

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DOĞAL ANTİMİKROBİYAL MADDE
İÇEREN YENİLEBİLİR PULLULAN
FİLM UYGULAMANIN
HAZIR SALATANIN RAF
ÖMRÜNE ETKİLERİ**

**Nilay Sultan KANDEMİR
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Bilim Dalı Kodu:614.02.00
Sunuş Tarihi:15.09.2006**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Taner BAYSAL

Bornova-İZMİR

Nilay Sultan KANDEMİR tarafından **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak sunulan **“Doğal Antimikrobiyal Madde İçeren Yenilebilir Pullulan Film Uygulamanın Hazır Salatanın Raf Ömrüne Etkileri”** başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 15.09.2006 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Taner BAYSAL

Raportör Üye : Doç. Dr. Yekta GÖKSUNGUR

Üye : Doç. Dr. Ahmet YEMENİCİOĞLU

ÖZET

DOĞAL ANTİMİKROBİYAL MADDE İÇEREN YENİLEBİLİR PULLULAN FİLM UYGULAMANIN HAZIR SALATANIN RAF ÖMRÜNE ETKİLERİ

KANDEMİR, Nilay Sultan

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Taner BAYSAL

Eylül 2006, 145 Sayfa

Bu tez çalışmasında, hazır salata ürünlerinin raf ömürleri üzerine antimikrobiyal içeren yenilebilir pullulan filmin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, hazır salata ürünleri, yalnızca pullulan (B), EDTA içeren pullulan (C) ve EDTA, lizozim içeren pullulan film (D) ile kaplanmış, diğer bir grup ise kontrol grubu (A) olarak belirlenmiştir. Örneklerin askorbik asit, pH, asitlik, renk (L, a, b, ΔC ve ΔE), doku sertliği değerleri ile, toplam canlı, koliform, küf maya, laktik asit bakterisi sayısı analiz edilmiştir.

Depolama süresince marul ve salatalık örneklerinin askorbik asit ve pH değerlerinde başlangıca göre artış görülürken, titrasyon asitliği değerlerinde önemli bir değişime rastlanmamıştır. Depolama sonunda tüm gruplara ait marul örneklerinin L değerleri ile C ve D gruplarına ait örneklerin (a) değerlerinde başlangıca göre azalma, (b) değerlerinde artış olduğu belirlenmiştir. Salatalık örneklerinde kaplama (B) ve antimikrobiyal uygulamasının (C ve D) L değeri üzerine etkisi belirgin değildir ancak (a) ve (b) değerleri değişimi marula benzer şekilde olmuştur.

Marul örneklerinin toplam canlı ve koliform bakteri sayısı üzerine antimikrobiyal uygulamanın etkisi istatistiksel olarak ($p \leq 0,05$) önemli olduğu belirlenmiş, ancak salatalık örneklerine ait gruplar arasında herhangi

bir farklılık saptanmamıştır. Salatalık örneklerinde laktik asit bakterisi sayısı 10^2 - 10^4 CFU/g, küf-maya sayısı en fazla 10^*10^1 olarak tespit edilmiştir.

Antimikrobiyal içeren kaplama uygulamasının, örneklerin fiziksel ve kimyasal parametreleri üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığı; bununla birlikte özellikle marul örneklerinde mikrobiyolojik kalitenin korunmasında faydalı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler : Yenilebilir film, lizozim, antimikrobiyal madde, pullulan, marul, salatalık

ABSTRACT

THE EFFECTS OF EDIBLE PULLULAN FILM CONTAINING ANTIMICROBIAL AGENT

ON THE SHELF LIFE OF READY TO EAT SALADS

KANDEMİR, Nilay Sultan

Mac in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Taner BAYSAL

September 2006, 145 Pages

In this research, it is aimed to determine the effects of edible pullulan film containing antimikrobiyal agent, on shelf life of ready to eat salads.

For this purpose, ready to eat salad products were coated with pullulan film (B), pullulan film containing EDTA (C), pullulan film containing EDTA and lysozyme (D) and the last group was for prepared to control (A). Ascorbic acid, pH, color (L, a, b, ΔC and ΔE), firmness, total mesophilic aerobic bacteria, yeast and mould, coliform, lactic acid bacteria analyses were performed for the groups mentioned.

During storage, ascorbic acid and pH values of lettuce and cucumber were increased while the acidity value had no significant variation. At the end of the storage, L value of the lettuce samples and (a) values of C and D groups were decreased while (b) values of samples were increased. For cucumbers, coating (B) and antimikrobiyal application had no significant effect on L value but (a) and (b) values were found similar with the lettuce samples.

Antimicrobial coating application had also significant effect ($p \leq 0,05$) on the total aerobic mesophilic and coliform number of lettuce samples and hardly no significant effect was observed for cucumber samples.

At the end of storage lactic acid bacteria ranged from 10^2 to 10^4 CFU/g and yeast and mould count was detected maximum $10 \cdot 10^1$ CFU/g for cucumber samples.

In summary; both coating and antimikrobiyal agents had no negative effect over physical and chemical parameters however antimikrobiyal coating can be used to save the microbiological quality of lettuce during storage.

Keywords: Edible film, lysozyme, antimicrobial agents, pullulan, lettuce and cucumber.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	12
2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	12
2.2. Mikrobiyal Polisakkaritler.....	14
2.3. Antimikrobiyal maddelerin yenilebilir film ile kullanılması.....	23

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

2.3.1. Lisozim.....	26
2.4. Minimum İşlem Görmüş Tüketime Hazır Meyve ve Sebzeler.....	31
3. ÖZDEK VE YÖNTEMLER.....	34
3.1. Özdek.....	34
3.2. Yöntemler.....	34
3.2.1. Üretim Yöntemleri.....	34
3.2.1.1. Granül Pullulan Üretimi.....	34
3.2.1.2. Lisozim Üretimi.....	37
3.2.1.3. Pullulan Film Üretimi.....	37
3.2.1.4. Tüketime Hazır Minimum İşlem Görmüş Sebzelere Pullulan Film Uygulanması.....	38
3.2.2. Analiz Metotları.....	40
3.2.2.1. Pullulan Tayini.....	40

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.2.2. Lisozim Aktivite Tayini.....	40
3.2.2.3. Kimyasal Analizler.....	41
3.2.2.3.1. Askorbik Asit Tayini.....	41
3.2.2.3.2. pH Tayini.....	41
3.2.2.3.3. Asitlik (Titrasyon Asitliği) Tayini.....	41
3.2.2.4. Fiziksel Analizler.....	42
3.2.2.4.1. Renk Tayini.....	42
3.2.2.4.2. Doku Sertlik Tayini.....	42
3.2.2.5. Mikrobiyolojik Analizler.....	42
3.2.2.5.1. Toplam Canlı Sayımı.....	43
3.2.2.5.2. Koliform Sayımı	43
3.2.2.5.3. Küf -Maya Sayımı	43
3.2.2.5.4. Laktik Asit Bakterisi Sayımı	43
3.3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	44

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4. BULGULAR.....	45
4.1. Pullulan Film İçerisinde Eklenecek Lisozim Miktarının Saptanması....	45
4.1.1.Film İçerisine Eklenecek Lisozim Miktarının Saptanması.....	45
4.1.2. Lisozim Aktivitesinin Depolama Süresince Değişimi.....	49
4.2. Tüketime Hazır Salatalık ve Marulların Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	50
4.2.1.Askorbik Asit.....	54
4.2.2. pH ve Titrasyon Asitliği	57
4.2.3. Renk.....	60
4.2.4. Doku Sertliği.....	67
4.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	69
4.3.1. Toplam Canlı Sayısı.....	72
4.3.2. Koliform Sayısı.....	75
4.3.3. Laktik Asit Bakterisi Sayısı.....	77
4.3.4. Küf-Maya Sayısı.....	79

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

5. GENEL SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	84
EKLER.....	100
Ekler Dizini.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	145

