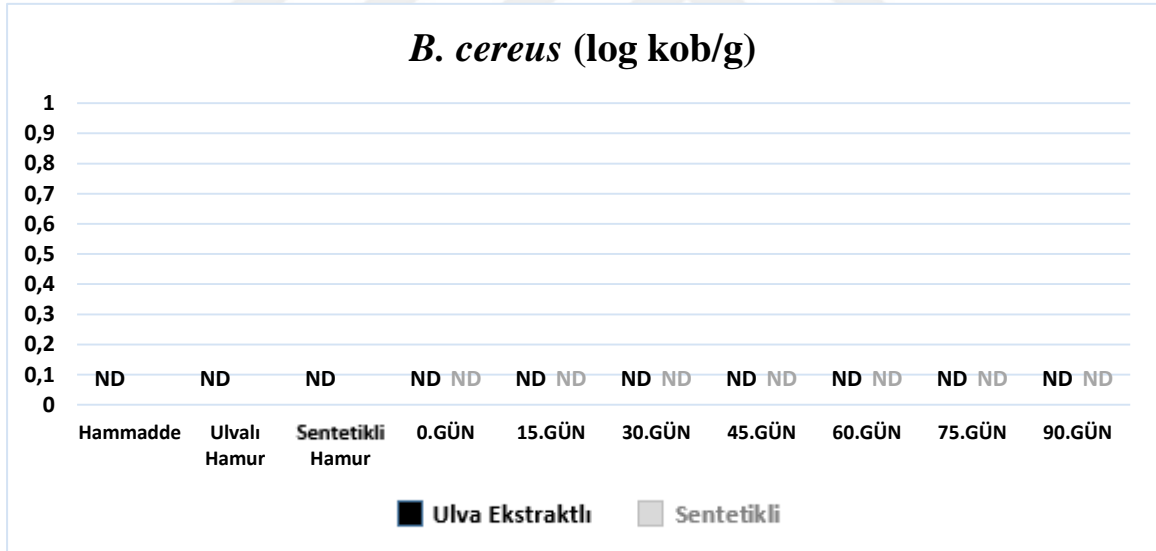
(a,b: aynı gündeki gruplar arası farklı harfler $p < 0,05$ aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

4.5.2.4. *Bacillus cereus* Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda *Bacillus cereus* bakterisi yükleri 90 gün boyunca 15 günde bir yapılan analizlerle kontrol edilmiştir.

Salam üretimi öncesi hammadde olarak kullanılacak olan çiğ tavuk eti ve gruplara ait ingredientleri ilave edilerek hazırlanan salam hamurları da başlangıçtaki *Bacillus cereus* bakteri yükünü tespit etmek amacıyla analiz edilmiştir.

Yapılan bu analiz sonuçlarına göre çiğ tavuk etinde ve gruplara ait hamurlarda *Bacillus cereus* bakterisine ait bir üreme görülmemiştir. Ayrıca etlerin salama işlenmesi sonrasında depolama süresi boyunca ürünlerde periyodik olarak yapılan *Bacillus cereus* izlemesi sonucunda da bu bakteriye ait bir üreme tespit edilememiştir. Analiz verilerine ilişkin grafik Şekil 4.28'de yer almaktadır.



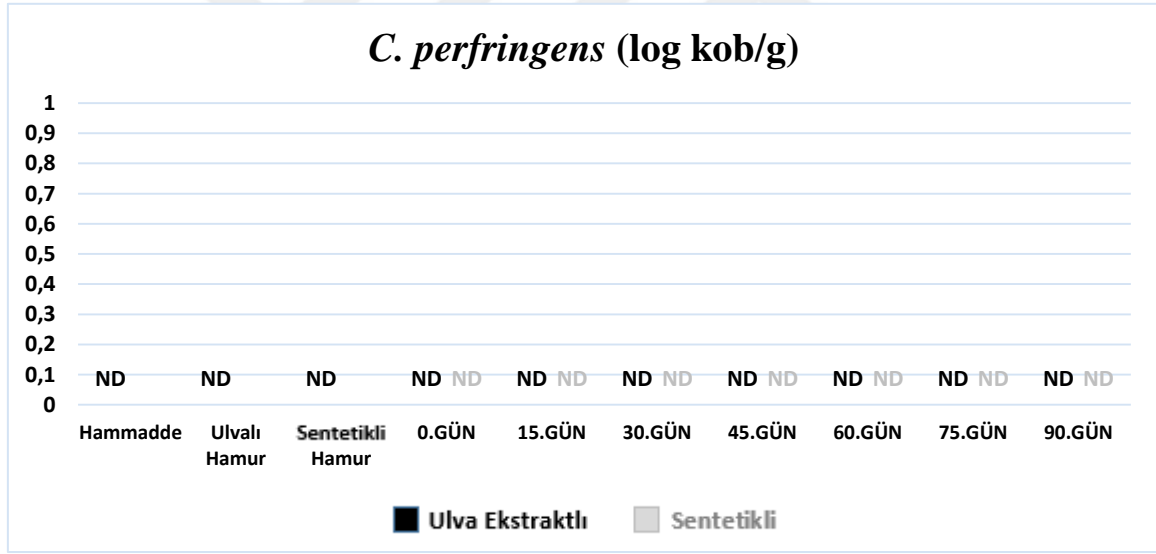
Şekil 4.28: Hammadde ve salamlarda *B. cereus* bakteri yükü tespitleri.

4.5.2.5. *Clostridium perfringens* Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda *Clostridium perfringens* bakterisi yükü 90 gün boyunca 15 günde bir yapılan analizlerle izlenmiştir.

Başlangıç yükü tespiti amaçlı hammadde olarak kullanılacak olan çiğ tavuk etinde ve her iki gruba ait salam hamurlarında *Clostridium perfringens* sayımı yapılmıştır. Bu analizlerin sonucu olarak, alınmış olan hiçbir numunede *Clostridium perfringens* üremesine rastlanmamıştır.

Her iki gruba ait salam numunelerinde 90 gün boyunca periyodik olarak yapılan analizlerde de *Clostridium perfringens* üremesine rastlanmamıştır. Analiz verilerine ilişkin grafik Şekil 4.29'da yer almaktadır.



Şekil 4.29: Hammadde ve salamlarda *Clostridium perfringens* bakteri yükü tespitleri.

4.5.2.6. Toplam Maya-Küf Sayımı

Soğuk hava deposunda $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmakta olan *Ulva lactuca* ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda maya-küf sayımları 90 gün boyunca 15 günde bir yapılan analizlerle izlenmiştir. Bulgulara ilişkin veriler Şekil 4.30'da yer almaktadır.

Hammadde olarak kullanılacak olan çiğ tavuk etinde ve her iki gruba ait salam hamurlarında da bu tetkikler yapılmıştır. Netice olarak, alınan numulere tespit edilen maya-küf sayıları çiğ

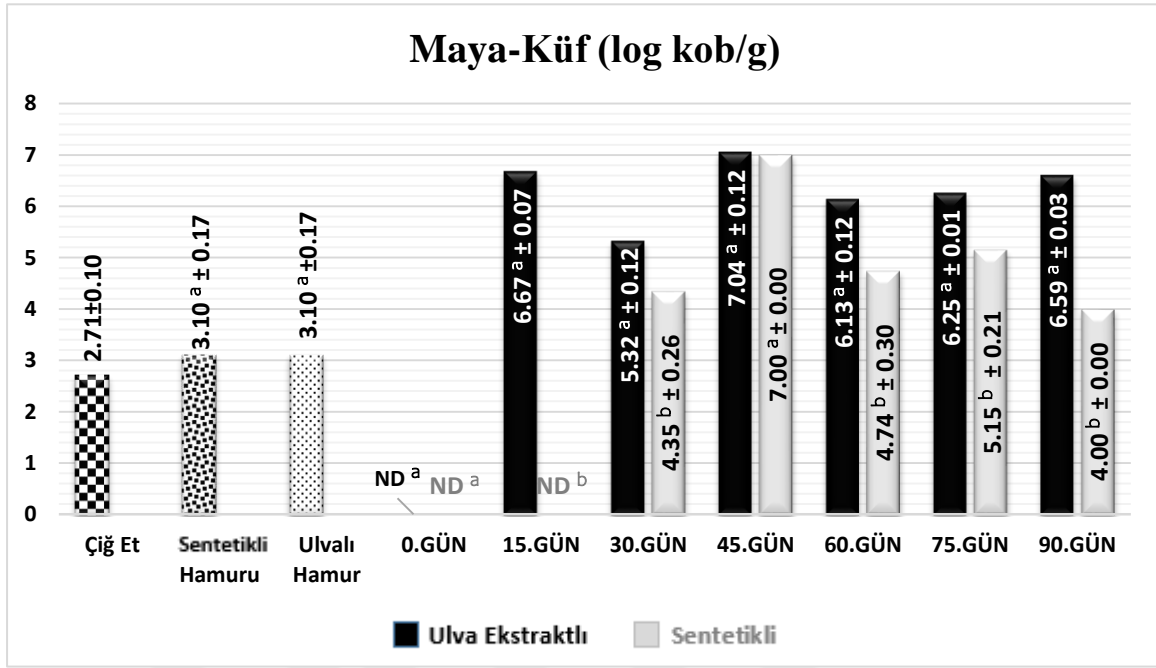
tavuk etinde 2.71 ± 0.10 log kob/g, ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı salam hamurlarında 3.10 ± 0.17 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Tablo 4.20’de özetlenmiştir.

Tablo 4.20: Salam yapımı öncesi hammaddelerdeki maya-küf sayımı sonuçları.

Numuneler	Maya-Küf Yüğü
Çiğ Tavuk Eti	2.71 ± 0.10 log kob/g
Ulva Ekstraktlı Hamur	3.10 ± 0.17 log kob/g
Sentetik Katkılı Hamur	3.10 ± 0.17 log kob/g

Ulva lactuca ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlardan 0. Analiz gününde alınan numunelerde maya-küf üremesi görülmemiştir. Ulva ekstraktlı salamlarda 0.gün tespit edilemeyen maya küf sayısı 15. analiz gününde 6.67 ± 0.04 log kob/g düzeyine ulaşmıştır. Daha sonraki analiz günü olan 30.günde 5.32 ± 0.12 log kob/g olarak tespit edilen maya küf sayısı 45.günde 7.04 ± 0.12 log kob/g, 60.günde 6.13 ± 0.12 log kob/g, 75.günde 6.25 ± 0.01 log kob/g ve son analiz gününde ise 6.59 ± 0.03 log kob/g olarak kaydedilmiştir.

Sentetik katkılı salamlarda 0 ve 15. analiz günlerinde tespit edilemeyen maya küf yükü, 30. analiz gününde 4.35 ± 0.26 log kob/g düzeyine ulaştıktan sonra 45.gün 7.00 ± 0.00 log kob/g düzeyine yükselmiştir ve 60.günde 4.74 ± 0.30 log kob/g seviyesine gerileyip 75. ve son analiz günü olan 90.günde sırasıyla 5.15 ± 0.21 log kob/g ve 4.00 ± 0.00 log kob/g düzeylerinde dalgalı bir seyir izlemiştir.



Şekil 4.30: Hammadde ve salamlarda maya-küf yükü tespitleri.
(a,b: aynı günde ki gruplar arası farklı harfler p<0,05 aralığındaki önemi ortaya koymaktadır.)

4.5.3. Duyusal Analiz Bulguları

Sentetik katkı ve *Ulva lactuca* ekstraktlı salam grupları panelistlerce renk, tekstür, gevreklik, tat-lezzet, koku ve genel kabul edilebilirlik kriterleri açısından 15 günlük periyotlarla 90 gün boyunca değerlendirilmeye alınmıştır.

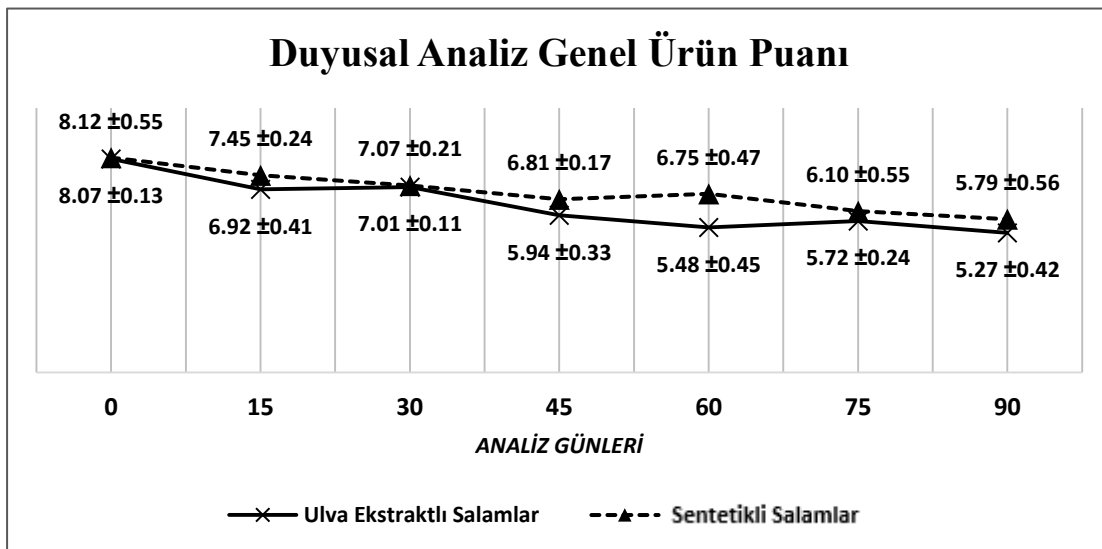
Ürün gruplarına ait her bir kriterin 15 günlük değişimlerinin panelistlerce değerlendirilmesine ait detaylı puanlama verileri Tablo 4.21'deki gibidir. Ayrıca, her bir analiz gününde, üründe değerlendirilmesi istenen kriterlere panelistlerce verilen puanların toplanıp ortalaması alınarak bir genel ürün değerlendirme puanı oluşturulmuştur. Bu verilere ait grafik ise Şekil 4.31'de gösterilmektedir.

Ulva ekstraktlı salamlarda 15.depolama gününde mikrobiyolojik açıdan bozulma tespit edildiği için, tüm salam gruplarında 15.günden sonra yapılan duyusal değerlendirmeler tat-lezzet ve gevreklik kriterlerini içermemektedir. Ulva ekstraktlı salamlar mikrobiyolojik bozulmanın tespit edildiği 15.güne kadar değerlendirme skalasına göre panelistlerce 6.92 ± 0.41 ile "İyi" kategoride olarak puanlanmıştır. Ulvalı salamlar ilk analiz gününde yapılan değerlendirmede ise 8.07 ± 0.13 olarak "Mükemmel" kategoride puanlanmıştır.

Bundan sonraki tat-lezzet ve gevreklik kriterlerini içermeyen genel ürün değerlendirmelerinde, 30.gün 7.01 ± 0.11 puanı kaydedilmiştir ve takip eden analiz günlerinde genel ürün puanı düşüş eğilimine girerek 5 seviyelerine kadar düşmüştür. Sentetik katkı salamlarda ise ilk gün 8.12 ± 0.55 "Mükemmel" olarak kaydedilen genel ürün puanı son analiz günü olan 90.günde panelistlerce 5.79 ± 0.56 "İyi" durumda olarak değerlendirilmiştir. Bu grupta maya küf sayısı kaynaklı mikrobiyolojik bozulma başlangıcı 30.günde tespit edilmiştir. Bu yüzden 45.günden sonra panelistlerden tat-lezzet ve gevreklik kriterlerini puanlamaları istenilmiştir.

Tablo 4.21: Salam gruplarında duyuşal değişimlerin izlenmesi.

KRİTERLER	0.GÜN	15.GÜN	30.GÜN	45.GÜN	60.GÜN	75.GÜN	90.GÜN
<i>Renk (Sentetikli)</i>	8.40 ± 0.55	7.43 ± 0.53	7.22 ± 0.47	8.00 ± 0.50	7.67 ± 0.58	7.53 ± 0.45	7.02 ± 0.38
<i>Renk (Ulvalı)</i>	8.33 ± 0.58	7.33 ± 0.58	7.38 ± 0.51	7.67 ± 0.58	6.00 ± 0.00	5.75 ± 0.25	4.75 ± 0.37
<i>Tekstür S</i>	7.80 ± 0.45	7.60 ± 0.55	7.58 ± 0.33	7.67 ± 0.58	8.33 ± 0.47	7.56 ± 0.41	7.52 ± 0.26
<i>Tekstür U</i>	8.00 ± 0.00	7.20 ± 0.45	7.24 ± 0.28	7.33 ± 0.58	7.75 ± 0.50	7.48 ± 0.39	7.00 ± 0.44
<i>Gevreklik S</i>	8.00 ± 0.00	7.00 ± 0.00	6.87 ± 0.41	6.75 ± 0.33	X	X	X
<i>Gevreklik U</i>	8.00 ± 0.00	7.00 ± 0.00	X	X	X	X	X
<i>Tat S</i>	7.25 ± 0.50	7.50 ± 0.71	7.32 ± 0.21	7.08 ± 0.15	X	X	X
<i>Tat U</i>	8.10 ± 0.55	6.50 ± 0.86	X	X	X	X	X
<i>Koku S</i>	8.75 ± 0.50	7.43 ± 0.53	7.20 ± 0.24	5.67 ± 0.58	5.50 ± 0.12	5.42 ± 0.47	5.24 ± 0.45
<i>Koku U</i>	8.00 ± 0.57	6.33 ± 0.52	6.54 ± 0.14	4.75 ± 0.35	3.50 ± 0.15	3.62 ± 0.32	3.54 ± 0.55
<i>G.Kabul S</i>	8.50 ± 0.58	7.71 ± 0.49	7.29 ± 0.33	5.67 ± 0.58	5.50 ± 0.50	5.68 ± 0.67	5.63 ± 0.58
<i>G.Kabul U</i>	8.00 ± 0.00	7.17 ± 0.29	6.88 ± 0.69	4.00 ± 0.00	4.67 ± 0.58	4.24 ± 0.70	3.50 ± 0.61



Şekil 4.31: Salam gruplarının genel duyuşal değerlendirmesi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI

Kurutulmuş 2-3 mm büyüklüğünde pul formundaki *Ulva lactuca* cinsi deniz alginden saf etanol, aseton, etil asetat, dietil eter, petrol eter olmak üzere 5 farklı solvent kullanarak değişik ekstraktlar geliştirilmiştir.

Campylobacter jejuni, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerinin, elde edilen bu ekstraktlara karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

Aseton kullanılarak elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus*'a karşı 12.0 ± 0.7 mm, *Bacillus cereus*'a karşı 7.0 ± 0.0 mm, *Campylobacter jejuni* bakterisine karşı ise 9.0 ± 0.0 mm inhibisyon zonu oluşturarak antimikrobiyal etki göstermiştir. Ayrıca, *Bacillus cereus*'a karşı etki gösteren ekstraktın elde edilmesinde kullanılan tek solvent türü aseton olmuştur.

Dietil eter kullanılarak elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus*'a karşı 9.8 ± 0.3 mm, *Campylobacter jejuni*'ye karşı ise 12.5 ± 0.7 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Etanol ile hazırlanmış ekstraktlar sadece *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı etki göstermiştir ve inhibisyon zonu ölçümü ise 14.8 ± 0.3 mm olarak ölçülmüştür.

Bu çalışmada kaydedilen en yüksek inhibisyon zonu etil asetat ile hazırlanmış ekstraktlarda *Campylobacter jejuni*'ye karşı 15.5 ± 0.7 mm olarak görülmüştür. Bunun yanında, etil asetat ile hazırlanmış ekstraktlar *Staphylococcus aureus*'a karşı ise 12.7 ± 0.3 mm bir inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Petrol eter kullanılarak elde edilen ekstraktlar ise sadece *Staphylococcus aureus*'a karşı 9.0 ± 0.5 mm ölçüsünde bir inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Her solvent ile elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus*'a karşı bir antibakteriyal etki göstermiştir fakat bu ekstraktlar içerisinde *S. aureus*'a karşı en geniş çapı veren 14.8 ± 0.3 mm ile etanol ile elde edilen ekstrakt olmuştur. Aseton ile elde edilen ulva ekstraktları ise daha fazla bakteri türüne karşı etki gösterdiği tespit edilmiştir ve bu yüzden yapılacak olan salam ve ançüez ürünleri içerisindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Sirbu ve diğ. (2019) yapmış oldukları çalışmada $100 \mu\text{g/mL}$ *Ulva lactuca* etanol ekstraktının *S. aureus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonunu yapmış olduğu denemelerde 4.6 mm, 5.9 mm ve 7.8 mm olarak tespit etmiş olduğunu bildirmiştir.

Massoud ve diğ. (2017) benzer yöntem kullanarak elde ettikleri ve konsantrasyonunu $100 \mu\text{m}$ olarak belirttikleri metanol *Ulva lactuca* ekstraktı ile *S. aureus*'a karşı 20 mm zon çapı kaydettiklerini belirtmişlerdir.

Ekstrakt konsantrasyonunun belirtilmediği Sasikala ve diğ. (2017)'nin yapmış olduğu çalışmada metanolla farklı bir yöntemle elde edilen *Ulva lactuca* ekstraktı *S. aureus*'a karşı bir antimikrobiyal bir güç tespit gösterememiştir. *B. cereus*'a karşı ise 8.02 mm zon çapı oluştuğu bildirilmiştir.

Nithya ve diğ. (2016) farklı yöntem kullanarak elde ettikleri 0.1 mg/mL konsantrasyonundaki *Ulva lactuca* ekstraktından *S. aureus*'a karşı en düşük 3 mm en yüksek ise 6 mm, *Bacillus cereus*'a karşı ise en düşük 1 mm en yüksek 6 mm zon çapı elde etmişlerdir.

Zahrani ve diğ. (2016) farklı yöntemle elde ettikleri 30 mg/mL konsantrasyonundaki *Ulva lactuca* etanol ekstraktında *S. aureus*'a karşı 25 mm inhibisyon zonu çapı elde etmişlerdir. Konsantrasyonu 100 mg/mL 'ye çıkardıklarında ise zon çapının 5 mm daha genişlediğini görmüşlerdir.

Sujina ve diğ. (2016) aynı yöntemle elde ettikleri konsantrasyonunu belirtmedikleri çalışmalarında aseton *Ulva lactuca* ekstraktının *Clostridium perfringens* bakterisine karşı 20 mm inhibisyon zonu elde oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasıyla benzer bir ekstraksiyon yöntemine sahip Priya ve Poonguhali (2015)'nin yapmış olduğu çalışmada etanol ve petrol eter *Ulva lactuca* ekstraktı stok çözeltisinin $25 \mu\text{g}'$ ı alınarak antibakteriyal etkisi *S. aureus*'a karşı denenmiştir. Etanol ekstraktında 13.22 mm zon çapı ölçülürken, petrol eter ekstraktında ise 15.22 mm olarak ölçülmüştür.

Khaliq ve diğ. (2014)'nin farklı yöntem kullanarak elde ettiği *Ulva lactuca* ekstraktı 100 µL (100 mg/mL) konsantrasyonda *S. aureus*'a karşı 22 mm, *Bacillus cereus*'a karşı 12.6 mm, *Salmonella typhimurium*'a karşı ise 22.1 mm inhibisyon zonu ölçmüştür. Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında ise 10 mg/mL konsantrasyon kullanılmıştır ve bu konsantrasyonda *Salmonella typhimurium* karşı etki görülmezken, 10 kat daha az konsantrasyon (10 mg/mL) denenmesine rağmen *S. aureus*'a karşı 14.83 ±0.30 mm ve *B. cereus*'a karşı 7±0.00 mm etki kaydedilmiştir.

Bu çalışmada aynı yöntemle ve aynı solventle *S. typhimurium*'a karşı etki görülmezken Saritha ve diğ. (2013)'nin aynı yöntemle aseton kullanarak elde ettiği 50 µL konsantrasyonundaki *Ulva lactuca* ekstraktının *Salmonella typhimurium*'a karşı 20 mm inhibisyon çapı oluşturduğunu bildirmiştir. Bu durum, Nithya ve diğ. (2016)'nın çalışmasında ele aldığı gibi alglerin bulunduğu bölgeye göre aynı bakteri türüne gösterdiği antimikrobiyal etkinin farklılık gösterebileceğine bağlanmıştır.

Kolanjinathan ve Stella (2011) farklı solvent ve yöntemle elde ettikleri konsantrasyonu 5 mg/mL ayarlanmış *Ulva lactuca* metanol ekstraktlarında *S. aureus*'a karşı en yüksek 13 mm, *Bacillus cereus*'a karşı ise en yüksek 16 mm inhibisyon zonu elde etmişlerdir. Asetonla elde edilen 5 mg/mL konsantrasyondaki ekstrakta *S. aureus*'a karşı 13 mm, *Bacillus cereus*'a karşı 14 mm, etil asetat ile elde ettikleri 5 mg/mL konsantrasyonundaki ekstrakta *S. aureus*'a karşı 10 mm, *B. cereus*'a karşı ise 9 mm zon çapı elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise asetonla elde edilmiş 10 mg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlarda *S. aureus*'a karşı 12.0 mm, *B. cereus*'a karşı 7.0 mm zon elde edilmiştir. Aradaki farkın ekstraksiyon yönteminden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ayrıca konsantrasyondaki artış oranıyla aynı miktarda da antibakteriyel gücün artmadığı anlaşılmaktadır.

Alang ve diğ. (2009) etanol ve su karışımı çözeltide mesarasyon yöntemi ile elde ettikleri 1 mg/mL konsantrasyonundaki *Ulva lactuca* ekstraktında *S. aureus*'a karşı 8 mm zon çapı elde etmişlerdir.

Konsantrasyonun artırma oranı ile antimikrobiyal gücün artması arasında belli bir oran bulunmamaktadır ve bu çalışmada elde edilen verilerle diğer literatür verileri farklılık gösterebilmektedir. Ekstraksiyon işleminde birçok değişken mevcuttur. Bunlar, tercih edilen ekstraksiyon yöntemi, solvent türü, solvent konsantrasyonu, aynı türün suş farklılıkları, ekstrakt konsantrasyonu, evaporasyon sıcaklıkları ve ön işlemlerdeki farklılıklar gibi

durumlardır. Ancak genel olarak antibakteriyal etki ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak belirsiz oranlarda artış gösterebilmektedir ve hiçbir ekstrakt ticari sentetik antibiyotikler kadar etkili değildir. *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* bakterilerine karşı *Ulva lactuca*'nın antimikrobiyal gücü ile ilgili literatüre rastlanmamıştır. *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı etkisini inceleyen literatür sayısı ise çok kısıtlıdır.

Perez ve diğ. (1990) yapmış oldukları çalışmada *Ulva lactuca*'nın antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığını bildirmesine rağmen bu çalışmada *Ulva lactuca*'nın *S. aureus*, *B. cereus*, *C. jejuni* bakterilerine karşı antibakteriyal etkisi tespit edilmiştir.

5.2. DPPH SERBEST RADİKAL GİDERİM AKTİVİTESİ SONUÇLARI

Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanarak elde edilen *Ulva lactuca* ekstratlarının serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH analizi ile tespit edilmiştir. Yapılan analiz sonucuna göre en yüksek DPPH giderim aktivitesini % 24.96 (± 0.00) ile *Ulva lactuca* petrol eter ekstraktı, daha sonra ise % 21.65 (± 0.03) ile dietil eter ekstraktı göstermiştir.

3. sırada ise % 15.88 (± 0.02) giderim aktivite değeri ile etil asetat yer almaktadır, daha sonra bunu % 11.30 (± 0.02) ile aseton ekstraktı izlemektedir. Sonucu sırada ise % 10.05 (± 0.03) değeri ile etanol ekstraktı yer almaktadır.

Chidambararajan ve diğ. (2019) 100 μ g etanol ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktivitesini % 78.5 olarak bulmuşlardır.

Malki ve diğ. (2018) *Ulva lactuca*'nın etil asetat ve etanol ekstraktlarında giderim kapasitesini sırasıyla, % 19 ve % 42 olarak tespit etmişlerdir.

Whankatte ve Ambhore (2016) 1 mg/mL konsantrasyonundaki *Ulva lactuca* etanol ekstraktında % 6.20 bulmuş oldukları giderim yüzdesini, etil asetat ekstraktında % 6.22, petrol eter ekstraktında ise % 4.26 olarak tespit etmişlerdir.

Leelavathi ve Prasad (2014) petrol eter *Ulva lactuca* ekstraktı üzerinde yapmış oldukları DPPH analizinde, 750 μ g örneğin üzerindeki miktarlarında serbest radikal giderim aktivitesi değerini % 50 olarak tespit etmişlerdir. 1000 μ g konsantrasyondaki metanol ekstraktı

örneğinde yaptıkları analizde ise maksimum % 14 oranında bir giderim kaydetmişlerdir. En yüksek serbest giderim ve antioksidan kapasitesini petrol eter ekstraktı göstermiştir.

Saranya ve diğ. (2014) farklı yöntemle elde ettikleri aseton *Ulva lactuca* ekstraktında % 41 oranında DPPH radikal süpürücü aktivite tespit etmişlerdir.

Kokabi ve diğ. (2013) etil asetat kullanarak elde ettikleri *Ulva lactuca* ekstraktında kendi çalışmaları içindeki en yüksek serbest radikal giderim aktivitesini IC₅₀ 62.13 µg/mL olarak elde etmişlerdir.

Baky ve diğ. (2008) dikloro metan ve metanol kullanarak elde ettiği *Ulva lactuca* ekstraktlarındaki antioksidan verim oranını % 71-77 arası bulduğunu bildirmiştir.

Literatürlede ekstraktın elde ediliş yöntemi, kullanılan solvent türü ve karışım yüzdeleri, analiz edilen ekstrakt konsantrasyonları farklı olduğundan dolayı sonuçlar değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada petrol eter ve dietil eter düşük kaynama noktalı solventlerdir. Ekstraktlarına düşük sıcaklıklarda evaporasyon işlemi uygulandığından dolayı serbest radikal giderim aktivitesinin aseton, etanol ve etil asetat ekstraktlarına kıyasla daha yüksek çıkmış olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, bu durum Bilgin ve diğ. (2013)'nin yapmış olduğu çalışmada antioksidatif özellikteki maddelerin sıcaklığın artırılmasıyla degrade olduğunu belirtmesiyle açıklanabilmektedir.

5.3. TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MADDE TAYİNİ SONUÇLARI

Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanarak elde edilen *Ulva lactuca* ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriklerinin tayini Folin Ciocaltaeu reaktifi ile belirlenmiştir.

Yapılan analiz sonucu olarak en yüksek toplam fenolik içerik aseton ekstraktlarında 55.65 mg-GAE/g ve daha sonra etil asetat ekstraktlarında 52.98 mg-GAE/g olarak tespit edilmiştir. Bunları sırasıyla, 25 mg-GAE/g ile etanol ekstraktı, 23.07 mg-GAE/g ile dietil eter ekstraktı ve 8.39 mg-GAE/g ile en düşük miktar petrol eter ekstraktlarında kaydedilmiştir.

Sirbu ve diğ. (2019) *Ulva lactuca* etanol ekstraktının toplam fenolik madde içeriği 2.85 mg-GAE/g olarak tespit etmişlerdir. Tanımlayabildikleri ve ölçebildikleri % 79.6 oranındaki bu

fenolik içeriğin % 46'sı gentisik asit, % 25.5'i protokatekuik asit ve % 4.55'i kafeik asitten oluşmakta olduğunu bildirmektedir.

Ambhore ve Whankatte (2018) yapmış oldukları çalışmada toplam fenolik madde miktarlarını etanol ekstraktında 22.02 mg-GAE/g, etil asetat ekstaktında 21.25 mg-GAE/g, petrol eter ekstraktında ise 3.16 mg-GAE/g olarak bulmuşlardır.

Malki ve diğ. (2018) etil asetat ile elde ettiği ekstraktlarda 77.3 mg-GAE/g, etanol ile elde ettiği ekstraktlarda ise 45.5 mg-GAE/g toplam fenolik içerik tespit etmiştir.

Rosas ve diğ. (2017) *Ulva lactuca* metanol ekstraktında 11.68 mg-GAE/g miktarında toplam fenolik madde içeriği saptadıklarını bildirmişlerdir.

Saranya ve diğ. (2014) yapmış olduğu çalışmada farklı bir yöntemle elde ettiği *Ulva lactuca* aseton ekstraktında yaklaşık olarak bildirdiği toplam fenolik madde miktarı 0.5 mg-GAE/g olmuştur.

Baki ve diğ. (2008) diklorometan ve metanol ile elde ettiği farklı *Ulva lactuca* ekstraktlarındaki toplam fenolik içerik miktarını 4.60 ve 4.80 mg-GAE/g olarak tespit etmiştir.

Bu çalışmada en düşük fenolik madde miktarı Ambhore ve Whankatte (2018) yapmış olduğu çalışmadaki gibi petrol eter ekstraktında elde edilmiştir ve etanol ekstraktında saptamış oldukları toplam fenolik madde miktarıyla benzerlik göstermiştir. Her çalışmada kullanılmış olan ekstraksiyon yöntemi, solvent türü ve konsantrasyonu, materyalin hasat edildiği zaman, habitat özellikleri, canlının hangi hayat evresinde olduğu gibi birçok değişkenin olması farklı sonuçların elde edilmesine sebep olmuştur.

Bazı araştırmacılar antioksidan aktivitesi ve fenolik içerik arasında güçlü bir korrelasyon olduğunu bildirirken (Sirbu, 2019), bazı araştırmacıların ise bu durumu inkâr etmekte olduğunu bildirmektedir (Meenakshi, 2009). Bu araştırma bulgusundan çıkarılan sonuç ise, genel eğilim olarak antioksidan aktivitesi en yüksek olarak saptanan ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin ters orantılı bir davranış göstererek en düşük miktarda çıkmasıdır.

Ayrıca Sirbu ve diğ. (2019) yeşil alglerin antibakteriyal etki güçlerinin içermiş oldukları yüksek fenolik madde içerik konsantrasyonlarının sonucu olduğunu belirtmektedir. Bu

çalışmada ise en yüksek fenolik içerik aseton ve etil asetat kullanılarak elde edilen *Ulva lactuca* ekstraktlarında tespit edilmiştir. Aseton ve etil asetat ekstraktı ise bu çalışmada en geniş antibakteriyal etki elde edilen solvent türleridir ve aynı zamanda en yüksek fenolik madde içerik saptanan aseton ekstraktı daha fazla sayıda bakteri türüne (*S. aureus*, *B. cereus* ve *C. jejuni*) etki etmiştir. Bu çalışmada elde edilen bu sonuçlar genel olarak Sirbu ve diğ. (2019)'nin ifadesini doğrular niteliktedir. Bu açıdan bakılarak bir antibakteriyal etki sıralaması yapıldığında etanol ekstraktı ile dietil eter ekstraktının kendi aralarında yer değiştirmiş olması bu genellemeyi bir anlamda bozmaktadır fakat genel eğilim olarak Sirbu ve diğ. (2019)'nin bu ifadesi yerinde bulunmaktadır.

5.4. ANÇÜEZE İLİŞKİN SONUÇLAR

5.4.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar

5.4.1.1. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı

Ançüez yapımından önce hammadde olarak kullanılacak olan sardalya balığı etinin başlangıçtaki psikrofil bakteriyal yükü 5.70 ± 0.03 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Ürün tuzlama prosesinden çıkmasının hemen ardından ançüeze işlendikten sonra, ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüezlerden alınan 0.gün numunelerinde toplam psikrofil bakteri yükü sırasıyla 3.30 ± 0.04 ve 3.39 log kob/g olarak saptanmıştır.

Psikrofil bakteriler soğuk ortamda stoklanmakta olan su ürünlerinin kalitelerinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Psikrofil bakteriler soğuk depolanan ürünlerde bozulmaya yol açmaktadır. Gıda güvenliği açısından Mol ve diğ. (2007) balıklarda toplam psikrofilik aerofilik bakteri açısından tüketim sınır değerinin 6 log kob/g olarak alınmasını tavsiye etmiştir.

Koruyucu olarak *Ulva lactuca* ekstraktı içeren ançüezlerdeki psikrofil bakteri yükü 28.depolama gününe kadar tüketilebilir sınır değerleri içinde kalmıştır. Koruyucu madde olarak sodyum benzoat içeren sentetik katkılı ançüezlerde toplam psikrofil bakteri yükü miktarı 3.39 ± 0.01 ve 4.36 ± 0.12 log lob/g aralığında dalgalanmıştır. Sodyum benzoat içeren ançüezler 35 depolama günü boyunca tüketilebilir limit değeri içerisinde kalmıştır. Ulva ekstraktlı ançüezde ise toplam psikrofil bakteri açısından 28 günlük bir raf ömrü tespit edilmiştir.

Ançüz üretimiyle benzer bir üretim prosesine sahip, ülkemizce geleneksel bir yiyecek türü olan çiğ köfte, Baygar ve diğ. (2008) tarafından gökkuşuğu alabalığı eti kullanılarak üretilmiştir ve 2 ayrı değişik gaz karışımı kontrol grubuna karşı denenmek üzere modifiye atmosfer altında paketlenmiştir. Hammadde olarak kullanılacak gökkuşuğu alabalığında psikrofil bakteri yükü <1 log kob/g olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda 5.günün sonunda 5.90 log kob/g psikrofil mikroorganizma sayısı tespit edilirken, 2 değişik gaz karışımında MAP tekniği ile paketlenmiş gruplarda da 9.günün sonunda ilkinde 6.77 log kob/g, diğerinde ise 5.87 log kob/g psikrofil bakteri yükü tespit edilmiştir. Bu neticeye göre *Ulva lactuca* ekstraktının MAP altında paketlenen balık çiğ köftelerdeki psikrofil bakterilere karşı daha etkin olduğu anlaşılmaktadır.