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Yenilebilir film ve kaplamaların fonksiyonel özellikleri ve gıdaya etkileri.....	4
Şekil 1.2 Yenilebilir film ve kaplama materyali olarak kullanılan biyopolimerler.....	6
Şekil 2.1 Pullulanın kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.2. <i>Aureobasidium pullulans</i> 'ın morfolojik formları.....	17
Şekil 2.3. Farklı konsantrasyonlarda pullullan içeren polisakkarit parçaları.....	19
Şekil 2.4 Lizozim Yapısı.....	27
Şekil 3.1. Alkol ile muamele edilmiş pullulan.....	35
Şekil 3.2. Mikrobiyal polisakkarit üretim şeması.....	36
Şekil 3.3. Iceberg marul ve salatalık üretim akış şeması.....	39
Şekil 4.1. Üretim aşamasında elde edilen pullulan film örnekleri.....	46
Şekil 4.2. Pullulan filme eklenen lizozimin filmde ölçülen aktiviteleri.....	48
Şekil 4.3. Soğukta depolama ve film bileşenlerinin lizozimin aktivite değişimine etkisi.....	49
Şekil 4.4. Marul örneklerin askorbik asit değerleri değişimi.....	54
Şekil 4.5. Salatalık örneklerin askorbik asit değerleri değişimi.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 4.6. Marul örneklerin pH değerleri değişimi.....	57
Şekil 4.7. Salatalık örneklerinin pH değerleri değişimi.....	59
Şekil 4.8. Marul örneklerinin L değerleri değişimi.....	61
Şekil 4.9. Marul örneklerinin (a) değerleri değişimi.....	62
Şekil 4.10. Marul örneklerinin (b) değerleri değişimi.....	63
Şekil 4.11.Salatalık örneklerinin L değerleri değişimi.....	64
Şekil 4.12.Salatalık örneklerinin (a) değerleri değişimi.....	65
Şekil 4.13.Salatalık örneklerinin (b) değerleri değişimi.....	66
Şekil 4.14. Marul örneklerinin doku sertliği değişimleri.....	67
Şekil 4.15 Salatalık örneklerinin doku sertliği değişimleri.....	68
Şekil 4.16. Marul örneklerinin toplam canlı sayıları.....	73
Şekil 4.17.Salatalık örneklerinin toplam canlı sayıları.....	74
Şekil 4.18. Marul örneklerinin koliform sayıları.....	76
Şekil 4.19. Salatalık örneklerinin koliform sayıları.....	77
Şekil 4.20. Salatalık örneklerinin laktik asit bakterisi sayıları.....	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 1.1 Yenilebilir film ve kaplamaların avantajları ve sağlamaları gereken koşullar.....	3
Çizelge 1.2 Yenilebilir filmlerin uygulamaları ve gerekli film kalitesi.....	5
Çizelge 2.1 Pullulanın kullanım alanları.....	21
Çizelge 2.2. Pullulanın uygulamaları ve işlevleri.....	23
Çizelge 2.3. Antimikrobiyal paketlemede kullanılan antimikrobiyaller.....	24
Çizelge 2.4. Doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyaller ve kaynakları	25
Çizelge 4.1. Pullulan filme eklenen ve filmde ölçülen lizozim miktarları....	47
Çizelge 4.2 Depolama sürecinde marul örneklerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları.....	52
Çizelge 4.3 Depolama sürecinde salatalık örneklerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları.....	53
Çizelge 4.4 Depolama sürecinde marul örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	71
Çizelge 4.5 Depolama sürecinde salatalık örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	72

1. GİRİŞ

Gıda çevresiyle temasta bulunduğu zaman nem ve aroma kaybı, oksidasyon ve mikroorganizmalarla kontaminasyon gibi gıdanın kalitesini ve raf ömrünü azaltan mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel değişimler oluşur ve gıda tüketilebilme özelliğini kaybeder (Debeaufort ve ark., 1998; Koyuncu ve Savran, 2002). Soğukta, dondurarak, kurutarak muhafaza, ısı ve ışınlarla muhafaza, koruyucu maddelerle muhafaza yöntemleri gıdaları korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla geleneksel olarak kullanılan muhafaza yöntemleri iken son yıllarda yüksek voltaj elektrik alan pulsları, manyetik alan pulsları, elektrik alan ve mikrodalga uygulamaları, kısa süreli şiddetli ışık (pulsed light) uygulamaları da gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Debeaufort ve ark., 1998). Gıdaların korunması ve raf ömrünün uzatılmasına ilişkin yapılan bu çalışmalardan bir kısmı da yenilebilir film-kaplama teknolojisini kapsamaktadır. Tarımsal kökenli, doğal veya biyolojik olarak geri dönüşümlü maddelerden yapıldıkları için çevreyi kirletmeyen kaynaklardan elde edilen bu materyaller, kaplama yöntemiyle gıdanın muhafazasında kullanılmaktadır (Petersen ve ark., 1999).

Kaliteli gıda üretimine talebin artması, gıdaların muhafazası için yeni teknolojilere gereksinim duyulması, atıkların çevre kirliliği arttırdığı endişesi ve farklı kaynakları kullanarak yeni teknolojileri kullanma fikri ile yenilebilir film ve kaplamalar ile gıdaların kaplanması teknolojisi ortaya çıkmıştır (Gennadios ve ark., 1997).

Bir gıda maddesi üzerinde kaplama olarak oluşturulan veya gıda bileşenleri arasında yer alan, gıda ile birlikte tüketilebilen ince tabakalar halindeki materyale ‘yenilebilir film’ adı verilmektedir (Debeaufort ve ark., 1998). Yenilebilir film ve kaplamalar, kaplama maddesi olarak gıdanın yüzeyinde veya heterojen gıdaların bileşenleri arasında yer alan ince katmanlardır (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997).

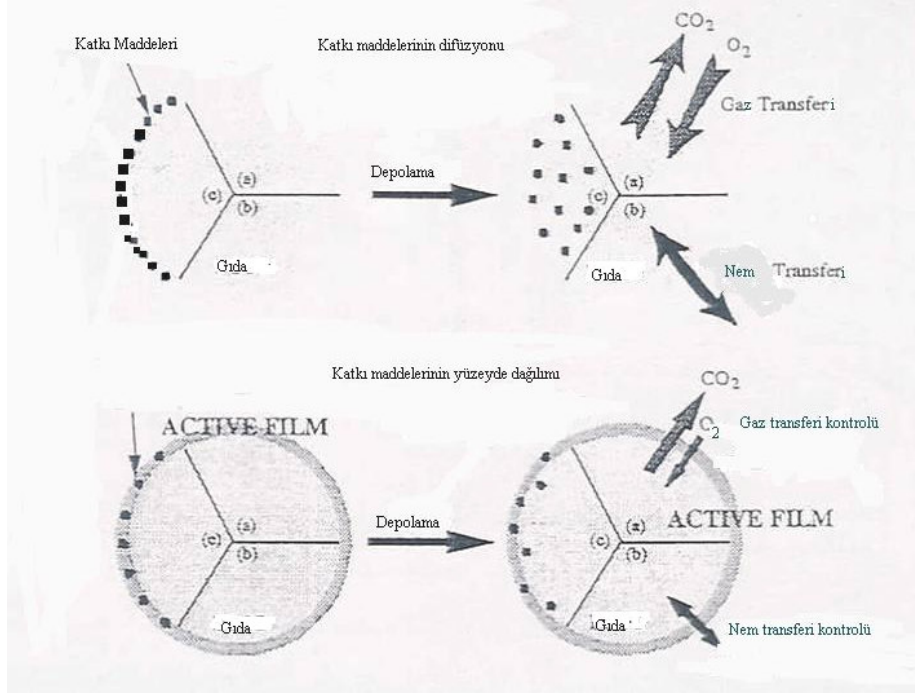
İlk olarak 12-13 yüzyılda Çin’de turunçgillerin korunması amacıyla mumla (wax) kaplanması şeklinde ortaya çıkan yenilebilir film kaplama yöntemi, yenilebilir kaplamaların gıdaların korunması amacıyla kullanılmasının da başlangıç noktası sayılabilir. İngiltere’de 16. yüzyılda nem kaybını azaltmak amacıyla, ürüne yağ ile kaplama tekniği uygulanmıştır. 20. yüzyılın başından itibaren nem kaybını önlemek amacı ile turunçgillerin parafin ve karnabua vaks ile kaplanmaları oldukça yaygınlaşmıştır. Son yıllarda bu amaçla birçok farklı kaplama maddesi çeşitli gıda ürünlerinde kullanım alanı bulmuştur (Kester ve Fennema, 1986; Guilbert ve ark., 1996). Son 20 yıldır, yenilebilir film kaplamalar konusunda 90 üzerinde bilimsel çalışma yayınlanmış, bazıları formülasyon konusunda patent almıştır (Debeaufort ve ark., 1998). Halen ticari olarak üretilen vaks, meyve ve sebzelerin nem kaybını engellemek, kollojen sosislerde mikrobiyal gelişimi yavaşlatmak amacıyla kullanılmaktadır. Başka bir kaplama materyali olan zein de ilaç ve şekerleme sanayinde kullanım alanı bulmaktadır (Kester ve Fennema, 1986; Gennadios ve ark., 1997; Guilbert ve ark., 1996; Debeaufort ve ark., 1998; Park, 2003). Bu uygulamaların dışında endüstriyel olarak kullanımı henüz çok yaygın değildir. Yenilebilir film kaplama oluşturulmasında kullanılabilecek farklı polimerler ile bunların taze, donmuş, işlenmiş ürünlerde kullanılmasına ve filmlerin geçirgenlik özelliklerinin belirlenmesine ilişkin teorik, deneysel çalışmalar halen devam etmektedir.