Kılınç ve diğ. (2008) soğuk depolama boyunca sardalya köftelerinin kalitesindeki değişiklikler adlı çalışmasında, sardalya köfteleri çiğ olarak etrafı streç filmle kaplanmış plastik kutulara yerleştirilerek 4°C’de depolanmıştır. Hammadde sardalya etinde ise psikrofil bakteri yükünü 4.08 log kob/g bulmuşlardır. İşleme sonrası köftelerden alınan numunelerde yapılan analizlerde 1.gün 2.60 log kob/g düzeyinde psikrotrof bakteri tespit edilirken, depolamanın 5.gününde 5.98 log kob/g seviyesine yükselmiştir. Bu çalışmada ise ançüz hammaddesinde psikrofil bakteri sayısı 5.7 log kob/g iken, ürün üretildikten 28 gün sonra algli ançüzlerde 6.05 log kob/g psikrofil bakteri sayısı kaydedilmiştir.

Turhan ve diğ. (2001) hamsi balığı etinden ısı işlem uygulamadan hazırladıkları köfteleri streçle kapladıkları polietilen kaplara koyup çiğ olarak 4°C’de depolanmışlardır ve bu numuneler üzerinden belli aralıklarla mikrobiyolojik analiz yapmışlardır. Depolamanın ilk günü çiğ hamsi köftelerinde 1.6 log kob/g olan çoğu psikrotrof karakterdeki proteolitik bakteri sayısını 10.günde 7.76 log kob/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise ulva ekstraktlı ançüzlerde ise depolamanın 14.gününde bu sayı 3.74 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Akkuş ve diğ. (2004)’e göre, çiğ hamsi etinden elde edilen köftelerin soğuk depolanması sürecinde toplam psikrofil bakteri sayısının 9.depolama gününde 6.1 log kob/g’a ulaşmış olduğu bulunmuştur. Haşlanmış hamsi etinden yapılmış köftelerde ise 9.günde 6.8 log kob/g’ye ulaşmış olduğu bildirilmiştir.

Diler ve diğ. (2002) yapmış olduğu çalışmada, Eğrez balıklarının sıcak dumanlanması sonrasında 4°C’deki soğuk depolama sürecinin 7.gününde toplam psikrofil bakteri miktarının 7.40 log kob/g’ye ulaşmış olduğunu bildirmişlerdir.

Kılınç ve diğ. (2007) ısıtma işlemi görmeden sardalya balığı etinden hazırlanmış oldukları köfteleri dışı streçlenmiş olarak plastik kaplarda 4°C'de depolanmışlardır ve pişmemiş bu sardalya köftelerinin toplam psikrofil bakteri yükünün 5. depolama gününde 5.98 log kob/g'ye ulaşmış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kılıç (2005)'a ait bir çalışmada soğuk dumanlanmış vakum paketlenmiş gökkuşuğu alabalıklarında kontrol grubunda toplam psikrofil bakteri sayısı ilk depolama gününde 3.23 log kob/g iken 20. depolama gününde bu sayı 6.05 log kob/g'a yükselmiştir. Askorbik asit kullanılan soğuk dumanlanmış grupta ise depolamanın 20. gününde 5.00 log kob/g psikrofil bakteri sayısı tespit edilmiştir. Ulva ekstraktlı ançüez gruplarında ise, hammaddede 5.7 log kob/g tespit edilen psikrofil bakteri yükü 28. gün 6.05 log kob/g'ye ulaşmıştır.

Dumanlama işlemi ve MAP paketleme tekniği ile karşılaştırıldığında, benzer tip ısıtma işlemi görmemiş ya da yarı ısıtma işlemi görmüş ürünlerde *Ulva lactuca* ekstraktının tek başına veya diğer tekniklerle beraber kullanılmasıyla daha olumlu neticeler alınabileceği düşünülmektedir.

5.4.1.2. Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı

Toplam anaerobik bakteri yükü, ürün gruplarında ambalajlanmasında oksijensiz bir ortam sağlamaya çalışılmak isteniyorsa toplam bakteri yükü olarak araştırılması gereken bir mikrobiyolojik parametre olarak kullanılmaktadır (Halkman, 2005). Ançüezler cam kavanozları dolmaları yapıldıktan sonra başka bir işlem yapılmadan kapakları kapatılarak 4°C'de stoklanmışlardır.

Bu çalışmada ançüez üretiminde kullanılan sardalya balıklarındaki toplam anaerobik bakteri yükü 4.01 ± 0.02 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu sayı ançüez yapıldıktan sonra ilk analiz günü olan 0. günde sentetik katkılı grupta 4.55 ± 0.05 log kob/g'a yükselirken, *Ulva lactuca* ekstraktlı ançüezlerde ise 3.66 ± 0.34 log kob/g'a düşmüştür. Son analiz günü ise ulva ekstraktlı ançüezlerde toplam anaerobik bakteri sayısı 2.10 ± 0.17 log kob/g'a kadar düşmüştür. Sodyum benzoat içeren sentetik grupta ise bu sayı son analiz gününde 2.83 ± 0.30 log kob/g'a düşmüştür. Buradan, ançüezde kullanılan ulva ekstraktının, sentetik katkılı grupta koruyucu olarak kullanılan sodyum benzoata karşı daha başarılı şekilde rekabet edebildiği sonucuna varılmıştır. Tüm analiz günlerinde ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı ançüezlerdeki toplam anaerobik bakteri sayısı tüketim sınır limitini aşmamıştır.

Ançüz gruplarında, *Ulva lactuca* ekstraktı 35 analiz günü boyunca toplam anaerobik bakterilere karşı sodyum benzoattan daha etkin olmuştur. Ançüzlerde toplam anaerobik bakteri yüküne ait bir literatür verisine anaerob bakteri yükünün sınır limiti hakkında bir veri yoktur fakat, genel görüş olarak toplam bakteri yükü sınır limitinin, toplam anaerob bakteri yükü sınır limiti olarak kullanılabileceği görüşü hakimdir (Bell ve diğ., 2005).

Akçay, (2012) yapmış olduğu çalışmada antimikrobiyal madde katkılı yenilebilir filmlerin dumanlanmış balığın kalitesine etkisi adlı çalışmasında, +2°C’de vakum ambalaj altında depolanan kontrol grubuna ait sıcak dumanlanmış balık örneklerinde toplam anaerob bakteri yükü ilk gün <1 log kob/g iken, 1.hafta sonunda 6.42 log kob/g’ye ulaşmış olduğunu bildirmektedir. Üründeki *Ulva lactuca* ekstraktı, dumanlama tekniği ile karşılaştırıldığında, ulva ekstraktının üründeki toplam anaerobik bakterilere karşı daha etkin olabileceği düşüncesine varılmaktadır.

5.4.1.3. *Staphylococcus aureus* Sayımı

Ançüz yapımında kullanılacak olan sardalya balığı filetolarında yapılan analizde 2.41 log kob/g düzeyinde *Staphylococcus aureus* sayısına rastlanmıştır. Bu sayının ançüz yapımından sonra ulva ekstraktlı ançüzlerden alınan numunelerde ve sentetik katkılı ançüzlerde 2 ± 0.06 log kob/g seviyesine düştüğü görülmüştür. Depolamanın son gününe kadar bu sayı her iki grupta da Türk Gıda Kodeksi (T.G.K.), Su Ürünleri Yönetmeliği’nde bildirilen tüketim sınır değeri olan 3.69 log kob/g düzeyini aşmamıştır. Aynı kodeksin Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği’nde ise günlük hazır yemeklerde *Staphylococcus aureus* sayısı 2 log kob/g olarak sınırlandırılmıştır. Ançüz, ürün prosesinde ısıl işlem yer almadığı ve tüketim esnasında ısıl işlem görmediği için *Staphylococcus aureus* varlığının tespiti önem taşımaktadır.

Üründe *Staphylococcus aureus* varlığı çoğu zaman personel hijyeniyle alakalı bir uygunsuzluğu işaret etmektedir. Bu açıdan bakıldığında her iki grup ürünlerinin de 35 gün boyunca tüketilebilirlik limitlerini aşmadıkları görülmüştür.

Ulva lactuca ekstraktı ançüzlerde sodyum benzoattan daha başarılı olarak *Staphylococcus aureus* sayısına karşı olumlu etki göstermiştir. *Staphylococcus aureus* sayısı, ulva ekstraktlı ançüzlerde tüm analiz günlerinde, sentetik katkılı gruba göre daha az düzeyde tespit edilmiştir. Ulva katkılı ançüzlerde 0.gün tespit edilen *S. aureus* sayısı 35.son analiz günü % 35 oranında düşmüştür. Sodyum benzoat katkılı grupta ise bu düşüş oranı % 15’tir. Buna

göre, ançüez ürününde *S. aureus* inhibisyonu üzerinde ulva ekstraktının, sodyum benzoata göre % 20 daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Baygar ve diğ. (2008), gökkuşağı alabalığı etinden yapmış oldukları geleneksel çiğ köftenin raf ömrünü belirlenmesine ait çalışmada, modifiye atmosfer paketlenen ve 4°C'de stoklanan çiğ tüketime hazır, geleneksel çiğ köftelerde *S. aureus* tespit etmemişlerdir. Burada hammadde olarak kullanılacak olan donmuş alabalıkları 85°C suda 2 dakika tutulmuş olması *S. aureus* sayısını elimine etmiş olabileceği düşünülmektedir.

Gencer (2012) sardalya balığı etlerinde farklı işleme tekniği kullanarak elde ettiği balık ezmelerinin kalitesi üzerine yaptığı çalışmada sadece ilk günkü mikrobiyoloji analizlerini raporlamıştır. Bu verilere göre, hammadde olarak kullandığı tuzlanmış sardalya etinde *Staphylococcus aureus* miktarını hammadde tuzlanmış sardalya etlerinde 2.3 log kob/g olarak bildirirken, tuzlanmış sardalyadan elde ettiği balık ezmesindeki ilk günkü *Staphylococcus aureus* sayısını da 2.3 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Kılınç ve Şahin (2015) hamsi filetoalarını 100°C sıcaklıktaki % 4'lük tuzlu suda 5 dakika boyunca kaynatarak hazırladıkları balık ezmelerini 4°C'de depolamışlardır. İlk hafta analizinde ve 2.hafta analizlerinde sırasıyla 4.02 ve 4.20 log kob/g miktarında *Staphylococcus aureus* tespit etmişlerdir. Aynı şekilde midye etinden hazırladıkları ezmelerdeki *S. aureus* miktarı ise 1. hafta 3.99 log kob/g ve 2. hafta analizinde 4.02 log kob/g olarak çıkmıştır. Buradan anlaşılıyor ki, bu çalışmada ançüezde koruyucu nitelikte kullanılan ulva ekstraktı, ısı işlem görmüş ve koruyucu madde içermeyen bir ançüeze göre üründe *S. aureus* sayısını doğal bir katkı maddesi olarak kontrol etmede etkindir.

5.4.1.4. *Bacillus cereus* Sayımı

Bacillus cereus varlığı açısından iki ançüez grubu da 35 depolama günü boyunca 7 gün aralıklarla analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda hiçbir analiz gününde her iki grupta da *Bacillus cereus* varlığına rastlanmamıştır.

5.4.1.5. *Clostridium perfringens* Sayımı

Clostridium perfringens tespiti amaçlı ulva ekstraktı katkılı ançüezler ve sodyum benzoat içeren sentetik katkılı ançüezler 7 günlük periyotlarla 35 depolama günü boyunca izlenmiştir.

Bu süre boyunca yapılan analizlerin hiçbirinde her iki gruptan da alınan numunelerde *Clostridium perfringens* varlığına rastlanmamıştır.

5.4.1.6. *Toplam Maya Küf Sayımı*

Maya ve küfler balığın doğal florasında bulunmamaktadır. Bunlar işleme ekipmanları vasıtasıyla, ellenmeleri ile veyahut da topraktan gelmektedirler (Öksüztepe ve diğ., 2010). Ayrıca ürüne ait ingredientlerden de kaynaklanabilmektedir. Bu çalışmada ançüez yapımında kullanılan sardalya balıkları ançüeze işlenmeden önce maya küf başlangıç yükleri analiz edilmiştir. Bu analizin sonucuna göre ham madde olarak sardalya balıklarında 4 ± 0.03 log kob/g düzeyinde maya küf tespit edilmiştir. Ançüeze işlendikten sonra ilk analiz gününde bu değer ulva ekstraktlı ançüezlerden alınan numunelerde 3.2 log kob/g'ye düşmüştür. Sentetik katkılı ançüezlerde ise 5.19 log kob/g'ye yükselmiştir.

Ulva grubu ançüezlerde 14.güne kadar maya küf miktarı sentetik katkılı gruptan düşük miktarda seyretmiştir. Sentetik katkılı grupta ise 14.güne kadar yükseliş devam etmiştir ve sonraki günlerde maya küf sayısı düşüşe geçerken, bu defa ulva grubu ançüezlerde maya küf miktarı artışa geçmeye başlamıştır. *Ulva lactuca* ekstraktı hammaddedeki maya küf miktarını 14.analiz gününe kadar baskılamayı başarmıştır. Ulva grubu ançüezler maya küf sayısı açısından tüketim sınır değerine 28.depolama gününde ulaşmıştır. Genellikle, ulva ekstraktı sodyum benzoata karşı 28.güne kadar daha başarılı olarak rekabet edebilmiştir. Sentetik katkılı ançüezlerde ise 35.gün analizinde maya küf oranı 3.52 log kob/g çıkmış olmasına rağmen, 34.gün ürün ambalajlarında gözle görülebilir boyutta küf tespit edilmiştir. Bu yüzden sodyum benzoat içeren alglere raf ömrü 34 gün olarak kabul edilmiştir.



Şekil 5.1: Ançüz ambalajlarında görsel olarak tespit edilen küfler.

Schormüller (1968) işlenmiş su ürünlerinde su oranının % 13'ün üstünde olmasının maya ve küf sayısındaki artışını desteklemekte olduğunu bildirmiştir.

Aydın (2018) sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı etlerini ezme haline getirdikten sonra ingredient ilavesi yapmış ve bunları numune alma kavanozlarına aktardıktan sonra ezmelerin soğuk nokta sıcaklıkları 78°C oluncaya kadar bir grupta ohmik ısıtma yöntemi diğer grupta ise 98°C'lik su banyosu içerisinde geleneksel ısıtma yöntemi uygulayıp 4°C'de stoklamıştır. Daha sonra bu ürün gruplarını mikrobiyolojik olarak değerlendirmiştir. Buna göre ohmik ısıl işlem uygulanan balız ezmesinde 0.gün 2.14 log kob/g olan maya küf miktarı 21.gün 6.20 log kob/g'a ulaşmıştır. Geleneksel yöntemle ısıtan grupta ise 0.gün 2.28 log kob/g olan maya küf sayısı 36.gün 6.20 log kob/g olmuştur. Bu çalışmadaki ısıl işlem görmemiş ulva ekstraktlı ançuzlerde ise maya küf sayısı ilk analiz günü 3.20 ± 0.17 log kob/g iken, 21.günde 5.10 ± 0.12 log kob/g, 35.günde ise 6.20 ± 0.01 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Kaba ve diğ. (2014)'nin yapmış oldukları bir başka çalışmada, marine edilmiş palamut balığı etlerini geleneksel çiğ köfte yapımında kullanmışlardır. Daha sonra bunları polistiren plakalara yerleştirerek streç filmle kaplayıp 4°C'de stoklamışlardır. Balık oranının daha fazla kullanıldığı grupta (2:1) maya küf sayısı depolamanın 8.gününde 4.75 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Kaba ve diğ. (2013) 4°C’de vakum paket altında depolanan dumanlanmış palamut balık köftesi üzerinde yaptıkları mikrobiyolojik değerlendirmede, taze balıkta 4.08 log kob/g olan toplam maya küf sayısı depolamanın 10.gününde 6.32 log kob/g’ye ulaşmıştır.

Gencer (2012) sardalya balığı etlerinde farklı işleme tekniği kullanarak elde ettiği balık ezmelerinin kalitesi üzerine yaptığı çalışmada sadece ilk günkü mikrobiyoloji analizlerini raporlamıştır. Bu verilere göre, hammadde olarak kullandığı tuzlanmış sardalya etinde maya küf miktarını 2.70 log kob/g olarak bildirirken, tuzlanmış sardalyadan elde ettiği balık ezmesindeki ilk günkü maya küf sayısını 3.20 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Turhan ve diğ. (2001) çiğ olarak depolanıp belli periyotlarda mikrobiyolojik analize tabi tutulan hamsi köftelerinde depolamanın ilk gününde yaklaşık 3 log kob/g olarak bildirdikleri maya küf sayısı 10.analiz gününde yaklaşık 5 log kob/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise *Ulva* ekstraktlı ançüezlerde ilk gün 3.20 ± 0.17 log kob/g olarak bulunan maya küf sayısı 14. Analiz gününde 3.90 ± 0.04 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Ulva lactuca ekstraktı içeren ançüezlerle, yapılan diğer çalışmalar maya küf sayısı açısından karşılaştırıldığında, *Ulva lactuca* ekstraktı maya küf sayısını baskılamada dumanlama ve marinasyondan daha etkin olabileceği kanaatini vermektedir.

5.4.2. Kimyasal Analiz Sonuçları

5.4.2.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Analizi Sonuçları

Su ürünlerinin tazeliğinin anlaşılmasında en çok başvurulan kimyasal bir metot olan Toplam Uçucu Bazik Azot Tayini önemli bir parametredir. Bu metot sonucu elde edilen veriler, balık türü, cinsiyeti, yaşı ve beslenme durumu, avlanma zamanı, avlanma bölgesi, avlanma derinliği faktörlerinden etkilenmektedir (Gökoğlu, 1994). Üründeki mikroorganizmaların ve enzimlerin faaliyetler sonucunda TVB-N değerini en çok etkileyen proteinlerde bozulma ve uçucu azotlu bileşikler oluşmaktadır (Liu ve diğ., 2009).

Bu çalışmada balık ürününün analizi sonucu elde edilen TVB-N değerleri, Varlık ve diğ. (1993)’nin balık eti için belirlemiş oldukları aşağıda tabloda verilen kalite sınıflandırması baz alınarak yorumlanmıştır.

Tablo 5.1: Bahklarda TVB-N verilerinin değerlendirilmesi (Varlık ve diğ.1993).

$\leq 25\text{mg}/100\text{g}$	$25\text{mg}/100\text{g} - 30\text{mg}/100\text{g}$	$30\text{mg}/100\text{g} - 35\text{mg}/100\text{g}$	$>35\text{mg}/100\text{g}$
“ÇOK İYİ”	“İYİ”	“PAZARLANABİLİR”	“BOZULMUŞTUR”

Sodyum benzoat ve *Ulva lactuca* ekstraktı içeren ançüezler 7 günlük periyotlarda 35 gün boyunca TVB-N analizine tabi tutulmuşlardır. *Ulva* ekstraktı ançüezlerde 0.gün 3.70 ± 0.15 mg/100g olarak ölçülen TVB-N değeri 14.analiz gününe kadar 3.16 ± 0.19 mg/100g seviyesine düşmektedir. 14. analiz gününden sonra ise 21. analiz gününe kadar 4.45 ± 0.14 mg/100g seviyesine kadar artış kaydederek son analiz gününe kadar 4.40 ± 0.02 mg/100g sabit kalmıştır. Ürün durumu olarak, tüm analiz günleri için Varlık ve diğ. (1993) skalasına göre bir değerlendirme yapıldığında, ürünün “Çok İyi” kategorisinde olduğu anlaşılmaktadır.

Sodyum benzoat içeren ançüezlerde ise 0.gün TVB-N değeri 3.58 ± 0.08 olarak ölçülürken analizin son gününe kadar genel olarak bir artış eğilimdedir. Son analiz gününde ölçülen değer ise 5.64 ± 0.13 mg /100g olarak gerçekleşmiştir. Varlık ve diğ. (1993) skalasına göre bir değerlendirme yapıldığında, ürünün “Çok İyi” kategorisinde olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada bulguları ele alınan her iki gruba ait ançüezler karşılaştırıldığında, sodyum benzoatın ançüeze katılması, üründeki TVB-N değerindeki ilk günden son analiz gününe kadar olan artış oranını % 57.54 ile sınırlandırabilirken, *Ulva lactuca* ekstraktının ilave edilmesi, üründeki TVB-N artış değerini % 18.92 oranında sınırlandırmayı başarmıştır.

Kılınç ve diğ. (2008) soğuk depolama boyunca sardalya köftelerinin kalitesindeki değişiklikler adlı çalışmasında, koruyucu madde ilavesiz sardalya köfteleri çığ olarak etrafı streç filmle kaplanmış plastik kutulara yerleştirilerek 4°C’de depolanmıştır. 1.depolama gününde aldıkları numunelerde 12.11 mg/100g olan TVB-N değeri 5.depolama gününde 25.41 mg/100g ve 6.depolama gününde 29.55 mg/100g olarak ölçmüşlerdir.

Bilgin ve diğ. (2005) sıcak dumanlanmış sudak ve kadife balığı etlerinden bazı katkılarla ürettikleri sterilize edilmiş balık ezmelerini 4°C’de depolanmışlardır. Sudak balığı ezmelerinde depolamanın 1.gününde 15.40 mg/100g olarak buldukları TVB-N değerini 35. depolama günü sonunda 18.20 mg/100g olarak tespit etmişlerdir. Kadife balığı ezmesi üzerinde yaptıkları

analizde ise 1.gün 13.30 mg/100g ölçülen TVB-N değeri, 35. son depolama gününde 19.25 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Turhan ve diğ. (2001) çiğ olarak depolanıp belli periyotlarda kimyasal analize tabi tutulan çiğ hamsi köftelerinde yaklaşık olarak bildedikleri 10 mg/100g TVB-N değerini depolamanın 6. gününde 32.44 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Acar (2012) zeytin yaprağı ekstresinin 4°C'de soğukta kilitli poşetlerde depolanmış sardalya kıymasına etkisini araştıran çalışmada, % 1 zeytin yaprağı ekstresi içeren sardalya kıymalarında 0.gündeki TVB-N değeri 10.5 mg/100g olarak bulunurken 10.gün 33.18 mg/100g olarak tespit edilmiştir. % 2 zeytin yaprağı içeren sardalya köftelerinde ise 0.gün 10.29 mg/100g olarak bulunan TVB-N değeri son depolama günü olan 10.günde 14.91 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Aydın (2018) sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı etlerini ezme haline getirdikten sonra ingredient ilavesi yapmış ve bunları numune alma kavanozlarına aktardıktan sonra ezmelerin soğuk nokta sıcaklıkları 78°C oluncaya kadar bir grupta ohmik ısıtma yöntemi diğer grupta ise 98°C'lik su banyosu içerisinde geleneksel ısıtma yöntemi uygulayıp 4°C'de stoklamıştır. Ohmik ısıtma tekniği uygulanan balık ezmelerinde 0.depolama gününde 12.19 mg/100g olarak bulunan TVB-N değeri 20.gününde 20.50 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Geleneksel yöntemle ısıl işlem uygulanan balık ezmesinde ise 0.gün 15.90 mg/100g bulunan TVB-N değeri, 32.gün 21.73 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Kaba ve diğ. (2013) streçle kaplanmış polistren kaplarda 4°C'de depoladıkları dumanlanmış palamut balığından elde edilen köftelerde 1.gün 12.6 mg/100g bulunan TVB-N değeri 10.gün 30.51 mg/100 olarak bulunmuştur.

Can (2012) streç filmle sarılmış strafor kaplarda 4°C'de depolanmış % 1 oranında eugenol katkılı aynalı sazan balığı köftelerinde 0.gün 8.7 mg/100g bulunan TVB-N değeri 21.gün 20.6 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Akkuş ve diğ. (2004), streçle filmle sarılmış strafor tabaklarda ambalajlanmış çiğ hamsi etinden elde edilen köftelerin 4°C'de soğuk depolanması sürecinde depolamanın 1.gününde 22.63 mg/100g olarak bulunan TVB-N değeri 18.gün 39.33 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde *Ulva lactuca* ekstraktının TVB-N değeri üzerinde olumlu bir etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada, sentetikli katkılı ançüezlerde TVBN artış oranı % 57.54 olarak gerçekleşirken, *Ulva lactuca* ekstraktı ançüezlerde TVB-N artışını %18.92 oranında sınırlandırmayı başarmıştır. *Ulva lactuca* ekstraktı, TVB-N artışının engellenmesi üzerinde sodyum benzoattan % 38.62 oranında daha etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

5.4.2.2. *Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Sonuçları*

Varlık ve diğ. (1993)'e göre çok iyi bir kaliteye sahip bir numunede TBA değerinin 3 mg MDA/kg'yı aşmaması gerektiği, iyi kalitede bir numunede ise bu değer 5 mg MDA/kg'yı geçmemelidir. Lipitlerde oksidasyon düzeyini tespit etmek amacıyla kullanılan TBA değeri için bildirilen tüketim limiti 7-8 MDA/kg aralığıdır.

Ançüezde hammadde olarak kullanılacak kuru tuzlama prosesinden geçmiş sardalya balıklarındaki TBA değeri 8.54 ± 0.01 mg MDA/kg olarak gerçekleşmiştir. Hammadde ançüeze işlendikten sonra TBA değeri ulva ekstraktlı ançüezlerde 0.gün 5.42 ± 0.05 MDA/kg, sodyum benzoat içeren ançüezlerde ise 6.84 ± 0.02 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Ulva lactuca ekstraktı ançüezde TBA değerini % 36.71 oranında düşürürken, sentetikli gruptaki sodyum benzoat, TBA değerini ançüezde % 44.29 oranında düşürmüştür. Buradan TBA değerindeki artışı baskılamada sodyum benzoatın ulva ekstraktına karşı % 7.58 daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. 35 günlük depolama periyodu sonunda ulva ekstraktlı ve sodyum benzoatlı ançüezlerin Varlık ve diğ. (1993)'nin belirlemiş olduğu kategorilendirmeye göre "İyi Kalite" sınıfında yer aldığı görülmektedir.

Aydın (2018) sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı etlerini ezme haline getirdikten sonra ingredient ilavesi yapmış ve bunları numune alma kavanozlarına aktardıktan sonra ezmelerin soğuk nokta sıcaklıkları 78°C oluncaya kadar bir grupta ohmik ısıtma yöntemi diğer grupta ise 98°C'lik su banyosu içerisinde geleneksel ısıtma yöntemi uygulayıp 4°C'de stoklamıştır. Ohmik ısıtma tekniği uygulanan balık ezmelerinde 0.depolama gününde 0.60 MDA/kg olarak bulunan TBA değeri 20.gün % 78.33 artışla 1.07 MDA/kg olarak kaydedilmiştir. Geleneksel yöntemle ısıtma işlem uygulanan balık ezmesinde ise 0.gün 0.65 MDA/kg bulunan TBA değeri, 20.gün % 126.15 oranında artarak 1.47 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Acar (2012) zeytin yaprağı ekstresinin 4°C'de soğukta kilitli poşetlerde depolanmış sardalya kıymasına etkisini araştıran çalışmada, % 1 zeytin yaprağı ekstresi içeren sardalya kıymalarında 0.gündeki TBA değeri 0.97 MDA/kg olarak bulunurken 10.gün % 48.45 oranında artışla 1.44 MDA/kg olarak tespit edilmiştir. % 2 zeytin yaprağı ekstresi içeren sardalya köftelerinde ise 0.gün 0.99 MDA/kg olarak bulunan TBA değeri son depolama günü olan 10.günde % 40.40 oranlı bir artışla 1.39 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Kaba ve diğ. (2013) streçle kaplanmış polistren kaplarda 4°C'de depoladıkları dumanlanmış palamut balığından elde edilen köftelerde 1.gün 1.32 MDA/kg olarak bulunan TBA değeri 10.gün % 218.18 oranında artarak 4.20 MDA/kg olarak bulunmuştur.

Can (2012), streç filmle sarılarak strafor kaplarda 4°C'de depolanmış % 1 oranında eugenol katkılı ciğ aynalı sazan balığı köftelerinde 0.gün 0.74 MDA/kg bulunan TBA değeri 21.gün % 171.62 oranlı bir artışla 2.01 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Kılınç ve diğ. (2008) soğuk depolama boyunca sardalya köftelerinin kalitesindeki değişiklikler adlı çalışmasında, koruyucu madde ilavesiz sardalya köfteleri ciğ olarak etrafı streç filmle kaplanmış plastik kutulara yerleştirilerek 4°C'de depolanmıştır. Hammaddede 1.78 MDA/kg olarak ölçülen TBA değeri köfteye işlendikten sonra 0.analiz gününde 1.50 MDA/kg, 6. son depolama gününde ise 3.60 MDA/kg olarak tespit edilmiştir. TBA değerinde 6 depolama gününde % 140 bir artışın söz konusu olduğu görülmektedir.

Bilgin ve diğ. (2005) sıcak dumanlanmış sudak ve kadife balığı etlerinden bazı katkılarla ürettikleri sterilize edilmiş balık ezmelerini cam kaplara koyup ambalajlamışlar ve 4°C'de depolanmışlardır. Sudak balığı ezmelerinde 1.gün 0.40 MDA/kg olarak bulunan TBA değeri son depolama günü olan 35.günde % 102.5 oranında bir artış ile 0.81 MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Kadife balığı ezmesinde ise ilk gün 0.30 MDA/kg olarak bulunan TBA değeri, son depolama günü olan 35.günde % 146.66 oranında bir artışla 0.74 MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Tüm bu veriler beraberce değerlendirildiğinde ulva ekstraktının ançüezde ilk gün tespit edilen TBA değerini son depolama günü olan 35.günde, sodyum benzoattan % 7.58 oranında daha düşük bir performans ile düşürmüş olduğu anlaşılmıştır. Ulva ekstraktının ançüezde tespit edilen TBA değerleri üzerinde göstermiş olduğu en yüksek performans 28.günde saptanan % 45.38'lik düşüşle 2.96 mg MDA/kg değeri olarak kaydedilmiştir. Bu değer sodyum benzoat

katkılı grupta ise 14.günde % 56.43'lük düşüşle 2.98 mg MDA/kg olmuştur. Tespit edilen en yüksek performansa ait depolama günlerinden sonra TBA değerleri her iki grupta da artışa geçmiştir.

Ürünlerde mikrobiyolojik açıdan bozulma olduğu günde saptanan TBA değerleri ise, 28.günde ulva katkılı grupta % 45.39 oranında düşüş ile 2.96 mg MDA/kg, sodyum benzoat katkılı grupta ise 35.günde % 44.30 oranında düşüş ile 3.81 mg MDA/kg olarak gerçekleşmiştir.

5.4.2.3. pH Analizi Sonuçları

Taze balık etinin pH değerinin 6.0 - 6.5, tüketilebilirlik açısından pH değer aralığının ise 6.8-7.0 olduğu bildirilmiştir (Varlık ve diğ.,1993). Eğer, bozulma anaerobik bakteri faaliyetleri sonucu meydana geliyorsa pH laktik asit nedeniyle düşecektir, bilakis bozulma biyojen aminlerin açığa çıkmasına neden olursa bu defa pH yükselecektir (Jorgensen ve diğ., 2000). Depolama sürecinde zamanla mikroorganizma ve enzim faaliyetleri nedeniyle oksidoredüksiyon dengesi bozulmaktadır ve hidroksil, serbest hidrojen iyonları miktarında değişim yaşanmaktadır ve böylece pH düzeyinde artış gözlemlenmektedir (Turhan ve diğ., 2001).

Bu çalışmada ançüezde kullanılacak olan sardalya balığı etlerinde kuru tuzlama sonrası pH değeri 6.54 ± 0.02 olarak tazelik sınırları içerisinde tespit edilmiştir. Balık etleri ançüze işlendikten sonra ise bu değer ulva ekstraktlı grupta 0.analiz günü 5.23 ± 0.02 bulunurken 35. son depolama gününde 5.34 ± 0.00 olarak tespit edilmiştir. Ürünün pH değerinde depolama süreci boyunca 0.11 miktarında bir artış kaydedilmiştir. Hammadde ürüne işlendikten sonra pH değerinde yaşanan genel düşüşün ançüze ilave edilen tereyağı ve limon suyu sosu gibi ingredientlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ulva ekstraktlı ançüez tüm analiz günleri boyunca pH değerleri açısından tüketilebilir olarak kalmıştır.

Sentetik koruyucu katkılı ançüezlerde ise 0.gün 5.19 ± 0.01 olarak ölçülen pH değeri son depolama günü olan 35.günde 5.24 ± 0.00 olarak tespit edilmiştir. Depolama süreci boyunca ürüne ait pH değerinde 0.05 mikatrında bir artış kaydedilmiştir. Sodyum benzoat içeren ançüezler de depolama periyodu boyunca tüketilebilirlik sınırları içerisinde kalmıştır.

Aydın (2018) sıcak dumanlanmış alabalık etinden elde ettikleri balık ezmesi gruplarında 32 günlük depolama periyodu boyunca 6.41-6.81 aralığında değişik pH düzeyleri tespit etmiştir. Sıcak dumanlamadan sonra başka ısıl işlem görmemiş alabalık etinden elde ettikleri balık ezmesinde ise 6.50 pH düzeyi saptamışlardır.

Acar (2012) % 1 zeytin ekstresi ile muamele ettiği sardalya balığı kıymalarının 10 günlük depolama sürecinde 6.28-6.33 düzeyinde pH değerlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Katkısız sardalya kıymalarının ise 10 günlük depolama esnasındaki pH değişim aralığını 6.32-6.44 olarak bildirmişlerdir.

Kılınç ve diğ. (2008) soğuk depolama boyunca sardalya köftelerindeki kalite değişimleri adlı çalışmasında, çiğ olarak 6 gün depoladıkları sardalya köftelerindeki pH değişim aralığını 6.20-6.48 olarak bildirmiştir. Hammadde olarak kullandıkları sardalya balığı etlerindeki pH değerini ise 6.20 olarak bulmuşlardır.

Bilgin ve diğ. (2005) sıcak dumanlanmış sudak balığı ve kadife balığı etinden ürettikleri balık ezmesinde 35 günlük depolama süreci boyunca ürüne ait pH değişimlerini 5.96 - 6.75 arasında olarak raporlamışlardır.

Turhan ve diğ. (2001) çiğ olarak 10 gün boyunca 4°C’de depoladıkları çiğ hamsi köftelerinde pH aralığını 6.33-6.56 olarak tüketim sınırları içerisinde bulmuşlardır.

Bu çalışmada ançüz gruplarında 0.gün 5.23 ve 5.19 olarak elde edilen pH değerleri, Gencer (2012)’nin tuzlanmış sardalyadan üretilen balık ezmesinde 0.gün tespit ettiği 5.35 pH değeriyle benzerlik göstermektedir. Tamamen aynı üretim prosesine sahip olmayıp benzer bir prosese sahip liteatürlerdeki pH değerlerine bakıldığında bir pH düzeyinde yaklaşık 1 kademe farklılık görülmektedir. Bu farkın ezmeye işlenecek hammaddenin tazelik derecesinden, farklı işleme teknolojilerinden geçmiş olmasından ya da hiçbir işleme tekniği kullanılmadan doğrudan çiğ etten üretilmesinden veya üründe tercih edilen değişik ingredientler gibi değişken durumlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada analiz edilen her iki ançüz grubu da tüketim limitleri içerisinde. Raf ömrü sonunda sodyum benzoat katkılı ançüzde pH artışı % 0.96 olarak kaydedilirken, ulva ekstraktı katkılı ançüzde pH düzeyi artışının % 3.05 oranında gerçekleştiği tespit edilmiş olup, raf ömrü sonundaki ürün grupları arasındaki pH farkı ise 0.15 düzeyinde gerçekleşmiştir.

5.4.3. Duyusal Analiz Sonuçları

Duyusal değerlendirme herhangi bir ürünün tüketicinin beklentilerinin ne kadarını karşılayabildiğini, içerdiği ürüne has olarak belirlenen ölçülebilir ve ölçülebilir olmayan kriterler vasıtasıyla anlayabilme olanağı tanıyan en ekonomik, gerçekçi, kolay ve en az zaman alan bir yöntemdir. Diğer yöntemler ürünün kabul edilebilirliği hususunda onay verse dahi, ürünün tüketici tarafından duyusal olarak olumsuz değerlendirmesi ürünün başarısını negatif etkilemektedir.

Diğer taraftan duyusal değerlendirme uygulanacak kişilerde ürüne ya da ürün hammaddesine karşı gelişmiş bir ön yargısı olmaması, o ürün kategorisinde oluşmuş bir damak zevki kültürüne sahip olması, ürün segmentindeki tüketici kitlesini doğru temsil edebilmesi (yaş, cinsiyet vs.) duyusal değerlendirme sonucunun doğruluğunu direkt etkileyen çok önemli bir faktördür. Çoğu zaman ürün kriterlerine panelistlerce yapılan puanlamalar üründe ölçülebilen kalite parametrelerinin analizi sonucu ortaya çıkan verilerle birbirini destekler niteliktedir.

Bu çalışmada duyusal analizler her iki grup içinde raf ömrünü doldurduğu tespit edilen güne kadar devam etmiştir. Ançüzelerde elde edilen duyusal analiz bulguları her iki grup için de 9 ve 6.22 puan (“Mükemmel” ve “İyi”) arasında değişmektedir.

Panelistler her iki gruba ait numunelere renk, tekstür ve sürülebilirlik kriterleri açısından hemen hemen birbirlerine yakın puanlar vermiştir ve bu puan aralığı 7.22 - 9 (“Mükemmel” ve “Çok İyi”) aralığında değişmektedir.