Yenilebilir film ve kaplamalar, tüketim sırasında olumsuz etki yaratmamak için mümkün olduğunca kokusuz, tatsız, renksiz, saydam, berrak olmalı, gıda maddesi ile uyum göstermelidir. Filmler genellikle aşınmaya dayanıklı ve esnek olmalıdır. Ayrıca farklı fonksiyonel ihtiyaçları (nem bariyeri, gaz bariyeri, su ve lipitte çözünürlük, renk ve görünüş, mekanik özellikler, vb.) karşılayabilmelidirler (çizelge 1.1). Bu fonksiyonel özellikler, filmi oluşturan polimerlerin yapısına, filmin kompozisyonuna bağlıdır. Fonksiyonel özellikleri geliştirebilmek için plastifiye edici ajanlar¹, çapraz bağlanma ajanları, antimikrobiyal ve

antioksidan ajanlar, aromalar film matriksine eklenebilir (Guibert ve Gontard, 1995; Guilbert ve ark., 1996; Miller ve Krochta, 1997; Tharanathan, 2003). Yenilebilir film ve kaplamaların fonksiyonel özellikleri ve gıdaya etkileri Şekil 1.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1 Yenilebilir Film ve Kaplamaların Avantajları ve Sağlamaları Gereken Koşullar (Kester ve Fennema, 1986; Donhowe ve Fennema, 1994; Guilbert ve Biquet, 1995; Torres ve ark., 1997; Debeaufort ve ark., 1998)

AVANTAJLAR	KOŞULLAR
Direkt olarak ürün ile birlikte tüketilebilir (ağızda	İyi yenme özellikleri
Ucuz hammadde dağılılabirlik)	çözülebilirlik ve
Küçük parça ve porsiyonlara bireysel koruma sağlayabilir	Duyusal özellikler Mekanik özellikler
Gıdanın içinde, heterojen bir ürünün bileşenlerinin arasında kullanılabilir	Raf ömrü Güvenlik
Ürünün mekanik, duysal, besleyici özelliklerini ve raf ömrünü geliştirir	Basit teknoloji Toksik etki göstermeme
*Nem, gaz. katı ve sıvı yağlar ve çözünen madde naklini geciktirir	Yönetmeliğe uygunluk İyi kapanabilme ve yüzey
teması	
*Uçucu aroma bileşiklerini muhafaza eder/tutar	Kullanım koşulları altında
*Gıdanın görünüşünü iyileştirir (düzgünlük ve parlaklık)	Fonksiyonellik
*Mekanik dayanıklılık özelliklerini geliştirir	
*İlave yapısal bütünlük verir	
*Mikrobiyal kontaminasyondan korur	
*Gıda katkı maddelerini taşır (aromalar, boya maddeleri, antioksidanlar, koruyucular)	



Şekil 1.1 Yenilebilir Film ve Kaplamaların Fonksiyonel Özellikleri ve Gıdaya Etkileri (Cuq ve ark., 1986).

Film bileşenleri, fonksiyonel özellikleri geliştirmek için eklenecek maddeler, filmin uygulanma metodu, kaplamanın amacına ve gıdanın özelliğine göre seçilmelidir (Debeaufort ve ark., 1998). Örneğin seçici gaz geçirgenliğine sahip yenilebilir film ve kaplamalar, kolayca okside olabilen gıdaların acılık ve vitamin kaybını azaltmak, meyve ve sebzelerde modifiye atmosfer yaratmak, depolama süresini uzatmak amacıyla kullanılabilirler (Cuq ve ark., 1986).

¹plastifiye ediciler: polimerin özelliklerini iyileştirme amacıyla, polimere katılan metal tuzları.

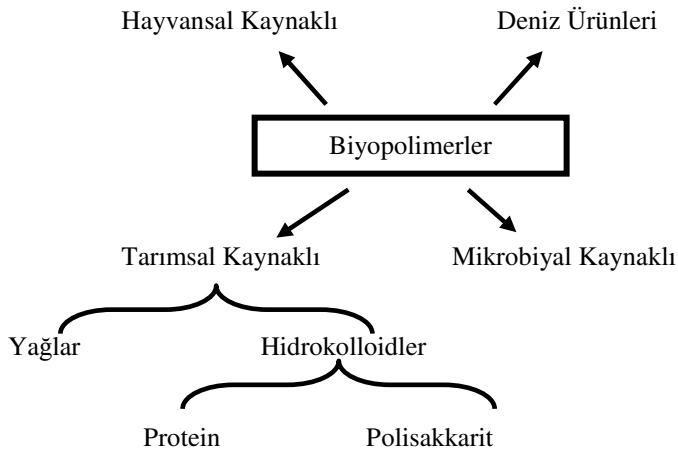
Çizelge 1.2. Yenilebilir Filmlerin Uygulamaları ve Gerekli Film Kalitesi (Guilbert, 1986).

AMAÇ	GEREKLİ FİLM KALİTESİ	UYGULAMALARI
Nem ve oksijene karşı bireysel koruma	İyi kaplama özelliği, düşük su buhar ve oksijen geçirgenliği (antioksidan ilavesi)	Taze balık, peynir, et ve ürünleri, orta nemli gıdalar (ONG), kurutulmuş, gıdalar, fındıklar, kurutulmuş fındık ürünleri, çerezler, cipsler, şekerlemeler
Harici mikrobiyal bulaşmanın önlenmesi	Antimikrobiyal ajan ilavesi	Orta nemli gıdalar
Heterojen bir gıdanın içindeki nem dengesinin kontrolü	İyi su buharı bariyeri	Fabrikasyon (çörekler pizzalar, kekler) veya dondurulmuş gıdalar, sandviçler
Heterojen bir gıdanın içindeki çözelti, renk ve aroma migrasyonunun kontrolü	İyi su ve çözelti bariyeri	Fabrikasyon (çörekler pizzalar, kekler) veya dondurulmuş gıdalar, sandviçler
Gıdayı tuzlu su geçişinden izole etmek	İyi su ve çözelti bariyeri	Tuzlu suda dondurulmuş, gıdalar (karides, yengeç)
Mekanik dayanıklılığı geliştirmek (damlama kayıplarını azaltmak, kırılma ve parçalanmayı önlemek)	İyi adhezyon ve kohezyon	Yerfıstığı, karides, yengeç, çerezler
Yapısal bütünlüğü sağlamak, gıdanın yapısını takviye etmek	İyi adhezyon ve kohezyon	Et, balık, kemiksiz et, dondurularak kurutulmuş veya kurutulmuş gıdalar
Kızartma sırasında patenin yapışmasını sağlamak	Yapışma potansiyeli	Dondurulmuş gıdalar (balık filetosu, hamburger, halka soğan)
Pateye nem migrasyonunu sınırlamak	Düşük su buharı geçirgenliği	Dondurulmuş gıdalar (balık filetosu, hamburger, halka soğan)
Bir torba veya bardak içinde toplanmış, olan bir gıdanın parçalarını korumak	Yapışkan olmayan, düşük su buharı geçirgenliği	Peynir veya peynir küpleri, ONG meyveler; dondurulmuş gıdalar, dondurma küpleri
Yapışkan ve yağlı olmayan bir yüzey sağlamak, toplanmayı önlemek	Yapışkan olmayan	Peynir küpleri kurutulmuş meyveler, şekerlemeler, dondurulmuş gıdalar (örneğin hamburgerlerin arasına konulan kaygan yaprakların yerine)
Gıdanın yüzeyini parlatarak albeniyi arttırmak	Pürüzsüz, parlak	Fırıncılık ürünleri (kremalar ve parlaticılar), şekerlemeler, fındıklar, ONG meyveler, çerezler
Gıdaya renk, aroma, tat vermek veya arttırmak; dekoratif etki	Boya, aroma, lezzet verici ilavesi	Çeşitli gıdalar
Aroma kaybını önlemek	İyi bariyer özelliği	Meyveler, kurutulmuş gıdalar
Ölçülmüş porsiyonlar içinde tutup sonradan gıda karışımlarına dağıtmak	Kapsül oluşturabilme	Zenginleştirici besinler, gıda katkı maddeleri, enzim ve mayalı gıda konsantreleri, fırıncılık endüstrisi için katı ve sıvı yağlar
Ölçülmüş porsiyonlar içinde tutup sonradan su veya sıcak gıdalar içinde çözmek	Suda çözünebilen bir kapsül oluşturabilme	Hazır çorbalar, instant çay veya kahve, toz içecek karışımları, lezzet vericiler, tatlandırıcılar

Bir karışımın nem içeriğinin veya heterojen bir gıdanın bileşenlerinin su aktivitelerinin gıdanın mikrobiyolojik ve kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin kontrolü için nem bariyeri özelliklerine sahip yenilebilir film ve kaplamalar kullanılabilir. Böylece gıda ve çevre atmosfer arasındaki nem transferi hızı, ürünün tamamı bir yenilebilir film kaplama ile örtülerek azaltılabilir (Çizelge 1.2) (Kester ve Fennema, 1986; Üstün, 1997). Yenilebilir film kaplamaların fonksiyonel özelliklerinin incelendiği çalışmalar da kaynakçada mevcuttur (Miller ve Krochta, 1997; Kim ve Ustünol, 2001; Teerakarn ve ark., 2002; Hong ve Krochta, 2003; Lin ve Krochta, 2003).

Film kaplamaların oluşturulmasında basit birleşme, kompleks birleşme, jelleşerek katılaşma mekanizmaları kullanılmaktadır (Kester ve Fennema, 1986; Guilbert ve ark., 1996). Film kaplamaların gıdalara uygulanmasında ise daldırma, püskürtme, dökme (casting) metodlarından yararlanılmaktadır.

Yenilebilir film ve kaplamalar, tarımsal kökenli, doğal ve biyolojik olarak geri dönüşümlü biyopolimerden olmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Yenilebilir Film Ve Kaplama Materyali Olarak Kullanılan Biyopolimerler (Tharanathan, 2003).

Yenilebilir film oluşturulmasında kullanılan polimerler temel olarak 3 gruba ayrılmaktadırlar (Koyuncu ve Savran, 2002).

Proteinler bazı hammaddeler, zein, kazein, jelatin, soy protein, buğday gluteni, peynir altı suyu proteini izolatıdır. Protein polimerlerden oluşturulan filmler oksijen ve karbondioksit'e karşı iyi bariyer özelliği gösterirler. Bu filmlerin, kaplanmış gıdaların besin değerini arttırdıklarından nohut, bezelye, fındık ve böğürtlen benzeri gıdaların küçük porsiyonlar halinde bireysel ambalajlanmasında kullanışlı olabileceği belirtilmektedir (Üstün, 1997). Protein bazlı film ve kaplamalar kollajen, jelatin, mısır zeini, buğday gluteni, soya, proteini izolatı, peynir altı suyu proteini izolatı, kazein gibi hammaddelerden elde edilmektedirler. Protein bazlı polimerlerden elde edilen yenilebilir film kaplamalara ilişkin çalışmalar kaynakçada yer almaktadır (Lindstrom ve ark., 1992; Gennadios ve ark., 1994; Torres, 1994; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997; Krochta, 1997; Lai ve Padua, 1997; Padgett ve ark., 1998; Padgett ve ark., 2000; Dawson ve ark., 2000; Shukla ve Cheryan, 2001). Bu hammaddelerden kollajenin et ürünlerinde zein ise ilaç sanayinde endüstriyel olarak kullanılabilir.

Polisakkarit bazlı hammaddeler; nişasta, selüloz, alginat, pektin, kitin/kitozan ve mikrobiyal polisakkaritlerdir. Polisakkaritler hidrofilik özellik gösterdiklerinden, nem bariyeri özellikleri iyi değildir, iyi gaz bariyeridirler ve mekanik, görsel özellikleri gelişmiştir (Kester ve Fennema, 1986; Guilbert ve ark., 1996). Kolayca elde edilmeleri, toksik olmamaları nedeniyle film kaplama için kullanılacak materyaller arasında önemli yere sahiptirler. (Nisperos-Carriedo, 1994). Polisakkarit bazlı polimerlerden nişasta, selüloz, alginat, pektinin yenilebilir film kaplama olarak kullanılmasıyla ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır (Ganz, 1969; Torres ve ark., 1985; Kester ve Fennema, 1986; Rico-Pena ve Torres, 1990; Nisperos-Carriedo, 1994; Guilbert, 1995; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997; Torres ve ark., 1997; Gennadios, 1997; Lai ve Padua, 1997; Quintavalla ve Vicini, 2002; Kim ve ark., 2004 a; Phan ve ark.,

2005). Polisakkarit bazlı polimerlerden kitin antimikrobiyal özelliği ile mikrobiyal polisakkaritlerden pullulan da atıkların değerlendirilmesi ve bunların yenilebilir film kaplama oluşturulmasına elverişliliği nedenleriyle dikkat çekmektedir.

Film yapımında kullanılan diğer polimer grubu mumlar(wax), gliserin ve türevlerinden oluşan lipidlerdir (Koyuncu ve Savran, 2002). Lipid bazlı film ve kaplamalar, vaks ve yağlardan hazırlanırlar. Düşük polariteli olmaları nedeniyle lipid kaplamaların asıl fonksiyonları nem transferini engellemektir. Bunun yanı sıra heterojen gıdalarda koruyucu ara yüzey olarak aşınmayı önlemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Yenilebilir film ve kaplama maddesi olarak kullanılan lipid bazlı materyaller, vakslar (parafin vaks, karnabua vaks, bees vaks, kandelila vaks) ve asetogliseritlerdir. Lipid bazlı film kaplamalara ilişkin çalışmalar farklı kaynaklarda yer almaktadır (Kester ve Fennema, 1986; Lindstrom ve ark., 1992; Guilbert ve Biquet, 1995; Gennadios, 1997).

Temel 3 grubun dışında, polisakkarit, protein ve lipidlerin farklı formülasyonlarla bir arada kullanıldıkları birleşik (kompozit) filmler de oluşturulabilmektedirler (Kester ve Fennema, 1986; Tharanathan, 2003; Donhowe ve Fennema, 1994). Kompozit yenilebilir film ve kaplamalar, iki veya daha çok film materyalinin bir arada tek sistemde kullanılması ile oluşturulurlar. Bu uygulamanın amacı farklı film bileşenlerinin en iyi özelliklerini bir tek film-kaplamada birleştirilmesidir (Lindstrom ve ark., 1992; Üstün,1997).