Tat, koku ve genel kabul edilebilirlik kriterleri açısından ise genellikle sentetik grup ançüzeler az bir farkla daha yüksek skorlar almıştır. Bu kriterler açısından ürüne verilen puanlar ise 6.26 – 9 puan (“Mükemmel” ve “İyi”) aralığında değişmiştir.

Tüm kriterlerden toplanan puanların ortalaması alınarak genel bir ürün puanı oluşturulduğunda, sentetik katkılı ançüzeler 0.gün hariç az bir farkla ulva ekstraktlı ürünlere üstünlük sağlamıştır. Her iki gruba ait genel ürün puanları 6.92-8.39 (“Mükemmel” ve “Çok İyi”) aralığında değişmektedir. 35. depolama gününde ise ulva ekstraktlı ürünlerde ve sodyum benzoatlı ürünlerde ambalaj dışından görülebilecek boyutlarda maya-küf kolonileri fark edilmiştir ve duyusal analizler 35.günde gerçekleştirilmemiştir.

Literatürde balık ezmesi ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır ve hemen hemen her çalışmada kullanılan prosesler ve ingredientler farklılık göstermektedir. Bu değişkenlikler sonuçların kıyaslanmasında sapma payını artırmaktadır.

Çolakoğlu ve diğ. (2010) tuzlanmış sardalya balığından ürettikleri 4 farklı ezme üzerinde yapmış oldukları 100 panelistin katıldığı duyuşsal değerlendirme çalışmasında ürünlerin “Çok İyi” ve “İyi” kategoride değerlendirilerek genel olarak sevilerek tüketilen ürün niteliklerine sahip olduklarını ifade etmişlerdir.

Ünlüsayın ve diğ. (2007) yapmış olduğu sıcak dumanlanmış çipura, levrek ve alabalık etlerinden elde ettiği balık pate ürünleri genel olarak duyuşsal açıdan 9 üzerinden 5.15-7.90 arası skorlanmıştıır.

Bilgin ve diğ. (2005) kadife ve sudak balığı etlerinden elde ettikleri balık ezmelerinde duyuşsal değerlendirme sonucunu 6.24-7.45 aralığında bulmuştur.

Aydın (2018) sardalya balıklarının ohmik ısıtma ve geleneksel ısıtılması yöntemiyle hazırlanmış balık ezmelerinde tespit edilen duyuşsal analiz puanları ürün raf ömrü içerisinde 3-7.9 arası tespit edilmiştir.

Bu çalışmada duyuşsal değerlendirme sonucu elde edilen veriler yapılmış olan mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçlarıyla örtüşmektedir ve birbirlerini doğrular niteliktedir.

5.5. SALAMA İLİŞKİN SONUÇLAR

5.5.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar

5.5.1.1. Toplam Psikrofilik Bakteri Sayımı

Genellikle psikrofil bakteriler soğuk ortamlarda depolanan gıdalarda bozulmaya yol açmaktadırlar. Keskin (2007)'e göre psikrofil bakteriler tavuğun tüylerinden, soğutma tanklarından, su kaynaklarından, işleme aletlerinden bulaşmaktadır. Ekipmanlarda bulunabilmekte olan bir önceki üretimden kalan et, yağ, kan kalıntıları çeşitli mikroorganizmaların bilhassa da *Pseudomonas* türlerinin üremesine iyi bir ortam hazırlamaktadır ve sonraki zaman dilimlerinde işlenecek olan üründe kontaminasyona yol açmaktadır.

Tavuk etinden salam üretimi öncesi, hammadde olarak kullanılacak hayvanın but incik kısımlarının toplam psikrofil bakteri yükleri 4.60 ± 0.02 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Toplam psikrofil bakteri yükü ulva ekstraktı ilave edilmiş salam hamurunda 4.64 ± 0.07 log kob/g iken sentetik katkılı salamlarda 4.40 ± 0.04 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Piştirme işlemi sonrası (0.gün) ise ulva ekstraktlı ve sentetik katkılı salamlarda yapılan analizlerde toplam psikrofil bakteri üremesi tespit edilmemiştir.

Sentetik katkılı grup örneklerinde son analiz gününe kadar üreme tespit edilemezken, ulva ekstraktlı salam grubunda 15.gün ve sonraki analiz günlerinde tüketilebilirlik sınırlarını aşan bir üreme görülmüştür. Bayrak (2011) çalışmasında, piliç etinden üretilen sosislerde biberiye ekstraktının kullanılmasının depolama süreci ilerledikçe psikrofil bakteri sayısını artırıcı bir etki yaptığını aktarmıştır. Bu bağlamda, üründe kullanılan ulva ekstraktının da psikrofil bakteri sayısını artırıcı etki yapmış olabileceği ihtimaller dâhilinde olarak düşünülmektedir.

Bayrak (2011) çalışmasında bildirdiği şekilde, bu çalışmada da kullanılmış olan ulva ekstraktının toplam psikrofil bakteri sayısını tavuk salamında artırmış olabileceği ihtimali kesin olmamakla birlikte düşünülmektedir.

Bostan ve Mahan (2011) sodyum nitrit kullanarak üretilen sosisler üzerinde yapmış oldukları mikrobiyal kalite ve raf ömrü çalışmasında, vakum paketlenmiş olarak 60 gün süren soğuk depolamanın 5.gününde kitosan kaplama gibi ilave koruyucu teknik uygulamadıkları kontrol grubu sosilerinde 5.01, 10.gününde 6.07 log kob/g, 15.gününde ise 7.41 log kob/g psikrofil bakteri sayısı tespit etmişlerdir

Bu çalışmada ulva ekstraktı salamlarda depolamanın 15.günü elde edilen toplam psikrofil bakteri verisi, Bostan ve Mahan (2011)'ın sodyum nitrit içeren kontrol grubu sosislerinin 15. depolama gününde tespit ettikleri toplam psikrofil bakteri sayısı verisiyle benzerlik göstermektedir.

Buradan, tavuk salamında koruyucu katkı maddesi olarak *Ulva lactuca* ekstraktının, nitrit ile rekabet edemediği anlaşılmaktadır. Ulva ekstraktı toplam psikrofil bakteri türlerine karşı tavuk salamında raf ömrü üzerine bir etki gösterememiştir.

Literatürde tavuk etinden Türk tipi salam üretimi hakkında çok az sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Ulva ekstraktının salama ya da başka bir gıda ürününe tatbik edildiği bir başka çalışmaya rastlanmamıştır.

5.5.1.2. *Toplam Mezofilik Anaerob Bakteri Sayımı*

Salam hammaddesi çiğ tavuk etinde yapılan analizde 3.63 ± 0.05 log kob/g, ulvalı salam hamurunda 4.38 ± 0.15 log kob/g, sentetik katkılı salam hamurunda ise 4.11 ± 0.06 log kob/g toplam anaerob bakteri sayısı tespit edilmiştir.

İlk analiz günü her iki gruptan alınan numunelerde toplam anaerob bakteriye ait bir üremeye rastlanamazken, ulva ekstraktlı salam gruplarında 30. analiz gününde 6.20 ± 0.04 log kob/g olarak tüketim limitini aşan bir üreme tespit edilmiştir. Bu üreme miktarı diğer depolama günleri boyunca da bu limitin üstündeki değerlerde seyretmiştir. *Ulva lactuca* ekstraktının toplam anaerob bakteri sayısını kontrol edebilmede bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Nitrit içeren sentetik katkılı grupta ise 90 günlük izleme süreci boyunca toplam anaerob bakteri üremesi saptanmamıştır ve depolama süreci boyunca toplam anaerobik bakteri sayısı açısından tüketim sınırları içerisinde kalmıştır. Salamdaki nitrit katkısının toplam anaerobik bakteri sayısını kontrol etmedeki başarısı görülmüştür.

Liu ve diğ. (2009) salam gibi emülsifiye bir ürün olan soğukta depoladıkları tavuk sosislerinde depolamanın 14.gününde toplam aerobik mezofil bakteri sayısını 6.10 log kob/g olarak tespit etmişlerdir. Toplam anaerobik bakteri sayısı üzerine ise bir veri verilmemiştir.

Atasever ve diğ. (2000) salam üretiminde tavuk ve hindi eti kullanımını adlı çalışmalarında, soğukta depoladıkları polietilen poliamid laminasyonlu torbalarda vakum paketlenmiş ürünlerdeki 15.depolama gününde genel canlı mikroorganizma sayısını tavuk salamda 6.18 log kob/g olarak tespit etmişlerdir. Anaerob karakterde ise Koliform bakteri analizleri yapılmış olup depolama süreci boyunca üreme tespit edilememiştir.

Keleş ve diğ. (2000) sığır eti ilavesiyle tavuk salamı üretimi adlı çalışmasında, anaerob karakterdeki bakterilerden sadece Koliform analizi yapılmış olup, depolama süreci boyunca üreme tespit edilemediği bildirilmiştir.

Özdemir (1998) vakum paketli dilimlenmiş salamlarda mikrofloranın gelişimi ve raf ömrünün saptanması adlı çalışmasında, nitritli tuz kullanarak üretilen salamlarda 0.gün log 4 kob/g düzeylerinde olan aerob mezofil canlı mikroorganizma sayısı, soğuk depolamanın 14.gününde 6.0-7.0 log kob/g seviyesine çıkmış olduğunu ve ilerleyen depolama günlerinde ise bu sayının 10^7 - 10^9 kob/g düzeylerine ulaştığını bildirmiştir. Araştırmacı benzer miktarda anaerob karakterdeki Laktobasil ve aside dirençli Laktobasil bakteri sayısının da arttığını bildirmiştir. Araştırmacıların dilimlenerek vakum paketlenmiş salamlarda raf ömrü tespit çalışmalarında üretim koşulları, teknolojisi, kullanılan malzemeler gibi faktörlerden kaynaklı farklılıklar bulunmakta olduğunu ve buna rağmen dilimlenerek vakum paketlenmiş salamların 4-7°C arası sıcaklıkta depolanmaları halinde ideal raf ömrünün 18 gün olduğunu aktarmıştır.

Özdemir (1997) vakum paketlenmiş sosisler üzerinde yapmış olduğu çalışmada ise 4°C'deki depolamanın 14.gününde 7.00 log kob/g Laktobasil bakteri sayısı tespit etmiştir. Aside dirençli Laktobasil sayısı ise 14.gün 7.00 log kob/g'dir. Enterobakter ise depolama süreci boyunca $< \log 2.3$ kob/g limiti altında kalmıştır.

Tüm bu sonuçlar irdelendiğinde, dilimlenmiş emülsifiye ürünlerde yaklaşık 18 gün olan raf ömrü, ürün proseslerine, değişik üretim tekniklerine göre değişebileceği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada ise toplam anaerob bakteri açısından ulva grubu ürünlerde ideal olan raf ömrü süresi olan 18 günü doldurulamamıştır. Nitrit ise sentetik katkı grubta 90 gün boyunca anaerobik bakteriler üzerinde etkisini başarılı şekilde göstermiştir.

5.5.1.3. *Staphylococcus aureus* Sayımı

Salam üretiminde kullanılacak çiğ tavuk etinden alınan numuneler üzerinde yapılan *Staphylococcus aureus* sayımları sonucunda 3.70 ± 0.10 log kob/g miktarında *S. aureus* bakterisine rastlanmıştır.

Sentetik katkı grubun salam hamurunda % 36.50 artış ile 5.05 ± 0.00 log kob/g miktarında *S. aureus* bakterisi tespit edilmiştir. *Ulva lactuca* ekstraktı katkı salam hamurunda ise daha az bir düzeyde 2.75 ± 0.02 log kob/g miktarında *S. aureus* bakterisi tespit edilmiştir. Bu farkın ulva ekstraktının *S. aureus* üzerine göstermiş olduğu antimikrobiyal etkiden kaynaklanmış olduğu anlaşılmaktadır. Hammadde salam hamuruna işlendikten sonra sentetikli grup salam hamurunda *S. aureus* sayısı 5.05 log kob/g'ye yükselirken, ulva ekstraktlı salam hamurunda *S. aureus* sayısına % 45.54 oranında daha az rastlanılmıştır. Buna göre ulva ekstraktı nitrit ile

karşılaştırıldığında, *S. aureus* sayısının inhibisyonunda nitrite göre % 45.54 oranında daha etkin olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır.

Her iki gruba ait salam hamurları ısıtma işlemi gördükten sonra da *S. aureus* sayımları 90 gün boyunca 15 günlük periyotlarda gerçekleştirilmiştir. Tüm depolama günlerinde her iki grupta da yapılan analizlerde *S. aureus* üremesi tespit edilmemiştir.

Coşkun ve diğ. (2015) piyasadan satın aldıkları sosisler üzerinde yapmış oldukları mikrobiyal kalite çalışmasında ürün raf ömrü içerisindeyken *S. aureus* sayısını 5.30, 4.77, 3.86, 4.04 log kob/g miktarında tüketim limitini aşmış buldukları ürünler olmuştur.

Karaçam ve Doğruer (2003) yapmış olduğu çalışmada vakum paketlenmiş tavuk salamlarında 60 günlük depolama periyodu sürecinde 3.38 ve 3.70 log kob/g arasında değişen sayılarda *S. aureus*-Mikrokok tespit etmiştir.

Atasever ve diğ. (2000) yapmış oldukları çalışmada Et ve Balık Kurumu İmalat Yönetmeliği'ne göre ürettikleri tavuk salamında 60 günlük soğuk depolama boyunca 2.59-4.06 log kob/g arası *S. aureus* üremesi tespit etmişlerdir.

Keleş ve diğ. (2000) yapmış oldukları çalışmada nitrit kullanarak tavuk salamı üretmiştir ve bunları 60 gün boyunca mikrobiyolojik olarak izlemiştir. Depolama süresi boyunca ürünlerde 3.77-4.36 log kob/g miktarında *S. aureus*-Mikrokok üremesi tespit etmişlerdir.

Özdemir (1998) nitritli tuz kullanarak hazırladıkları vakum paketli dilimlenmiş tavuk salamlarının depolanması sürecinde, 2.6-5.0 log kob/g aralığında değişen miktarlarda *S. aureus*-Mikrokok tespiti yapmışlardır.

Bu çalışmada üretilmiş olan nitrit ilaveli sentetik katkılı salamlarda depolama periyodu boyunca *S. aureus* üremesi görülmezken, nitrit kullanılarak yapılmış olan diğer çalışmalarda *S. aureus* üremesinin depolama periyodu boyunca sıklıkla salamlarda tüketim limitini aşan varlıkları rapor edilmiştir. Bu durumun proses basamaklarındaki nicel şartlardaki kişisel tercih değişiklikleri, imalat şartlarının değişkenliği, kontaminasyon ihtimali, hijyen kurallarının uygulanma derecesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada in vitro şartlarda *U. lactuca* ekstraktı ile gerçekleştirilen testlerde *S. aureus* bakterisine karşı elde edilen etki, üründe de % 45.54 oranında etki ile kendini göstermiştir.

5.5.1.4. *Bacillus cereus* Sayımı

Hammade olarak çiğ tavuk etinde ve bir ileriki proses ürünü olan her iki gruba ait salam hamurlarında yapılan analizlerde *Bacillus cereus* bakterisi tespit edilmemiştir. 90 günlük depolama periyodu süresince 15 günlük aralıklarla gerçekleştirilen analizlerde her iki gruptan alınan numunelerde de *Bacillus cereus* bakteri üremesi tespit edilmemiştir.

5.5.1.5. *Clostridium perfringens* Sayımı

Çiğ tavuk etinde ve her iki gruba ait salam hamurlarında yapılan analizlerde *Clostridium perfringens* bakterisi tespit edilmemiştir. 90 günlük depolama periyodu süresince 15 günlük aralıklarla gerçekleştirilen analizlerde her iki gruptan alınan numunelerde de *Clostridium perfringens* bakteri üremesi tespit edilmemiştir.

5.5.1.6. *Toplam Maya-Küf Sayımı*

Salam üretiminde kullanılacak çiğ tavuk etlerinde saptanan toplam maya küf miktarı 2.71 ± 0.10 log kob/g, ulva ekstraktlı ve nitrit ilaveli sentetik katkılı salam hamurunda saptanan toplam maya küf sayısı 3.10 ± 0.17 olarak gerçekleşmiştir.

Sentetikli salam gruplarında 0 ve 15.analiz günlerinde üreme görülmezken, 30.gün 4.35 log kob/g miktarında tüketim limitini aşan bir üreme kaydedilmiştir.

Ulva grubu salamlarda ilk analiz günü maya küf tespit edilmezken, 15. analiz gününde 6.67 log kob/g miktarında maya küf tespiti yapılmıştır. Türk Gıda Kodeksi (TGK), Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (2009/68) salam için maya küf tüketim limiti 3 log kob/g olarak bildirilmiştir.

Ulva ekstraktı içeren salamlardan 15.günde alınan numunelerde 3 log kob/g tüketim limitini aşan bir üremeye mikrobiyolojik açıdan bozulma tespit edilmiştir. Nitrit ilaveli gruptan ise 30.günde alınan numunede tüketim sınırını aşan bir üremeye mikrobiyolojik açıdan bozulma tespit edilmiştir. Nitrit katkısı maya küf sayısını kontrol etmekte ulva ekstraktından daha etkin davranmıştır.

Coşkun ve diğ. (2015) Tekirdağ'da piyasada satılan paketlenmiş frankfurter tipi sosisler üzerinde yapmış oldukları mikrobiyal kalite tespit çalışmasında, ürün raf ömrü içerisindeyken, maya küf sayısını 3.90, 5.30, 5.07 log kob/g miktarlarında buldukları ürünler olduğunu bildirmektedir.

Bostan ve Mahan (2011) çalışmalarında üretmiş oldukları sosislerin 60 günlük depolama sürecinde 2.33 log kob/g ile başlayan maya küf mikroorganizma yükü 15. depolama gününde 5.26 log kob/g olarak kaydedilmiştir ve kademeli olarak yükselerek 60.gün 6.72 log kob/g miktarına ulaşmıştır.

Karaçam ve Doğruer (2003) yapmış olduğu çalışmada vakum paketlenmiş tavuk salamlarında 60 günlük depolama periyodu sürecinde maya ve küf mikroorganizmalarına rastlamamıştır.

Atasever (2000) tavuk salamının 60 günlük soğuk depolama süreci boyunca yapmış oldukları analizlerde maya-küf mikroorganizmalarına rastlamamıştır.

Keleş ve diğ. (2000) yapmış oldukları çalışmada nitrit kullanarak tavuk salamı üretmiştir ve bunları 60 gün boyunca mikrobiyolojik olarak izlemiştir. Depolama süresi boyunca ürünlerde maya küf mikroorganizmalarına rastlamamışlardır.

Özdemir (1998) nitritli tuz kullanarak hazırladıkları vakum paketli dilimlenmiş tavuk salamlarının depolanması sürecinin 42. ve 60. günlerinde log 3 ve log 6 kob/g arasında maya küf sayısı tespit etmişlerdir.