Yenilebilir film kaplamaların gıda sanayinde taze ürünlerin raf ömrünün ve kalitesinin arttırılmasında kullanılması amacıyla çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmı da dayanma süreleri diğer gıdalara göre az olan, minimum işlem görmüş tüketime hazır gıdalara yenilebilir film kaplamaların uygulanmasına ilişkindir. Duyusal ve mikrobiyolojik olarak taze gıdalara yakın özellikler gösteren, minimum işlem görmüş tüketime hazır gıdalar, yaklaşık 30 yıl önce hazır yemek sektöründe kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda toplu beslenmenin

yaygınlaştığı ortamlarda zamandan kazanmak amacıyla soyulmuş ve dilimlenmiş sebzelerden hazırlanan salataların tüketimi bu tip gıdalara olan ilgiyi arttırmıştır. Tüketiciden talep gören gıda türleri ise çeşitli sebzeler; havuç, marul, salatalık, karışık salata çeşitleri, pırasa, kereviz, çeşitli otlardır. (Nguyen and Carlin, 1994; McKellar ve ark., 2004; Francis, ve ark., 1999; Baysal ve ark., 2000; Riva ve ark., 2001; Hassenberg ve Idler, 2005).

Tüketici talepleri doğrultusunda ürün kalitesi ve tazeliğini sağlayabilmek amacıyla gıda ticaretinde minimum işlem görmüş ürünlerin önemi hızla artmaktadır. Bu ürünlerin raf ömrü, işlem görmemiş ürünlere oranla daha kısadır. Bu tip gıdaların kalitesinin görünüş, doku, duyuşsal özellikler ile mikrobiyal bulaşmayı da içine alan birçok özellik etki etmektedir. Tüketim sırasında tüketici sadece dış görünüm ve doku özelliklerini gözlemleyebileceğinden, üretici minimum işlem görmüş tüketime hazır gıda için düşük mikrobiyal yükü garanti etmek zorundadır (Hassenberg and Idler, 2005).

Gıdalarda bozulmanın başlıca sebebi yüzeyde gelişen mikroorganizmalardır. Minimum işlem görmüş tüketime hazır meyve ve sebzelerde ayrıca doğranan hammadde yüzeyinde metabolik aktivitenin artması ile oksidatif reaksiyonlar, etilen üretimi artmakta ve solunum da hızlanmaktadır (Riva ve ark., 2001). Antioksidan uygulaması, modifiye atmosferde paketlenme, dondurarak saklama, klorlu su ve ozon uygulaması, farklı ışın uygulamaları tüketime hazır sebzelerin mikrobiyal yükünü azaltmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan temel koruma yöntemleridir (Han ve ark., 2004). Aktif paketlenme teknolojisinin bir şekli olarak tanımlanan antimikrobiyal paketlenme sistemlerinde antimikrobiyal madde ambalaj materyali yardımıyla gıdaya taşınmaktadır. Antimikrobiyal madde içeren ambalajların gıda yüzeyine teması, bozulmanın başladığı nokta olan yüzeyde mikroorganizma gelişimini önlemektedir. Yapılan çalışmalarda gıda yüzeyine kaplanan filme antimikrobiyal madde eklenmesinin alternatif ve ekonomik bir

muhafaza yöntemi olduğu belirtilmektedir. Bu uygulamalarda filmde kullanılan antimikrobiyal, filmin geçirgenlik özelliği ile gıda yüzeyine daha yavaş şekilde difüze olmakta böylece yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal kullanılmamaktadır. Filmden gıdaya difüze olan antimikrobiyal madde, mikrobiyal popülasyonun üreme hızını azaltmakta ve hedef mikroorganizmanın lag fazı uzamaktadır (Vermeiren ve ark., 1999; Appendini ve Hotckiss, 2002; Quintavalla and Vicini 2002; Cha ve Chinnan, 2004). Yenilebilir film ve kaplamaların minimum işlem görmüş tüketime hazır ürünlerin kalite kriterleri ve raf ömrü üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar da hızla artmaktadır.

Gıdaların korunmasında kullanılan antimikrobiyaller ise ‘preservatif’-‘koruyucu’ olarak da isimlendirilmekte ve elde edildikleri kaynaklara göre ‘kimyasal’ veya ‘doğal’ antimikrobiyaller olarak ikiye ayrılmaktadır (Davidson ve Harrison, 2002). Gıdaların muhafazasında farklı organik veya inorganik kimyasallar; asitler, metaller antimikrobiyal madde olarak kullanılabilir (Han, 2001; Appendini ve Hotckiss, 2002). Ancak giderek artan sağlık endişeleri nedeniyle günümüzde kimyasal katkı maddeleri kullanılarak üretilen gıdalar için tüketici talebi azalmış, son yıllarda doğal antimikrobiyallerin paketleme sistemi içerisinde kullanımının geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır (Scannel ve ark., 2000; Dufour ve ark., 2003; Mecitoğlu-Güçbilmez, 2005). Gıda muhafazasında biyomoleküllerin kullanılmasına biyomuhafaza (biopreservation), bu amaçla kullanılan aktif moleküllere de biyoprezervatif adı verilmektedir. Organik asitler, enzimler, bakteriosinler, antimikrobiyal paketleme sisteminde kullanılan biyopreservatiflerdir (Padgett ve ark., 1998; Han, 2001; Appendini ve Hotckiss, 2002). Antimikrobiyal paketleme sisteminin özelliklerini sistemin oluşturulduğu koşullar, antimikrobiyalın aktivitesi, antimikrobiyalın ve gıda maddelerinin özellikleri ve saklama koşulları etkilemektedir. Bu kriterler antimikrobiyal ajanın eklendiği ortamın film kaplama olması durumunda da geçerlidir (Han, 2000). Yapılan farklı

Çalışmalarda antimikrobiyal içeren yenilebilir filmlerin gıda üzerine etkileri araştırılmıştır (Torres ve Karel, 1985; Padgett ve ark., 1998).

Bu tez çalışmasında, doğal bir antimikrobiyal olan lizozim içeren yenilebilir pullunanın kaplama materyali olarak kullanılması ve hazır salata ürünlerinin raf ömürleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Son yıllarda yenilebilir filmlerin fonksiyonel özellikleri, uygulaması, formulasyonunu konu alan çalışmaların çok çeşitli olması nedeniyle, bu bölümde tez çalışması ile ilgili olan yenilebilir filmlerin gıdalara uygulaması ile konusundaki çalışmalardan söz edilmiştir.

Yenilebilir film kaplamalarla ilgili ilk çalışmalar, film kaplamanın özelliklerini geliştirmeye yönelik iken son yıllarda film kaplamaların gıda maddelerine uygulanması ve gıdaların raf ömrüne etkisinin incelendiği deneysel çalışmalar ağırlık kazanmıştır. Bu çalışmalarda film kaplama uygulanan gıda maddesinin depolama süresince kalite kriterleri değişimi ve film kaplama maddesinin gıdaya uygunluğu incelenmiştir.

Shellac ve mum kökenli kaplama uygulanan golden delicious elmalarında solunumun ve etilen üretiminin yavaşladığı, 0°C'da 6 ay depolamadan sonra, oda sıcaklığına çıkarıldığında solunum ve etilen üretim hızının kontrol örneklerine oranla daha yavaş olduğu gözlenmiştir (Doğaner, 1997).

Yenilebilir kaplama uygulanan kiraz, mango ve papaya meyvelerinde kaplama uygulaması ile meyvelerin rengini önemli oranda koruduğu belirlenmiştir (Koyuncu ve Savran, 2002).

Azak (1994) tarafından yapılan çalışmada, fungusid içeren mum ile kaplanan washington portakalı 5°C'da %85 nemli ortamda 3 ay, klementin tipi mandalinler 1,5 ay özellikleri sabit kalarak saklanabilmektedir.

Park (1999) tarafından yapılan çalışmada, domates yüzeyine uygulanan zein kaplamanın, depolama süresinde ağırlık kaybını azalttığı ve renk değişimini geciktirdiği saptanmıştır.

Karnauba mum emülsiyonu, biberlerde depolama süresini uzatmış, buruşmayı, çürümeyi ve solunumu azalmıştır (Koyuncu ve Savran, 2002).

Dondurmadan külaha nem geçişinin azaltılması amacıyla yapılan çalışmada, çikolata-külâh arasına yerleştirilen MC-palmitik asit karışımı, -23°C’da 10 hafta boyunca külâhın gevrekliğini koruduğu belirlenmiştir (Rico-Peña ve Torres, 1990).

Yapılan farklı çalışmalarda yenilebilir film kaplamaların gıda maddesi üzerindeki mikrobiyolojik etkileri de araştırılmıştır.

Sorbik asit içeren protein izolat film ile kaplanan sosislerde *L.monocytogenes* ve *E.coli*’ de 21 günlük 4°C’deki depolamada azalma görülmüştür (Cağrı ve ark., 2002).

Organik asit içeren alginat ile kaplanan sığır karkaslarında *L.monocytogenes*, *E.coli* ve *Salmonella Typhymurium* gelişiminde sırasıyla 1.80, 2.11, 0.74 log azalma olduğu belirtilmektedir (Quintavalla ve Vicini, 2002).

Polisakkarit biyopolimerden kitozanın iyi bir nem bariyeri olduğu ve biber, salatalık, domates, elma ve armutta su kaybını, solunumu ve fungal enfeksiyonu azalttığı, kitozan uygulaması ile bitkilerde patojenlere karşı sentezlenen bir enzim olan chitinase enziminin aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Debeaufort ve ark., 1998; Baldwin, 1994; Peng ve ark., 2005). Kitozan ile kaplanan marul örneklerinde küf gelişimi 7°C’daki depolamanın ilk 4 gününde kontrol örneklerine göre

2log. birim az iken, 4 günden sonra antimikrobial etki kaybolmuştur (Devlieghere ve ark., 2004).

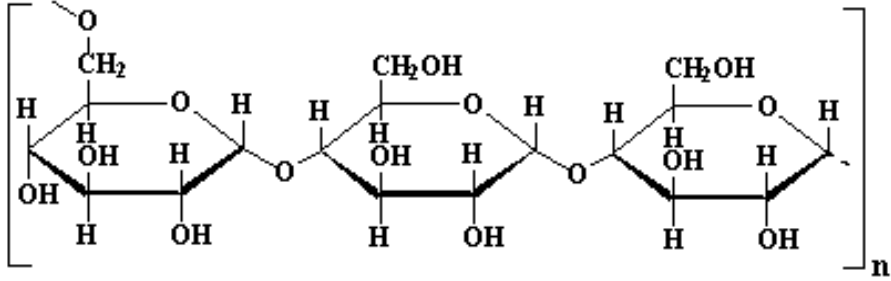
Yenilebilir film kaplama elde edilen formüllerin bazıları da patent almıştır. D.S. Bryan 1972 yılında pektin ve gum kullanarak turuncgillerin doğal tat ve rengini koruduğunu, J.M. Krochta (1997) protein ve hidrofobik materyallerden yapılan kompozit filmin elma dilimlerinde nem kaybını önlediğini belirleyerek, daha sonra da yenilebilir filmleri kullanarak tüketime hazır minimum işlem görmüş meyve ve sebzelerde su kaybı ile oluşan kalite kaybını azaltarak patent almışlardır. Meyveler ve minimum işlem görmüş meyveler için FDA tarafından onaylanan ticari yenilebilir kaplamalar kaynakçada bulunmaktadır (Olivas ve Canovas, 2005).

2.2. Mikrobiyal Polisakkaritler

Daha önce de söz edildiği gibi yenilebilir film ve kaplamalar elde edildikleri kaynaklara göre polisakkarit, protein ve lipidler olarak 3 temel gruba ayrılmakta, polisakkarit bazlı yenilebilir film kaplamalardan mikrobiyal polisakkaritler de pullulan, levan ve elsinan hammaddelerinden oluşmaktadır. Konu ile ilgili yapılan çalışmaların çok geniş olması nedeniyle bu bölümde pullulan ile yapılan çalışmalardan söz edilmiştir.

Polimorfik bir küf olan *Auerobasidium pullulans* tarafından üretilen pullulan biyopolimeri, doğal-mikrobiyal kaynaklı polisakkarit bazlı biyopolimerler sınıfında yer almaktadır. (Youssef ve ark., 1999; Trahantan, 2003; Uçan, 2004). Kimyasal yapı olarak (Şekil 2.1) başlıca α -1-6 glikozidik bağlarıyla bağlanmış maltotrioz ünitelerinden oluşan bir glukandır. Literatürde ise pullulan yapısında maltotrioz ünitelerinin yanı sıra az sayıda maltotetroaz ünitelerinin de bulunduğu belirtilmektedir. Pullulanın ortalama molekül ağırlığı 5.10^3 - 2.10^5 Da arasında değişmektedir. Kullanılan ortam ve inkübasyon koşullarına bağlı

olarak molekül ağırlığı bakımından çok büyük farklılık oluşabilmektedir (Uçan, 2004; Web_1).



Şekil 2.1. Pullulanın kimyasal yapısı

Pullulanın bazı özellikleri şöyledir:

Çözünürlük: Pullulan biyopolimeri, çapraz bağlı maltotrioz yapısı ile suda çözünebilme özelliği gösterir.

Viskozite Stabilitesi: Yüksek moleküler ağırlık ve konsantrasyonlarda çözeltinin viskozite değeri artmaktadır.

Yapışma Gücü: Kağıt, tahta ve metallere çok iyi bir şekilde yapışmasını sağlar.

Film Oluşturabilme Özelliği: Su ilave edildikten sonra basınç altında ısıtılırsa, yenilebilir film ve kaplamaların üretiminde kullanılabilen; transparan, yağa direçli, oksijen geçirmeyen, parlak ve elastik ürünlere dönüştürebilmektedir.

Kaplama Maddesi Oluşturabilme: Gıda maddesinin pullulan çözeltisine daldırılıp kurutulması sonucu, gıda üzerinde parlak bir yüzey oluşur ve neme karşı dayanım artar. Kurutulmuş balık ve kabuklular gibi aromanın yanında yüzey parlaklığının da önemli olduğu gıdaların

işlenmesinde yararlı olabilir. Toz çorbalar, kahve, köri ve çeşitli baharatları içeren liyofilize gıdaların kaplanması pullulanın kullanılmasıyla aroma ve görünüş uzun süre korunabilir.

Düşük Oksijen Geçirgenliği: Pullulan filmlerin düşük oksijen geçirgenliği, gıda maddelerinde oksidasyonu önler, aroma ve tazeliğin korunmasını sağlar.

Nişasta Yerine Kullanılabilme: Vücutta düşük sindirilme özelliği, pullulanın düşük kalorili gıda formülasyonlarında kullanılmasına olanak sağlar (Uçan, 2004).

Pullulan biyopolimeri, yağa karşı dirençli, sıcaktan etkilenmeyen oksijen geçirmeyen yapı özellikleri göstermektedir. Bu özelliklerinin ile yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılmaya uygundur; ekonomik önem taşımaktadır.

Halen mikrokapsüle ajan olarak, ilaç sanayinde tabletler için kıvam arttırıcı, stabilizatör ve oksidasyonu önleyici ajan olarak ve kozmetik sanayinde emülsiyonlarda yaygın olarak kullanılması gibi birçok önemli kullanım alanı bulunmaktadır (Lazaridou ve ark., 2003; Uçan, 2004).

Pullulan üretiminde genellikle *Aureobasidium pullulans* adı verilen küf kullanılmaktadır. *A. pullulans*'ın sahip olduğu morfolojik form, pullulan üretimindeki önemli faktörlerden biridir. *A. pullulans*, hife, blastospor, klamidospor ve şişmiş hücreleri içeren bir yaşam döngüsüne sahiptir (Şekil 2.2). Buna göre klamidosporlar pullulanın sentezlenmesinden sorumludur. Şişmiş hücreler ise diğer polisakkaritlerin üretilmesinden sorumludur. Ancak hücre kültür koşullarına bağlı olarak klamidospora dönüşürse, polisakkaritlerin pullulana dönüşmesi mümkün olabilmektedir.

Aureobasidium pullulans'ın ürettiği hücre dışı polisakkaritlerin kimyasal yapıları kullanılan substrata ve mikroorganizma suşuna göre

değişmektedir. Mikroorganizmanın morfolojisi pH, azot kaynağı ve konsantrasyonu, sıcaklık, çözünmüş oksijen gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu nedenle hangi morfolojinin ve hangi koşulların pullulan üretiminde etkin olduğu ile ilgili olarak pek çok çalışma yapılmıştır.