Özdemir (1997) vakum paketlenmiş kırmızı etten elde ettiği nitrit katkısı içeren sosisler üzerinde yapmış olduğu çalışmada ise 4°C'deki 60 günlük tüm depolama günlerinde maya küf mikroorganizmalarını 2.30 log kob/g'nin altında tespit etmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler, Bostan ve Mahan (2011)'nin benzer bir üretim sürecine sahip emülsifiye tipi bir ürün olan sosisler üzerinde yapmış oldukları çalışmadan elde ettikleri verilerle benzerlik göstermektedir. Diğer literatürlerle kıyaslandığında ise bu çalışmada elde edilen maya küf miktarları daha yüksek çıkmıştır.

Sonuç olarak *Ulva lactuca* ekstraktının maya küf mikroorganizmalarına karşı üründe bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. Nitrit katkısı ise maya küf sayısını kontrol etmekte ulva ekstraktından daha etkili olmuştur.

5.5.2. Kimyasal Analiz Sonuçları

5.5.2.1. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Sonuçları

Lipitlerin oksidasyona uğraması neticesinde meydana gelen sekonder bir aldehit olan malonaldehitin TBA ile reaksiyonu sonucu oluşan kırmızı kromojenin absorbans değerinin ölçüldüğü kolorometrik bir yöntemdir. Yüksek TBA değerleri üründe kötü koku ve tatla kendini belli etmektedir. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tavuk etleri için önerdiği sınır değer 1 mg MA/kg'dir. TBA değerlerindeki olası dalgalanmaların malonaldehitlerin stabil olmayan yapı özelliklerinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Demirkaya, 2014).

Bu çalışmada salam üretiminde kullanılan çiğ tavuk etlerinde TSE limitine uygun olarak 0.18 ± 0.03 mg MDA/kg TBA değeri tespit edilmiştir.

Ulva lactuca ekstraktlı salamlarda, pişirme işlemi hemen sonrası 0.gündeki TBA değeri 1.45 ± 0.06 mg MDA/kg iken, sentetik katkılı salamlarda 1.82 ± 0.05 mg MDA/kg olarak ölçülmüştür.

İlk analiz günü ulva grubu salamlarda 1.45 ± 0.06 mg MDA/kg olarak kaydedilen bu değer dalgalanarak son depolama günü olan 90.gün sonunda 0.93 ± 0.01 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Bu değer 15. ve 30.günlerde sabit kaldığı söylenebilmektedir. En düşük TBA değeri ise 15.günde 0.36 ± 0.01 mg MDA/kg olarak ölçülmüştür. Ulva ekstraktlı salamlar 90.gün sonunda TBA değerleri açısından TSE'nin standartta önermiş olduğu limit içerisinde kalmıştır.

Sentetik katkılı salamlarda ise en düşük TBA değeri 30. analiz gününde 0.77 ± 0.01 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Son depolama günü 90.gün sonunda ise 1.11 ± 0.01 mg MDA/kg TBA değeri tespit edilmiştir. Bu neticeye göre sentetik katkılı salamlar TSE tarafından önerilen limit değer olan 1 mg MDA/kg'ın üzerinde kalmıştır.

Efe (2019) sığır etinden üretmiş oldukları vakum paketli sosislerde 0.günde 0.53 mg MDA/kg olarak buldukları TBA değerini depolamanın 60.gününde 1.09 mg MDA/kg olarak tespit etmiştir.

Saimaiti (2018) yapmış olduğu çalışmada salamların 60 günlük depolama süreci boyunca TBA değerlerini kaydetmiştir. Buna göre 1.gün 0.48-0.60 mg MDA/kg olarak bulunduğu TBA değerini 60.depolama günü sonunda 0.87- 0.89 mg MDA/kg olarak tespit etmiştir.

Uzlaşır (2017) üretmiş oldukları salamlarda 1.günde 2.13 mg MDA/kg olarak bulurken son depolama günü olan 28.günde 2.46 mg MDA/kg olarak tespit etmişlerdir.

Güner ve Nizamoğlu (2001) üretmiş oldukları vakum paketli salamlarda TBA değerini 0.gün 0.33 mg MDA/kg olarak buldukları TBA değerini 60.gün 1.181 mg MDA/kg olarak rapor etmişlerdir.

Sarıçoban (2004) piliç etinden üretilen sosislerin vakum paketlenmiş olarak soğuk depolanması neticesinde 1.gün 0.50 mg MDA/kg olarak bulunan TBA değeri 90.son gün 0.76 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir.

Yağların oksidasyona uğramasının hız ve kapsamı birçok etkene bağlıdır. Bunlardan bazıları; Antioksidan miktarı, doymamış yağ asitleri dağılımı, pH, demir miktarıdır (Falowo ve diğ., 2014).

Bu çalışmada salamlardan elde edilen veriler, daha yüksek TBA verilerine rastlanan Uzlaşır (2017) çalışması dışındaki diğer literatür verileriyle benzerlik göstermiştir. Sonuç olarak bu çalışmada salamlarda kullanılan *Ulva lactuca* ekstraktı antioksidatif bir etki göstererek TBA değerini tüketilebilir sınırları içerisinde kalmasını sağlamıştır. Nitrit içeren sentetik katkı grubta ise oksidasyonun daha çok olduğu daha yüksek bulgularan TBA değerlerinden anlaşılmaktadır. *Ulva lactuca* ekstraktı nitrit katkısı ile karşılaştırıldığında, ulva ekstraktı ürünün TSE'nin belirtmiş olduğu kabul edilebilir sınırlar içinde kalmasını sağlamıştır.

90.gün sonunda, nitrit katkısı salamlarda TBA düşüşünü % 39.01 oranında sağlarken, ulva ekstraktı bu düşüşü % 35.86 oranına kadar sağlayabilmiştir. Salamlarda, ulva ekstraktı nitrite göre % 3.15 oranında daha az performans göstermiştir.

Ürünlerde mikrobiyolojik açıdan gerçekleşen bozulmanın tespit edildiği günlerde saptanan TBA değeri incelenecek olduğunda, ulva katkılı salamlarda bozulmanın tespit edildiği 15.gün TBA değeri % 75.17 oranında düşüş ile 0.36 mg MDA/kg olarak kaydedilirken, nitrit katkılı salamlarda bozulmanın tespit edildiği ve aynı zamanda en düşük TBA değerinin kaydedildiği 30.günde ise TBA değeri, % 57.69 oranında düşüşle 0.77 mg MDA/kg olarak gerçekleşmiştir.

5.5.2.2. pH Sonuçları

pH artışı genelde proteolitik mikroorganizmaların faaliyetleri sonucudur. pH düzeyinde artış ya da düşüşler bozulma sürecindeki biyokimyasal olaylarla yakından ilişkilidir. Bozulma nedeni anaerobik bakteriler olduğunda laktik asit oluşumu sebebiyle pH düşme eğilimli olmaktadır. pH yükseliyorsa, bozulma biyojenik aminlerin oluşmasına neden oluyor demektir (Jorgensen ve diğ. 2000). Dilimlenerek vakum paketlenmiş soğukta depolanan salamlarda baskın mikroorganizma florası laktobasillerden oluşmaktadır. Laktobasiller, laktik asit bakterilerindendir ve bu bakterilerin üründe oluşturdukları metabolitler, ürün niteliklerinin bozulmasına yol açmaktadır. Bahsi geçen tipteki ürünlerde ise asit, gaz oluşumu, asidik tat ve vakum ambalaj içinde beyaz sümüksü ya da iplikli sıvı oluşması üründe bozulma emaresi olarak kendini göstermektedir. Ayrıca üründeki olumsuz pH sonuçları tek başına üründe bozulma olduğunu göstermede yetersizdir. pH değerindeki değişimler ile üründeki katkı maddeleri ve mikroorganizma florası arasında bir bağlantı bulunmaktadır. pH düzeyinde gerçekleşen düşüşlerde laktik asit bakterilerinin önemli bir rolü bulunmaktadır (Özdemir, 1998).

pH düzeyi salam ve sosis tipi ürünlerde öncelikle renk, emülsifikasyon olmak üzere ürüne ait özelliklere etki etmekte olan önemli bir kriterdir. Proteinler izoelektrik noktada düşük çözünürlük ve su tutma özelliği göstermektedir. Bu nedenle pH düzeyi emülsiyon oluşumunda önemli önemli rol oynamaktadır (Hecer ve Ulusoy 2011).

Salam hammaddesi olan çiğ tavuk etinde 6.71 ± 0.01 olarak ölçülen pH düzeyi, 0.gün ulva ekstraktlı salamlarda 6.55 ± 0.01 ve sentetik katkılı salamlarda ise 6.45 ± 0.01 olarak tespit edilmiştir. Genel olarak ulva ekstraktlı salamlarda pH düzeyi az bir farkla sentetik katkılı gruptan yüksek çıkmıştır.

Bu çalışmada 90.gün yapılan ölçümlerde ise ulva ekstraktlı salamların pH düzeyi 6.42 ± 0.01 , sentetik katkılı grubu salamların pH düzeyi ise 6.39 ± 0.01 olarak ölçülmüştür.

Efe (2019) sığır etinden üretmiş oldukları vakum paketli sosislerde 0.günde 6.65 olan pH değerini depolamanın 60.gününde 6.11 olarak bulmuştur.

Jaberi (2019) çalışmasında frankurter tipi sosislerde ilk gün pH değerini 6.30-6.46 olarak bulmuştur.

Bahrami (2018) çalışmada ürettikleri salamlardaki pH düzeylerini ilk gün 6.33-6.44 aralığında bulmuştur. Sosislerde ise ilk gün pH değeri 6.23-6.30 aralığında bulunmuştur.

Saimaiti (2018) yapmış olduğu çalışmada salamlarda 1.gün 6.08-6.14 olan pH değeri 60.gün 6.40-6.43 olarak kaydedilmiştir.

Uzlaşır (2017) çalışmasında üretmiş olduğu sığır eti salam hamurlarında ilk gün pH değerini 6.06 olarak bulmuştur.

Özdemir (1998) dilimlenmiş vakum paketli salamlarda soğuk depolama başlangıcında 6.11-6.21 pH düzeyleri kaydederken son depolama günü olan 60.günde 5.79-5.82 pH düzeylerini tespit etmiştir.

Keleş ve diğ. (2000) vakum paketlenmiş tavuk salamlarının soğuk depolanması sürecinde ilk gün 6.63 olarak belirledikleri pH değerini son depolama günü olan 60.günde 6.39 olarak bulmuştur.

Şişik (2008) yapmış olduğu çalışmada üretilen sığır eti salamlarında 0.gün 6.33 ölçülen pH değeri, 90.gün 6.21 olarak ölçülmüştür.

Güner ve Nizamoğlu (2001) çalışmasında vakum ambalajlanmış soğukta depolanan salamlarda 0.gün 6.38 olarak saptadıkları pH değerini 60.günde 6.29 olarak bulmuşlardır.

Bu çalışmada elde edilen pH verileri diğer literatür verileriyle benzerlik göstermektedir. Ürünlerde mikrobiyolojik açıdan bozulmanın tespit edildiği günlerde pH değerleri incelenecek olduğunda, ulva ekstraktlı salamlarda 15.gün % 1.22 oranında artışla 6.63, nitrit içeren grupta ise % 0.15 oranında düşüş ile 6.45 olarak gerçekleşmiştir.

5.5.3. Duyusal Analiz Sonuçları

Ulva ekstraktlı salamlarda 15.günde tespit edilmiş olan mikrobiyolojik bozulmaya rağmen, duyuşal değerlendirme puanları skalaya göre değerlendirildiğinde “İyi” kategoride yer almıştır. 15. analiz gününde panelistlerce verilen en düşük puan 6.33 olarak koku ve 6.5 olarak tat kriteridir. Üründeki bozulmanın salamlarda, tat ve koku özelliklerinde ilk güne nazaran bir eksiklik meydana getirdiğinin panelistlerce fark edilebildiği anlaşılmaktadır. Ancak yine de yüksek bir kategoride puan verilmiştir. Fakat 60. değerlendirme gününde ulva grubu salamlarda koku kriteri artık “Tüketilemez” kategorisinde puanlanmasıyla, tüm

grupların ve kriterlerin en düşük puanlaması yapılmıştır. Ulva grubu salamlardaki bu bozulma, ürünlerdeki tekstür, renk üzerinde kendini belli etmemiştir, çünkü panelistlerce bu kriterlere verilen puanlar depolama periyodu boyunca “Çok İyi” kategoride olarak puanlanmıştır.

Ulva lactuca ekstraktlı salamlarda panelistlerden, mikrobiyolojik bozulma nedeniyle 15.günden sonra tat ve gevreklik kriterlerinin puanlanmaması istenmiştir. 15.güne kadar ise tat ve gevreklik kriterleri “Mükemmel” ve “Çok İyi” kategoride puanlanmıştır. Ulva grubu salamları tat açısından “Çok İyi” olarak değerlendirilirken, nitrit içeren sentetikli grup salamları daha üstün bir beğeni kazanmıştır ve “Mükemmel” olarak değerlendirilmiştir. Gevreklik ise her iki grupta da aynı derecede yüksek puanlanmıştır. Genel kabul edilebilirlik kriteri ise 90.güne kadar kademe kademe düşmüştür ve son depolama gününde (90.gün) tüketilemez olarak değerlendirilmiştir. Üründe mikrobiyolojik bozulmanın tespit edildiği gün ise genel kabul edilebilirlik “Çok İyi” kategoride değerlendirilmiştir. Bunun, mikrobiyolojik bozulmanın somut sonuçlarının üründe henüz görülmeye başlamadığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sentetik katkılı salamlarda ise 30.günde sadece maya küf kaynaklı mikrobiyolojik bozulma gerçekleşmiştir. Bazı küf türlerinin besinlerdeki faaliyetleriyle meydana getirdikleri toksik metabolitler, mikotoksinler enfeksiyonlara, ölümcül zehirlenme durumlarının meydana gelmesine neden olabilmektedir. Mayaların bazı türleri enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. İnsan sağlığı düşünülerek panelistlerden 45.depoların gününden itibaren tat-lezzet ve gevreklik kriterlerine puan vermemeleri istenilmiştir.

Bozulma bu üründe ise kendini önce gevreklik ve koku daha sonra renk kriteri ile belli etmiştir. Panelistler ürüne ilk en düşük puanı 30. günde gevreklik kriterine vermiştir. Ancak yine de panelistlerce yüksek kategoride puanlanmıştır. Panelistlerin yapmış olduğu puanlama bağlantılı olarak genel kabul edilebilirlik kriterinin de sonraki duyuşal değerlendirmelerde öncekine göre daha düşük puanlanmasına neden olmuştur. Genel kabul edilebilirlik kriteri ise son analiz gününde “İyi” kategoriye düşmüştür.

Genel ürün puanlamasına bakıldığında ise, sentetik katkılı grup salamları her analiz gününde ulva grubundan daha yüksek puanla almıştır. Bozulmanın görüldüğü 15 ve 30.günlerde ilgili ürünlerde duyuşal değerlendirme puanlarının genel olarak (tat ve gevreklik hariç) mikrobiyolojik bozulmadan etkilenmemesi dikkat çekmektedir.

Özdemir (1998) vakum paketlenmiş olarak soğukta depolanan dilim salamlarda, panelistlerce salamdaki bozulma emaresi ilk duyuşsal kusurun hafif asidik lezzetle kendini 35. günde belli ettiğini belirtmiştir.

Atasever diğ. (2000) çalışmasında tavuk etinden ürettikleri salamların depolamanın 15.günde mikrobiyolojik olarak raf ömrünü doldurmasına rağmen duyuşsal olarak her kriter açısından 60 günlük depolama periyodu boyunca 10 üzerinden en az 7.22 puan aldıkları bildirilmiştir.

Keleş ve diğ. (2000) çalışmasında tavuk salamlarında genel bakteri sayısındaki artışla meydana gelen bozulma kendini başta tekstür ve lezzet kriterlerindeki düşüşle göstermiştir.

Karaçam ve Doğruer (2003) yapmış olduğu çalışmada salamlarda 30. gün tespit edilen mikrobiyolojik bozulma, duyuşsal değerlendirmeye yansımamıştır ve ürün 60 gün boyunca her kriterden yüksek puanlar almıştır. En düşük puan 10 üzerinden 6.99 olarak lezzet kriterine verilmiştir.

Verilen literatürlerde örneklerinin görüldüğü gibi mikrobiyolojik bozulmanın üründe her zaman somut etkisinin panelistlerce farkedilemediği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada ise salamlarda bozulmanın somut etkilerinin mikrobiyolojik bozulmadan sonraki ilerleyen depolama günlerinde ulva ekstraktı içeren grupta daha fazla görüldüğü, tat, koku ve genel kabul edilebilirlik kriterlerine verilen düşük puanlardan anlaşılmaktadır.

5.6. SONUÇ

Aseton, dietil eter, etanol, etil asetat ve petrol eter kullanılarak elde edilen ekstraktlar ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık test sonucu olarak, *U. lactuca* aseton ekstraktının en fazla sayıda bakteri türüne etki etmiş olduğu tespit edilmiştir. Bu bakteri türleri ise *S. aureus*, *B. cereus* ve *C. jejuni* olmuştur. Aseton ekstraktını, *S. aureus* ve *C. jejuni* bakterilerine antibakteriyal etkisi ile etil asetat ve dietil eter ekstraktı izlemiştir.

Tüm ekstrakt türleri *S. aureus*'a karşı antibakteriyal etki göstermiştir. *S. aureus*'a karşı en geniş inhibisyon zonu 14.8 mm ile etanol ekstraktında kaydedilmiştir. *C. jejuni*'ye karşı en yüksek inhibisyon zonunu ise 15.5 mm ile etil asetat ekstraktı göstermiştir. *B. cereus*'a karşı 7.0 mm inhibisyon çapıyla sadece aseton ekstraktı antibakteriyal etki göstermiştir. En düşük antibakteriyal etki ise *S. aureus*'a karşı 9.0 mm etkisi ile petrol eter ekstraktında görülmüştür.

Ulva ekstraktları, *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* türlerine karşı herhangi bir antibakteriyal etki göstermemiştir. *C. perfringens* bakterisinde ise antibakteriyal duyarlılık testi uygulanabilecek kriterlerde bir üreme gerçekleşmemiştir.

En yüksek fenolik içeriğin tespit edildiği solvent türü 55.65 mg-GAE/g ile aseton olurken bunu 51.98 mg-GAE/g ile etil asetat izlemiştir. En yüksek antioksidan aktivitenin saptandığı ekstrakt türü ise % 24.96 ile petrol eter ve % 21.65 ile dietil eter olmuştur. Antioksidan etki ile fenolik içerik arasında korelasyon bulunmazken, fenolik içerik ile antimikrobiyal etki arasında bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Koruyucu katkı maddesi olarak sodyum benzoatın kullanıldığı ançüzelerde maya küf kaynaklı bozulma 34. gün tespit edilirken, *Ulva lactuca* aseton ekstraktının kullanıldığı ançüzelerde toplam psikrofil bakteri sayısı artışı kaynaklı olarak bozulma 28. depolama gününde gerçekleşmiştir.