Şekil 2.2. *Aureobasidium pullulans*'ın morfolojik formları (Web_2).

Göksungur ve arkadaşları (2005), prosesin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli bir takım istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir arada kullanıldığı bir yöntem olan cevap yüzey yöntemi kullanılarak, karıştırılmalı tank tipi biyoreaktörde fermentasyon parametrelerinin pullulan biyosentezi üzerine etkilerini inceleyerek optimize etmişlerdir. Denemeler sonucunda fermentasyon için optimum koşulların, başlangıç şeker konsantrasyonu için 51,4 g/l, havalandırma hızı için 2,36 vvm ve karıştırma hızı için 345,3 rpm (olan modelde optimum koşullar) olduğu belirlenmiştir. Bu optimum koşullarda

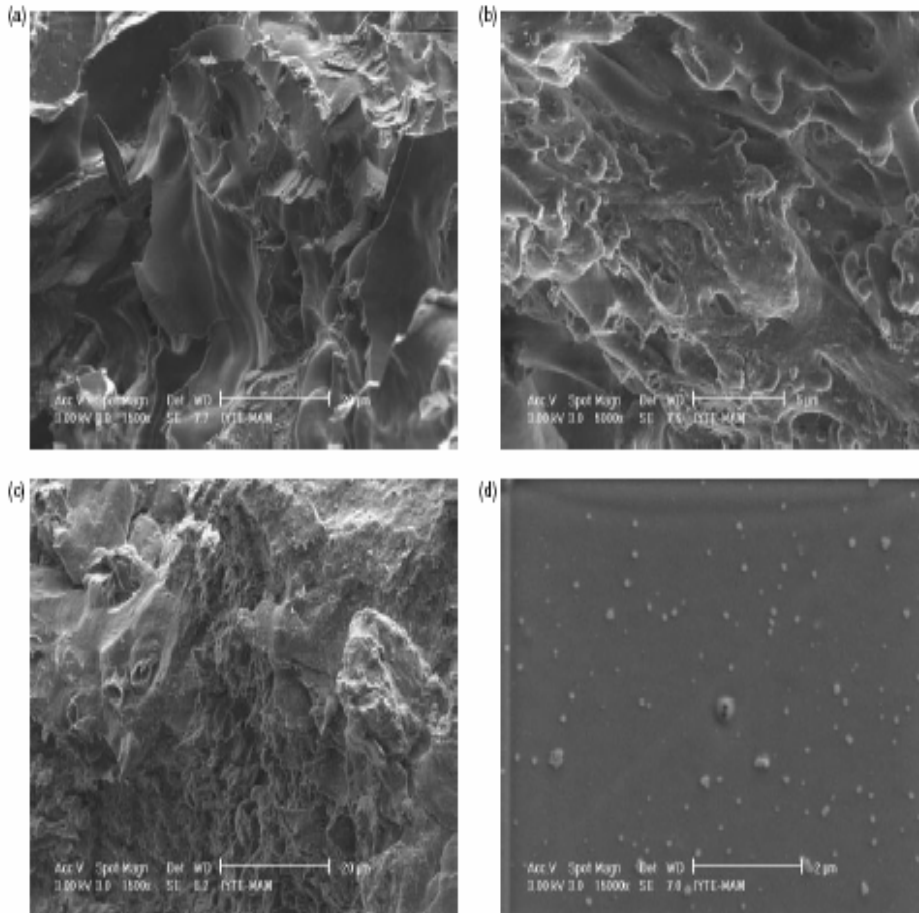
gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda maksimum olarak 17,2 g/l konsantrasyonunda pullulan elde edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda pullulan içeren polisakkaritlerin ve pullulan filminin morfolojik formlarına ait elektron mikroskobu ile çekilmiş fotoğraflar şekil 2.3'te verilmiştir.

Üretim ortamı kompozisyonunu ve üretim yöntemlerine ilişkin çeşitli çalışmalar da kaynakçada yer almaktadır. Lazaridou ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2002-a), pullulan üretiminde kullanılan melas, ön işlemden geçirerek elde edilen pullulan veriminin artmasını sağlamışlardır.

Youssef ve arkadaşları (1999), pullulan üretiminde azot kaynaklarının kullanımı ile ilgili araştırma yapmışlardır. Göksungur ve arkadaşları (2003), sentetik ortamdan elde ettikleri pullulan oranını %85,3, pancar melasından elde ettikleri pullulan oranını %48,2 olarak belirlenmiştir.

Kachhawa ve arkadaşları (2003) tarafından yapılan çalışmada, etil/etilmetilketon oranının 60:40 olduğu kombinasyonda elde edilen pullulanın melanin içermediği ve endüstriyel kullanım için uygun olduğu saptanmıştır.

Pullulan, genellikle hücrelerin ayrılmasından sonra fermentasyon ortamından, etanol ya da metanol kullanılarak çöktürmeyle geri kazanılmaktadır. Bununla beraber, çökelen maddedeki pullulanın saflığı fermentasyon için kullanılan substrata göre değişebilmektedir. Pullulan üretiminde ikinci bir ürün olarak melanin pigmenti oluşumuna rastlanmaktadır. Bu nedenle pullulanın renginin aktif karbonla açılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çöktürülen pullulanın beyaz katı şeklinde olması gıda ve ilaç endüstrisinde ticari olarak kullanılabilmesi için önemlidir (Uçan, 2004).



Şekil 2.3. Farklı konsantrasyonlarda pullullan içeren polisakkarit parçaları

- (a) % 72,9 pullulan içeren polisakkarit parçası
- (b) % 66.1 pullulan içeren polisakkarit parçası
- (c) % 53.3 pullulan içeren polisakkarit parçası
- (d) % 2.5 pullulan içeren film (Göksungur ve ark., 2005).

Fermentasyondan sonra elde edilen ham pullulanın ticari olarak kullanılabilmesi için çeşitli alt akım işlemlerinden geçirilerek saflaştırılması gereklidir. Bunun için pullulanın kullanılacağı alana göre farklı işlemler uygulanmaktadır (Uçan, 2004).

Pullulanın gıda sanayinde kullanılabilmesi için, fermentasyon sonrasında elde edilen pullulan aktif kömür ile muamele edilerek renksiz hale getirilir ve konsantre edilir. Ardından püskürtmeli kurutmayla ya da dondurarak kurutulur ve toz hale getirilir. İlaç endüstrisinde ve film yapımında kullanılan pullulan ise benzer bir yöntemle muamele edilir. Endüstriyel yapıştırıcı, dispersant ve koagulant için ise ham pullulan konsantre edilir, kurutulur ve toz haline getirilir (Kachhawa et al, 2003).

Polisakkaritlerdeki pullulan içeriğinin belirlenmesi genellikle elde edilen polisakkaritlerin pullulanaz ile hidrolizinin ardından elde edilen maltotriozun kromatografi, spektrofotometri veya diğer metotlar kullanılarak saptanması ve hesaplanmasıyla yapılmaktadır (Uçan, 2004).

Pullulan, Hayashibara Biochemical Co. (Japonya) tarafından ilk olarak 1976 yılında ticari olarak üretilmeye başlanmıştır. Sulu çözeltilerinden şekillendirilerek oluşturulan pullulan filmler berrak, kokusuz, tatsızdırlar ve iyi oksijen bariyeridirler. Mekanik değişimlere uyum gösterebilirler.

Kurutulmuş pullulan tozu beyazdır ve soğuk veya sıcak suda kolayca çözünebilir. Pullulan filmler, 5-60 µm kalınlığında, renksiz, saydamdır. Mekanik özellikleri iyidir ve oksijen geçirgenlikleri azdır. Bu filmler boya ile renlendirilip, aroma eklenerek, gıdaya albeni kazandırmak amacıyla kullanılabilirler. Günümüzde pullulan ilaç sektöründe oral ürünlerde kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca kağıt endüstrisinde, kozmetik emülsiyonlarında, aroma ve baharatlar için mikrokapsüle ajan olarak, gübrelerde suda çözünmeyi arttırıcı ajan

olarak kullanılmaktadır (Leathers, 2003). Çizelge 2.1’da pullulanın kullanım alanları gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Pullulanın Kullanım Alanları (Lazaridou ve ark., 2003; Leathers, 2003; Uçan, 2004).