Ançüzeler ürün terkihi bakımından *S. aureus* gelişimini teşvik edici olarak yumurta içermektedir ve son ürün haline ise ısıtma işlemi uygulanmadan gelmektedir. Bu koşullara rağmen, ulva ekstraktı ançüzede depolama süresi boyunca *S. aureus* sayısını % 35 oranında inhibe ederken, sodyum benzoat katkısı *S. aureus* sayısını üründe % 15 oranında inhibe edebilmiştir. *Ulva lactuca* aseton ekstraktının üründeki *S. aureus* sayısını baskılamada sodyum benzoata göre % 20 oranında daha etkin olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde tespit edilen veriler ile in vivo şartlarda üründe elde edilen sonuçlar birbirlerini doğrular niteliktedir.

Ulva lactuca aseton ekstraktı katkılı ançüzelerde mikrobiyolojik bozulmanın tespit edildiği 28.günde TBA sayısının % 45.39 oranında düştüğü tespit edilirken, sodyum benzoat katkılı ançüzelerde ise mikrobiyolojik bozulmanın gerçekleştiği 35.günde TBA sayısındaki düşüş oranı % 44.30 olarak saptanmıştır. Ürünlere ait raf ömürleri sonunda yapılan TBA analiz sonuçları karşılaştırıldığında, *Ulva lactuca* aseton ekstraktı TBA değerini baskılamada sodyum benzoata göre % 1.09 oranında daha etkin olmuştur.

Ulva lactuca aseton ekstraktı içeren ançüzelerde son depolama gününde yapılan analizlerde TVB-N artış oranı % 18.92 olarak kaydedilirken, sodyum benzoat katkılı ürünlere bu artış oranı % 57.24 olarak tespit edilmiştir. *Ulva lactuca* aseton ekstraktının üründeki TVB-N

değerini baskılamada sodyum benzoata göre % 38.62 oranında daha etkili olduğu bulgulanmıştır.

Ulvalı ve sentetikli gruba ait ançüzlerin raf ömürleri sonunda yapılan duyu analizlerde tat ve koku kriterleri önceki değerlendirmelere göre daha düşük puanlanmıştır fakat bu puanlar “İyi” kategori içerisinde yer almıştır. Buna göre mikrobiyolojik bozulmanın etkilerinin üründe somut olarak görülmeye başlamadığı görülmüştür. Genel olarak, depolama süresi boyunca elde edilen genel ürün puanları kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarıyla pozitif korelasyon göstermiştir.

Sentetik koruyucu katkı maddesi olarak nitritin kullanıldığı vakum paketli dilimlenmiş salamlarda maya küf kaynaklı bozulma 30.gün tespit edilirken, *Ulva lactuca* aseton ekstraktının kullanıldığı salamlarda maya küf ve toplam psikrofil bakteri kaynaklı bozulma 15. gün tespit edilmiştir.

Özdemir (1998) 4 ve 7°C’de depolanan vakum paketli dilimlenmiş salamlarda ideal raf ömrünün 18 gün olduğunu aktarmış ve kendi çalışmasında ise bu süreyi ürün işleme prosesinin gelişmişliğine bağlayarak 35 gün olarak kabul etmiştir. Bu çalışmada ise bildirilen bu ideal raf ömrü süresine nitrit katkılı salamlarda ulaşılmıştır. *Ulva lactuca* aseton ekstraktını içeren salamlarda ise bu ideal raf ömrüne ulaşılamamıştır.

Depolama periyodu boyunca tüm salam gruplarında *S. aureus* bakterisine rastlanmamıştır. Bunda salam hamurlarına uygulanan ısı işleminin de etkisinin olabileceği şüphesinden dolayı, değerlendirme salam hamurlarının içerdiği *S. aureus* sayısı üzerinden yapılmıştır. Çiğ tavuk etine gerekli ingredientlerin ilavesinden sonra oluşan hamurda nitritli grupta *S. aureus* sayısı artarken, ulva ekstraktlı grupta bu sayı azalmıştır. Buna göre aynı salam hamuruna *U. lactuca* aseton ekstraktı katılması sonrasında, salam hamurunda nitrit içeren salam hamuruna göre % 45.54 oranında daha az *S. aureus* sayısı tespit edilmiştir. Nitrit içeren salam hamurunda ise *U. lactuca* aseton ekstraktı içeren salam hamuruna göre % 83.64 oranında daha fazla sayıda *S. aureus* tespit edilmiştir. Laboratuvar şartlarında *U. lactuca*’nın *S. aureus*’a karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal etki ürün şartlarında da kendisini göstermiştir.

Ulva ekstraktlı salamlarda bozulmanın tespit edildiği 15.gün yapılan analizlerde TBA değerinin % 75 oranında düşerek 0.36 mg MDA/kg olduğu bulunurken, nitrit katkılı salamlarda bozulmanın tespit edildiği 30.günde bu değer % 57.69 oranında düşerek 0.77 mg

MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Her iki grup ürün, 30.günde tespit edilen TBA düşüş oranı üzerinden karşılaştırılacak olursa nitril ilaveli grupta TBA oranı % 57.69 oranında düşerken, ulva ekstraktlı grupta bu düşüş oranı % 74.48 olmuştur. Ulva ekstraktı, üründeki TBA değerinin gerilemesinde nitritli gruba göre % 16.79 daha etkin rol oynamıştır. Ulva ekstraktı, salamlarda TBA değerini düşürmede ançüze göre daha yüksek performans göstermiştir.

Ulvalı ançüzelerde raf ömrü sonunda tat ve koku kriterleri önceki değerlendirmelere göre daha düşük puanlanmıştır fakat bu ürün puanı “İyi” kategori içerisinde kalmıştır. Nitritli grupta ise raf ömrü sonunda koku ve gevreklik kriterlerinde puan düşüşü gerçekleşmiş fakat ürün puanı “İyi” kategori içerisinde kalmıştır. Duyusal analiz neticelerine bakarak, üründe mikrobiyolojik bozulma kaynaklı oluşan somut etkilerin duyusal kriterlere yansımadağı anlaşılmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, salam gruplarının depolanması süresi boyunca elde edilen genel ürün puanları kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarıyla pozitif korelasyon göstermiştir.

Tüm bu sonuçlar beraberce değerlendirildiğinde, *Ulva lactuca* ekstraktının dünyada en çok rastlanan gıda zehirlenme vakalarında ilk sıralarda yer alan Stafilokokal intoksikasyonlara karşı özellikle hazır gıda endüstrisinde kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Sadece in vitro koşullardaki etkinliği değerlendirildiğinde diğer gıda patojenlerinden olan *B. cereus* ve *C. jejuni*'ye karşı da kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Ayrıca, üründeki TBA değerini düşürme ve TVB-N değerindeki artışı baskılamadaki etkin performansı dikkate alındığında, bu kriterlerin bir kalite parametresi olarak kullanıldığı ürünlerde, *Ulva lactuca* ekstraktının ürün terkininde yer almasının avantaj sağlayacağı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Acar, C., 2012, *Soğukta depolanmış sardalya (Sardina pilchardus), istavrit (Trachurus trachurus) ve levrek (Dicentrarchus labrax) kıymalarına zeytin yaprağı ekstresinin etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akçay, S., 2012, *Antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmlerin dumanlanmış balığın kalitesine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akkuş, Ö., Varlık, C., Erkan, N., Mol, S., 2004, Çiğ ve haşlanmış balık etinden yapılmış köftelerin bazı kalite parametrelerinin incelenmesi, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 79-85.
- Alang, G., Kaur, R., Singh, A., Budlakoti, P., Singla, P., 2009, Antimicrobial activity of *Ulva lactuca* extracts and its fractions, *Pharmacologyonline*, 3, 107-117.
- Ambhore, J., Whankatte, V., 2018, Total phenolic contents of some seaweed collected from Raigad Coasts of Konkan (MS), *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(7), 730-736.
- Anonymous, 2005, *Microbial ecology of food commodities*, Microorganisms in foods. In: Anonymous, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, ISBN: 0-306-48675, 174.
- Antonacopoulos, N., Vyncke, W., 1989, Determination of volatile basic nitrogen in fish: A third collaborative study by the West European Fish Technologists' Association (WEFTA) Bestimmung des flüchtigen Basenstickstoffs in Fisch: 3. Ringversuch der WEFTA (Vereinigung westeuropäischer Fischtechnologien), *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 189(4), 309-316.
- Aquamaps, 2019, *Distribution Map for Ulva lactuca*, https://www.aquamaps.org/receive.php?type_of_map=regular, [Ziyaret Tarihi: 05.04.2019].
- Argudin, M., Mendoza, M., Rodicio, M.R., 2010, Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins, *Toxins*, 2(7), 1751-1773.
- Atasever, M., Keleş, A., Güner, A., Tekinşen, K., 2000, Salam üretiminde tavuk ve hindi eti kullanımı, *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 16(2), 103-110.
- Athukorala, Y., Lee, K., Song, C., Ahn, C., Shin, T., Cha, Y., Shahidi, F., Jeon, Y., 2003, Potential antioxidant activity of marine red alga *Grateloupia filicina* extracts, *Journal of Food Lipids*, 10, 251-265.
- Aydın, C., 2018, *Ohmik ısıtma işleminin balık ezmesi kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bahrami, P., 2018, *Mekanik ayrılmış piliç eti kullanarak üretilen salam ve sosislerin tekstürel ve bazı fizikokimyasal özellikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Baky, H., Baz, F., Baroty, G., 2008, Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient, *American Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 3(3), 434-444.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J., Truck, M., 1966, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
- Baumgart, J., 1986, *Lebensmittel tierischer herkunft, feinkosterzeugnisse, gefrorene, tiefgefrorene und getrocknete lebensmittel fertiggerichte, hitzekonservierte lebensmittel, speiseeis, zucker, kakao, zuckerwaren, rohmassen*, Mikrobiologische untersuchung von lebensmittel, In: Baumgart, J. (ed.), Behr's Verlag, Hamburg, ISBN: 3-922528-91-0, 207.
- Baygar, T., Erkan, N., Mol, S., Özden, Ö., Üçok, D., Yıldırım, Y., 2008, Determination of the shelf-life of trout (*Oncorhynchus mykiss*) raw meatball that packed under modified atmosphere, *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (3), 412-417.
- Bayrak, E., 2011, *Farklı baharat ekstraktlarının mekanik ayrılmış piliç etlerinden üretilen sosislerin bazı kalite özellikleri üzerine etkisi*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bell, C., Neaves, P., Williams, A., 2005, *Food Microbiology and Laboratory Practice*, Blackwell Science, Oxford.
- Bennett, R., W., Lancette, G., A., 2001, *Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 12*, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus>, [Ziyaret Tarihi: 28.02 2019].
- Bilgin, M., Şahin, S., Dramur, U., Sevgili, L., 2013, Obtaining scarlet sage (*Salvia coccinea*) extract through homogenizer ultrasound assistet extraction methods, *Chemical Engineering Communications*, 200(9), 1197-1209.
- Bilgin, Ş., Ünlüsayın, M., Günlü, A., İzci, L., 2005, Sudak (*Sander lucioperca* bogustkaya ve naseka, 1996) ve kadife (*Tinca tinca* L., 1758) balığından balık ezmesi (pate) yapımı, bazı kimyasal bileşenlerin ve kalite kriterlerinin belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22, 3-4, 399-402
- Blaszczuk, A., 2006, DNA damage induced by etoxyquin in human peripheral lymphocytes, *Toxicology Letters*, 163(1), 77-83.
- Bostan, K., Mahan, F., 2011, Microbiological quality and shelf life of sausage treated with chitosan., *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(2), 117-126.
- Boz, E.S., 2009, *Toplum kaynaklı ve nozokomiyal deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından izole edilen staphylococcus aureus'ların mlsb direnci ve antimikrobiyal duyarlılıkları*, Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Bölümü.

- Çaf, F., Yılmaz, Ö., Durucan, F., Özdemir, N., 2015, Biochemical components of three marine macroalgae (*Padina pavonica*, *Ulva lactuca* and *Taonia atomaria*) from the levantine sea coast of Antalya, Turkey, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 6(4), 401-411.
- Can, Ö.P., 2012, Eugenol katkılı aynalı sazan balığı köftelerinin raf ömrünün belirlenmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 16(1), 6-12.
- Centeno, P. R., Ballantine, D., 1999, Effects of culture conditions on production of antibiotically active metabolites by the marine alga *Spyridia filamentosa* (Ceramiaceae. Rhodophyta) I.light, *Journal of Applied Phycology*, 11, 217-224.
- Chidambararajan, P., Keerthana, V., Priyadharshini, K., Sakthivel, B., 2019, In vitro antioxidant and anticancer activity of *Ulva lactuca* L. using molt-3 cell line, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinic Research*, 12(5), 75-78.
- Cirik, Ş., Cirik, S., 2011, *Su Bitkileri I, Deniz bitkilerinin biyolojisi, ekolojisi ve yetistirme teknikleri*, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, İzmir, 58:135-145.
- Coşkun, F., Yılmaz, İ., Demirci, A., 2015, The microbiological quality of frankfurters sold in Tekirdag, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1), 105-109.
- Cronodon, 2019, *Ulva lactuca*, http://cronodon.com/BioTech/Algal_Bodies.html, [Ziyaret Tarihi: 20.04.2019].
- Çakmakçı, S., Gökalp, H. Y., 1992, Gıdalarda kısaca oksidasyon; Antioksidantlar ve gıda sanayisinde kullanımları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(23), 174-192.
- Çalışır, Z., Çalışkan, D., 2003, Gıda katkı maddeleri ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(3), 206-207.
- Çıkrıkçı, S., 2005, *4'-dioktilamino-3-hidroksiflavon temelli floresans problemlerinin sentezleri ve özelliklerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çolakoğlu, F., Ormancı, H.B., Çakır, F., Künili, İ.E., 2010, Tuzlanmış sardalya (*Sardina pilchardus*) balığından ezme üretimi üzerine bir araştırma, *Dünya Gıda Dergisi*, 46-51.
- Demirkaya, A. K., 2014, Bilecik ilinde tüketime sunulan kıyma ve tavuk etlerinde lipid oksidasyonu, *Akademik Gıda*, 12(3), 26-29.
- Diler, A., Behire, I., Güner, A., Doğruer, Y., 2002, Sıcak dumanlamanın Eğrez balığının kalitesine etkisi (*Vimba vimba tenella*), *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 18(3), 71-77.
- Dinçer, A., 1987, Gıdalarda kullanılan antioksidantlar ve fonksiyonları, *Gıda Sanayi*, 40-42.
- Efe, A., 2019, *Kurutulmuş kültür mantarının (Agaricus bisporus) sosis üretiminde kullanımının araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Epley, R. J., Addis, P. B., Warthesen, J. J., 1992, Nitrite in meat, *University of Minnesota Extension Service*, 1-2.
- Erkan, N., Özden, Ö., 2008, Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice, *International Journal of Food Science & Technology*, 43(9), 1549-1559.
- Ertaş, A., 1981, Balık mikroflorası ve kutu konserve balıklarda bozulmaya neden olan bakteriler, *Gıda Dergisi*, 4(6), 7-9.
- Ertaş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F., Al, S., 2013, Hayvansal gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7'nin önemi, *Journal of Veterinary Medicine*, 1(10), 45-52.
- Falowo, A., Fayemi, P., Muchenje, V., 2014, Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review, *Food Research International*, 64, 171-181.
- FDA, 2012, *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*, <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFisheriesProductsHazardsandControlsGuide/UCM252448.Pdf>, [Ziyaret Tarihi: 05.04.2019].
- Fernandez, C., 2019, *Ulva lactuca*, <http://www.biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfm/metas/view/29554>, [Ziyaret Tarihi: 09.04.2019]
- Gencer, C., 2012, *Farklı işleme teknolojileri uygulanmış sardalya balığından ezme ürün geliştirilmesi ve kalite özelliklerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gey, K.F., 1990, The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: Epidemiology and mechanisms, *Biochemical Society Transactions*, 18, 101-104.
- Gökoğlu, N., 1994, Balık köftesinin soğukta depolanması, *Gıda Dergisi*, 19(3), 217-222.
- Gram, L., 1992, Evaluation of the bacteriological quality of seafood, *International Journal of Food Microbiology*, 16, 25-39.
- Güner, A., Nizamoğlu, M., 2001, Karragenan kullanımının yağ oranı azaltılmış salamın bazı kimyasal ve fizikokimyasal kalite nitelikleri üzerine etkisi, *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 17(1), 121-128.
- Gür, E., Altuğ, T., 2009, *Antioksidanlar*, Gıda katkı maddeleri, In: Altuğ, T. (ed.), Bölüm No: 02, Sıdaş Medya Ltd.Şti., İzmir, ISBN: 978-975-97408-0-1, 17-39.
- Halkman, K., 2013, *Gıda mikrobiyolojisi II ders notları*, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Halkman, K., 2005, *Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları*, Başak Matbaacılık, Ankara, ISBN: 9750037308.

- Halliwell, B., Gutteridge, J., 1990, *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview*, Methods in Enzymology In: Packer L., Glazer, A., (ed.), Chapter 1, AP, 1-85.
- Hamre, K., 2011, Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish, *Aquaculture Nutrition*, 17(1), 98-115.
- Harada, H., Noro, T., Kamei, Y., 1997, Selective antitumor activity in vitro from marine algae from Japan coasts, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 20(5), 541-546.
- Hastein, T., Hjeltnes, B., Lillehaug, A., Skare, J., Berntssen, M., 2006, Food safety hazards that occur during the production stage: Challenges for fish farming and the fishing industry, *Revue Scientifique Et Technique*, 25(2), 607-625.
- Hecer, C., Ulusoy, H., 2011, Microbiological properties of mechanically deboned poultry meat that applied lactic acid, acetic acid and sodium lactate, *African Journal of Agricultural Research*, 6(16), 3847-3852.
- Hernandez, H.M.M., Roig-Sagues, A.X., Lopez-Sabater, E.I., Rodriguez-Jerez, J.J., Mora-Ventura, M.T., 1999, Total volatile basic nitrogen and other physicochemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies, *Journal of Food Science*, 64, 344-347.
- IARC, 2015, *IARC monographs evaluate consumption of red meat and processed meat*, www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2015/pdfs/pr240_E.pdf, [Ziyaret Tarihi: 16.10. 2018].
- ISO, 2017, *10272-1:2017, Microbiology of the food chain- horizontal method for the detection, enumeration of Campylobacter spp. - Part 1: detection method*, <https://www.sis.se/api/document/preview/922034/>, [Ziyaret Tarihi: 04.02.2019].
- ISO, 2017, *6579-1:2017, Microbiology of the food chain- horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: detection of Salmonella spp.*, <https://www.sis.se/api/document/preview/921516/>, [Ziyaret Tarihi: 10.02.2019].
- ISO, 2001, 11290-1:1996, Microbiology of food and animal feeding stuffs—horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*—Part 1: detection method.
- ISO, 2001, Microbiology of food and animalfeeding stuffs—Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* 0157.,ISO 16654.
- Itis, 2019, *Ulva lactuca*, https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=6562#null, [Ziyaret Tarihi: 03 02 2019].
- Jaberi, R., 2019, *Berberis vulgaris'in frankfurter tipi sosisin kalitatif özelliklerine etkisi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Jorgensen, L.V., Dalgaard, P., Huss, H.H., 2000, Multiple compound quality index for cold-smoked salmon (*Salmo salar*) developed by multivariate regression of biogenic amines and pH, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2448-2453.

- Kaba, N., Çorapçı, B., Eryaşar, K., 2014, Determination of some quality properties and nutritional composition of Turkish raw meat ball produced with marinated atlantic bonito, *Gıda*, 39(2), 63-70.
- Kaba, N., Çorapçı, B., Yücel, Ş., Özer, Ö., Eryaşar, K., 2013, Dumanlanmış palamut balığından (*Sarda sarda*, bloch 173) elde edilen balık köftesinin duyuşal, kimyasal, ve mikrobiyolojik özellikleri, *Akademik Gıda*, 11(2), 45-50.
- Kadioğlu, A., Kaya, Y., 2003, *Genel botanik*, Erzurum.
- Karaçam, S., Doğruer, Y., 2003, Tuz oranı azaltılmış tavuk eti salamlarında sodyum polifosfat kullanımının kaliteye etkisi, *Veteriner Bilimlei Dergisi*, 3-4 (19), 11-18.
- Karakahya, F., 2011, *Tavuk embriyonal gelişimi üzerine gıda katkı maddesi sodyum benzoat'ın embriyotoksik etkilerinin histolojik yönden belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Keleş, A., Atasever, M., Güner, A., Uçar, G., 2000, Sığır eti ilavesi ile tavuk salamı üretimi, *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 16(2), 5-14.
- Keskin, D., 2007, *Pseudomonas türlerinin gıdalardaki önemi*, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(3), 185.
- Khaliq, A., Hassan, H., Rateb, M., Hammouda, O., 2014, Antimicrobial activity of three *Ulva* species collected from some egypten mediterranean seashores, *International Journal of Engineering Research and General Science*, 2(5), 648-661.
- Kılıç, A., 2005, *Dumanlanmış gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretiminde antimikrobiyal ve antioksidan maddeler kullanımı*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş., Tolasa, Ş., 2008, Quality changes of sardine (*Sardine pilchardus*) patties during refrigerated storage, 31, 366-381.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş., Tolosa, Ş., 2007, Quality changes of sardine (*Sardine pilchardus*) patties during refrigerated storage, *Journal of Food Quality*, 366-381.
- Kılınç, B., Şahin, V., 2015, Production of anchovy and mussel pastes as appetizer, *Journal of Food Processing and Technology*, 6(11).
- Kim, S. K., Pangestuti, R., Rahmadi, P., 2011, *Sea lettuces: Culinary uses and nutritional value*, Advances in food and nutrition research, In: Ferreira, I., Barros, L. (ed.), *Chapter 5*, AP, ISBN: 0123876699 , 57-70.
- Kıralan, M., Ercoškun, H., Işıksal, S., 2004, Gıda antioksidanları ve etki mekanizması, *Akademik Gıda Dergisi*, 5-14.
- Kocatepe, D., Erkoyuncu, İ., Turan, H., 2013, Su ürünleri kaynaklı patojen mikroorganizmalar ve zehirlenmeler, *Yunus Arastırma Bülteni*, 3, 47-56.

- Kokabi, M., Morteza, Y., Atoosa, A., Amin, F., Mousa, K., 2013, Antioxidant activity of extracts of selected algae from the Persian Gulf, Iran, *Journal of the Persian Gulf*, 4(12), 45-50.
- Kolanjinathan, K., Stella, D., 2011, Comparative studies on antimicrobial activity of *Ulva reticulata* and *Ulva lactuca* against human pathogens, *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 2(6), 1738-1744.
- Kramer, J., Gilbert, R., 1989, *Bacillus cereus and other Bacillus species*, Foodborne bacterial pathogens, In: Marcel, D. (ed.), Doyle M.P, New York, 21-70.
- Leelavathi, M., Prasad, P., 2014, Evaluation of antioxidant properties of marine seaweed samples by DPPH method, *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 2(6), 132-137.
- Lim, S., Cheung, P., Ooi, V., Ang, P., 2002, Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed *Sargassum siliquastrum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3862-3866.
- Liu, D., Tsau, R., Lin, Y., Jan, S., Tan, F., 2009, Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage, *Food Chemistry*, 13, 106-117.
- Liu, Z.Y, Zhong, M.L, Li, Z.H, Zhang, J., He, L., Hou, F., 2009, Fermentation of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) surimi and the characteristics of fermented bighead carp surimi products, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 3(89), 511-516.
- Logan, N., Rodriguez, M., 2006, *Bacillus spp. and related genera*, Principles and practice of clinical bacteriology, In: Gillespie, S.; Hawkey, P. (ed.), Chapter 9, John Wiley & Sons Ltd., England, 139-158.
- Malik, N., Bradford, J., 2006, Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in "Arbequina" olives, *Science Horticulturae*, 3(110), 274-278.
- Maliyanmu, S., 2018, *Sığır ve piliç etinden üretilen salamların bazı özellikleri üzerine modifiye patates nişastasının etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Malki, A., Barbour, E., Zahrani, M., Moselhy, S., 2018, Impact of various solvents on yield and activity of phenolics and flavonoids of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) algae, *Journal of Pharmaceutical Research International*, 3(24), 1-7.
- Mamur, S., Ataseven, N., Yüzbaşıoğlu, D., 2018, Gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan sodyum benzoat ve potasyum sorbat karışımının genotoksik potansiyelinin mikronükleus testi ile belirlenmesi, *BAUN Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 235-245.
- Mann, J. E., 2006, *Validation of processing parameters for the production of microbiologically safe cooked ready to eat and raw meat products*, Thesis (PhD), Graduate Faculty of Texas Tech University.

- Massoud, G., Hind, E., Ali, B., Alaa, S., 2017, Antibacterial activity of methanolic extracts of 5 species of *Ulva* from Benghazi coasts, Libya, *Continuous Research Online Library*, 1(1), 1-
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D., Mozhi, S., Arumugam, M., Balasubramanian, T., 2009, Total flavanoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of rameshwaram coast, *Global Journal of Pharmacology*, 3(2), 59-62.
- Meral, R., Doğan, İ. S., Kanberoğlu, G., 2012, Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2), 45-50.
- Mol, S., Erkan, E., Üçok, D., Tosun, Ş. Y., 2007, Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality, *Journal of Muscle Food*, 18, 120-128.
- Mol, S., Özden, Ö., 2011, *Tuzlama*, Su ürünleri işleme teknolojisi, In: Varlık, C. (ed.) İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul, ISBN: 978-975-404-898-8, 197-214.
- Nithya, P., Dhanalakshmi, B., 2016, Antibacterial activity of methanol extracts from selected seaweed of south east coast of India, *International Journal of Applied Research*, 2(9), 714-718.
- Nothlings, U., Wilkens, L., Murphy, S., Hankin, J., Henderson, B., Kolonel, L., 2005, Meat and fat intake as risk factors for pancreatic cancer: The multiethnic cohort study, *Journal of the National Cancer Institute*, 97(19), 1458-1465.
- Okab, A., Samara, E., Abdoun, K., Rafay, J., Ondruska, L., Parkanyi, V., 2013, Effects of dietary seaweed (*Ulva lactuca*) supplementation on the reproductive performance of buck and doe rabbits, *Journal of Applied Animal Research*, 347-355.
- Ova, G., 2009, *Koruyucular*, Gıda katkı maddeleri, In: Altuğ, T. (ed.), Bölüm No:6, Sidaş Medya Ltd.Şti., İzmir, ISBN: 978-975-97408-0-1, 105-138.
- Öğüt, S., 2014, Doğal antioksidanların önemi, *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 25-30.
- Öksüztepe, G., Çoban, O., Guran, H., 2010, The effect of addition of sodium lactate in fish balls made from fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.), *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16, 65-72.
- Özdemir, H., 1997, Vakumla paketlenmiş sosislerde mikrobiyel floranın gelişimi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 44, 127-136.
- Özdemir, H., 1998, Vakum paketli dilimlenmiş salamlarda mikrofloranın gelişimi ve raf ömrünün saptanması, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45, 185-192.
- Özden, Ö., Orhan, Y., Kaplan, M., Parıldar, S., Erkan, N., 2019., Trace toxic mineral levels of sea lettuce (*Ulva* spp.) from coast of Istanbul, *Aquatic Research*, 2(3), 154-160.

- Öztürk, B., Serdaroğlu, M., Ergezer, H., 2015, Et ve et ürünlerinde nitrit-nitrat; kullanım avantajları, yasal sınırlamalar ve güncel alternatif yaklaşımlar, *Akademik Gıda*, 13(3), 257-264.
- Perez, R.M., Avila, J.G., Perez, S., Martinez, A., Martinez, G., 1990, Antimicrobial activity of some american algae, *Journal of Ethnopharmacology*, 18(29), 111-116.
- Perry, N., Blunt, J., Munro, A., 1991, A cytotoxic and antifungal 1,4-naphthaquinone and related compounds from a New Zealand brown algae, *Landsburgia quercifolia*, *Journal of Natural Products*, 54(4), 978-985.
- Pesando, D., Caram, B., 1984, Screening of marine algae from the French mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity, *Botanica Marina*, 27, 381-386.
- Priya, N., Poonguzhali, T., 2015, In vitro antibacterial activity of some extracts from the algae *Ulva lactuca* against pathogenic bacteria, *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(8), 839-844.
- Rasyid, A., 2017, Evaluation of nutritional composition of the dried seaweed *Ulva lactuca* from pameungpeuk waters, Indonesia, *Tropical Life Sciences Research*, 28(2), 119-125.
- Renner, E., 1970, Mathemetisch-statistische methoden in der praktischen anwendung, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg.
- Rhodehamel, E.J., Harmon, S.M., 1998, *Clostridium perfringens*, in *FDA's Bacteriological Analytical Manual*, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-clostridium-perfringens>, [Ziyaret Tarihi: 20.04.2019].
- Rosas, A., Soto, M., Vega, M., Baeza, A., Valdez, P., 2017, Antioxidant activity and apparent digestibility of amino acids of three macroalgae meals in the diets of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *Latin American Journal of Aquatic Research*, 5(45), 970-978.
- Sağlam, D., Şeker, E., 2016, Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler, *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 105-113.
- Saimaiti, M., 2018, *Sığır ve piliç etinden üretilen salamların bazı özellikleri üzerine modifiye patates nişastasının etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, 19 Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Saldamlı, İ., 1985, *Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler*, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Samaraweera, A., Vidanarachchi, J., Kurukulasuriya, M., 2012, *Industrial applications of macroalgae*. Handbook of marine macroalgae Biotechnology and Applied Phycology. In: Kim, S.K., (ed.), John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, ISBN: 9780470979181, 506.
- Saranya, C., Parthiban, C., Anantharaman, P., 2014, Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of seaweeds from pondicherry coast, *Advances in Applied Science Research*, 5(4), 82-90.

- Sarıçoban, C., 2004, *Piliç sosisi üretiminde mekanik ve elle ayrılmış piliç etlerinin optimum kullanım düzeylerinin tesbiti*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Saritha, K., Aswathi, M., Priyalaxmi, M., Patterson, J., 2013, Antibacterial activity and biochemical constituents of seaweed *Ulva lactuca*, *Global Journal of Pharmacology*, 3(7), 276-282.
- Sarkar, A., Ghosh, U., 2016, Natural antioxidants- The key to safe and sustainable life, *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology*, 6(3), 460-466.
- Sasikala, C., Geetha, D., 2017, Comparative study on antimicrobial activity of seaweeds, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(12), 384-386.
- Schormüller, J., 1968, *Handbuch der lebensmittelchemie (Band III/ 2)*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Sirbu, R., Stanciu, G., Tomescu, A., Ionescu, A., Cadar, E., 2019, Evaluation of antioxidant and antibacterial activity in relation to total phenolic content of green algae from black sea, *Revistade Chimie*, 4(70), 1197-1203.
- Skibola, C., 2004, The effect of fucus vesiculosus, an edible brown seaweed, upon menstrual cycle length and hormonal status in three pre-menopausal women: A case report, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 4, 10-17.
- Stafford, H., 1991, Flavonoid evolution: An enzymic approach, *Plant Physiology*, 96, 680-685.
- Stammen, K., Gerdes, D., Caporosa, F., 1990, Modified atmosphere packaging of seafood, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(5), 301-331.
- Stuckey, B., 1972, *Antioxidants as food stabilizers*, CRC handbook of food additives, In: Furia, T.E. (ed.), Chapter 03, The Chemical Rubber Co., Cleveland (Ohio), 115.
- Sujina, M., Soumya, D., Manjusha, W., 2016, Assessing the anticancer, antiinflammatory, antimicrobial and antioxidant potential of bioactive compounds present in marine algae *Ulva lactuca*, *World of Journal Pharmaceutical Research*, 5(4), 1482-1500.
- Şen, S., Aksoy, H., Yılmaz, S., 2017, Gıda katkı maddelerinin genotoksik, karsinojenik potansiyeli ve insan sağlığı üzerindeki diğer etkileri, *International Journal of Human Sciences* 14(4), 3093-3108.
- Şişik, Ş., 2008, *Salam üretiminde mısırözü yağı ve brokoli kullanım imkanları*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tariq, A., Athar, M., Ara, J., Ahmad, M., 2015, Biochemical evaluation of antioxidant activity in extracts and polysaccharide fractions of seaweeds, *Global Journal of Environmental Science and Management*, 1(1), 47-62.
- Topdaş, E. F., 2018, *Çaşıрын (Ferula orientalis) esansiyel yağı ile farklı ekstraktların antioksidan antimikrobiyal ve in vitro nöroprotektif aktivitelerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Tosun, Y., 2010. *Dumanlanmış balıklara inokule edilmiş Listeria monocytogenes'in farklı uygulamalarla inhibisyonunun incelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- T. G. K., 2013, *Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği*, <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/42410?AspxAutoDetectCookieSupport=1>, [Ziyaret Tarihi: 08.03.2019].
- T. G. K., 2009/68, *Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği*, <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/01/20100108-10.htm>, [Ziyaret Tarihi: 15.08.2019].
- T. G. K., 2008, *Su ürünleri yönetmeliği*, <http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.4988&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=su%20%C3%BCr%C3%BCnleri>, [Ziyaret Tarihi: 20.04.2019].
- T. G. K., 2001, *Mikrobiyolojik kriterler tebliği*, http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/mev/mev_teb/tebl_temel_saglik/mikrobiyolojik_kriterler.pdf, [Ziyaret Tarihi: 20.04.2019].
- TSE, 1992, *TS 979 Salam*, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara
- Turhan, S., Evren, M., Yazıcı, F., 2001, Shelf life of refrigerated raw anchovy (*Engraulis encrasicolus*) patties, *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 18(3-4), 391-398.
- Unal, K., 2015, Extraction of borneo brown seaweed and evaluation of its phenolic content and antioxidant activity, *Researchgate*.
- Uzlaşır, T., 2017, *Kabak çekirdeği yağının salam üretiminde kullanım imkanlarının belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Üçok, D., 2009, *İstanbul piyasasında hazır yemek olarak satılmakta olan su ürünlerindeki riskli mikroorganizmaların belirlenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ünlüsayın, M., Bilgin, Ş., İzci, L., Günlü, A., 2007, Chemical and sensory assessment of hot smoked fish pate, *Journal of Fisheries Sciences*, 1(1), 20-25.
- Varlık, C., Özden, Ö., Erkan, N., Üçok, D., 2007, *Su ürünlerinde temel kalite kontrol*, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İstanbul.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H., 1993, *Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayını, İstanbul.
- Vermerris, W., Nicholson, R., 2006, *Phenolic compounds and their effects on human health*, Phenolic compound biochemistry, In: Vermerris, W., Nicholson, R. (ed.), Chapter 07, Springer, Netherlands, 235-255.
- Vyncke, W., 1981, *pH of fish muscle comparison of methods*, Western European Fish Technologists' Association (WEFTA), Copenhagen, Denmark.
- Whankatte, R., Ambhore, S., 2016, Phytochemical screening and antioxidant activity of *Ulva lactuca*, *International Journal of Current Research*, 8(9), 38265-38269.

- Wichard, T., Charrier, B., Mineur, F., Bothwell, J.H., Clerck, O.D., Coates, J.C., 2015, The green seaweed *Ulva*: A model system to study morphogenesis, *Frontiers in Plant Science*, 6(72), 72-82.
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., 2011, Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia, *Food Chemistry*, 128(4), 895-901.
- Yetük, G., 2013, *Gıda katkı maddesi sodyum benzoat'ın insan eritrositleri üzerine in vitro toksik etkisi ve kateşin ve kuersetin'in koruyucu rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yu, J., Wang, L., Walzem, R.L., Miller, E.G., Pike, L.M., Patil, B.S., 2005, Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids and coumarins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6(53), 2009-2014.
- Zahrani, A., Omer, H., Judaibi, A., 2016, Impact of antibacterial activity of physical storage extracts on pathogenic bacteria, *Journal of Biosciences and Medicines*, 4, 54-62.
- Zoral, F., Turgay, Ö., 2014, Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırılması, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(2), 24-33.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Yasin ORHAN
Doğum Yeri	Safranbolu/KARABÜK
Doğum Tarihi	25.03.1986
Uyruğu	T.C.
Telefon	
E-Posta Adresi	orhanjasin@yahoo.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fakülte	Su Ürünleri Fakültesi
Bölümü	Su Ürünleri Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	2011

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Avlama ve İşleme Teknolojisi
Programı	İşleme Teknolojisi

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı
Programı	Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Programı

Makale ve Bildiriler	
Ozden, O., Orhan, Y. , Kaplan, M., Parıldar, S., Erkan, N., 2019, Trace toxic mineral levels of sea lettuce (<i>Ulva spp.</i>) from coast of Istanbul, <i>Aquatic Research</i> , 2 (3), 154-160.	
Ozden O., Orhan Y. , "Metal Levels of Sea Lettuce (<i>Ulva lactuca</i>) from coast of Istanbul", <i>HydroMediT 2018</i> , Volos, Greece, 8-11 November 2018, pp.717-718	
Orhan Y. , Ozden O., "Evaluation of <i>Ulva lactuca</i> as a Natural Food Additive", <i>1 st International Symposium on Graduate Research in Science Focus on Entrepreneurship and Innovation (ISGRS 2018)</i> , Istanbul, Turkey, 4-6 October 2018, pp.219	
Orhan, Y. , 2014, <i>Kültür balığı atıklarından jelatin üretimi ve kalitesinin belirlenmesi</i> , Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.	
Ozden, O., Orhan, Y. , Tosun, D., 2014, <i>Sucul ortam başlangıç yemi ve üretim yöntemi</i> , TR Patent 2014/12182.	