Sanayi Kolu-Kullanım Alanı
Gıda Sanayi
Kaplama Maddesi
Yenilebilir Film Üretimi
Formülasyonlarda nişasta yerine
Aroma ve baharatlar için mikroenkapsüle ajan
İlaç Sanayi
İnfüzyon sıvısı
İlaçlar için kaplama maddesi
Tabletler için kıvam arttırıcı ajan
Tabletler için oksidasyonu önleyici ajan
Kozmetik Sanayi
Kozmetik emülsiyonları
Diğer
Dielektrik materyali
Yapıştırıcı
Naylon elastikiyetinde konstrüksiyon materyal lifi
Gübelerde suda çözünmeyi arttırıcı madde

Pullulanın üretim yöntemleri yanında pullulan filmin gıdalara çeşitli uygulamaları üzerine de araştırmalar yapılmıştır.

Pullulan/sorbitol/sakkaroz yağ asidi esterleri bileşenlerinin farklı kombinasyonları ile kaplanan çileklerde, kaplama iç atmosfer kompozisyonunu değiştirmiş ve kaplanan örneklerin dayanımları artmıştır. 4 günlük depolamada, kaplanan örneklerin L, a, b renk parametreleri kontrol örneklerine oranla daha düşüktür, yumuşama ve

ağırlık kaybı kontrol örneklerinden azdır. Kaplanan örneklerin iç atmosferinde, kontrol örneklerine oranla CO₂ daha fazla iken, O₂ daha azdır. Kaplanan örneklerde nem kaybı %11 iken, kontrol örneklerinde bu oran % 15'e kadar çıkmıştır. Klimakterik bir meyve olmayan çileklerde, pullulan kaplamanın solunum hızını yavaşlattığı dolayısıyla modifiye atmosfer ortamı yarattığı ortaya çıkmıştır (Diab ve ark., 2001).

Baysal ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan çalışmada lizozim ve EDTA içeren pullulan film ile kaplanan ve soğukta (5°C) 3 hafta depolanan orta nemli domateslerde mikrobiyal yük, renk değişimi ve diğer kimyasal parametreler incelenmiş, pullulan kaplamanın orta nemli domateslerin raf ömrü ve diğer kalite kriterleri açısından olumlu bir etki yarattığı belirlenmiştir.

Soya protein izolatu, pullulandan oluşturulan kaplama kivi meyvesinin yumuşama oranını yaklaşık 2/3 oranında azaltarak %29'a indirmiştir (Xu ve ark., 2001).

Soya protein izolatu ve pullulandan oluşturulan kompozit filmin geçirgenlik özellikleri incelenerek, matematik modelle oluşturulan formülün kivi meyvesinin muhafazasında kullanılabileceği belirtilmektedir (Xu ve ark., 2002).

Pullulan filmin mekanik özellikleri üzerine yapılan farklı çalışmalarda, plastikleştiricilerin polimer zinciri üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, molekül karakteristiğinin pullulan filmin mekanik özellikleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Lazaridou ve ark., 2003). Kitozan-pullulan kompozit filmlerde ise plastikleştiricinin mekanik özelliklere etkisi incelenmiştir (Lazaridou ve ark., 2002-b).

Diğer mikrobiyal polisakkaritlerden levan ve elsinanın da düşük oksijen geçirgenliklerine bağlı olarak gıda maddelerinin ve eczacılık ürünlerinin kaplanmasında kullanılabilecekleri belirtilmiştir (Krochta ve

De Mulder-Johnston, 1997). Pullulanın gıdalarda uygulama alanları ve işlevleri çizelge 2.2’da verilmiştir.

Çizelge 2.2. Pullulanın uygulamaları ve işlevleri (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997).

Materyal ve Uygulaması	Kaplamanın İşlevi
Pullulan	
Yerfistikları, eriştelere	Oksijen bariyeri
Kurutulmuş şekerlemeler	Oksijen bariyeri
Sardalyalar ve et ürünleri	Oksijen bariyeri
Kurutulmuş sebzeler	Mekanik zararlanmanın azaltılması
	Oksijen bariyeri

2.3. Antimikrobiyal Maddelerin Yenilebilir Film ile Kullanılması

Mikrobiyal kontaminasyon sonucu gıda maddelerinin raf ömrü kısalmaktadır. Antimikrobiyal paketleme aktif paketleme teknolojisinin bir türü olarak tanımlanmaktadır (Appendini ve Hotckiss, 2002). Antimikrobiyal paketleme sisteminde, paketleme materyalinin gıda maddesi ile teması ile antimikrobiyal maddenin, gıda maddesinde oluşan mikrobiyal üremeyi yavaşlatarak, raf ömrününün uzatılması amaçlanmaktadır.

Antimikrobiyal sistem oluşturulmasında hedef mikroorganizma ve gıdanın kompozisyonu, antimikrobiyal maddenin etki alanı ve kimyasal kompozisyonu, mikroorganizmanın büyüme eğrileri ile fiziksel durumu belirlenmelidir. Kullanılan bu antimikrobiyal maddeler ile hedef mikroorganizmanın lag fazı uzatılarak üreme hızını azaltılır böylece gıda maddesindeki mikrobiyal gelişim kontrol altına alınmış olur (Quintavalla ve Vicini, 2002). Antimikrobiyal film üretiminde kullanılan antimikrobiyal maddeler çizelge 2.3’te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Antimikrobiyal paketlemede kullanılan antimikrobiyaller (Appendini ve Hotchkiss 2002)

Antimikrobiyal Mikroorganizma	Polimer	Hedef
<i>Organik Asitler:</i> Propiyonik, benzoik, sorbik, asetik, laktik, malik	Yenilebilir Filmler EVA, LLDPE	Küf
<i>Inorganik Gazlar:</i> Solfürdioksit	Polyolefins	Küf, bakteri, maya
<i>Bakteriosinler:</i> Nisin, pediosin, laktisin	Yenilebilir Filmler, selüloz, LDPE	Gram-pozitif bakteriler
<i>Enzimler:</i> Lisozim, glukoz oksidaz	Selüloz asetat, PS, Yenilebilir Filmler	Gram-pozitif bakteriler
<i>Şelat Ajanları:</i> EDTA	Yenilebilir Filmler	Gram-negatif bakteriler
<i>Esansiyel Yağlar:</i> Greyfurt tohumu ekst., hinokitiol, bamboo tozu, Rheum palmatum	Selüloz, LDPE	Küf, bakteri, maya
<i>Parabenler:</i> Propilparaben	Kil kaplı selüloz	Küf
<i>Fungisidler:</i> Benomil, imazalil	LDPE	Küf
<i>Baharatlar:</i> Tarçın, <i>p</i> -coumaik asit	Selüloz	Küf, bakteri, maya

(LDPE=düşük yoğunluklu polietilen; MC=metil selüloz; HPMC=hidroksipropilmetil selüloz; PS=polistren; CMC=karboksil metil selüloz; EDTA=etilendiamintetraasetik asit)

Bu sistemlerinde kullanılan antimikrobiyaller ‘koruyucu’ olarak da adlandırılmaktadır. Koruyucu terimi antimikrobiyallerin yanısıra antioksidanları da içermektedir. Antimikrobiyaller, doğal ve kimyasal olmak üzere temelde ikiye ayrılmaktadır. Doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyaller mikrobiyal, bitkisel ve hayvansal kaynaklardan (çizelge 2.4) elde edilebilmektedir (Davidon ve Harrison, 2002).

Çizelge 2.4. Doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyaller ve kaynakları (Davidon ve Harrison, 2002).

Kaynak	Antimikrobiyal
<i>Hayvansal</i>	
Süt	Laktoperoksidaz sistem
Süt	Laktoferrin
Süt, yumurta	Lizozim
Bal	Glukoz oksidaz
<i>Bitkisel</i>	
Baharatlar, otlar	Esansiyel yağlar, polifenolikler
Sarımsak, soğan, karaturp	Sülfür bileşikleri
Greyfurt tohumu	Greyfurt tohumu ekstraktı
Şerbetçiotu	Şerbetçiotu yağı
<i>Mikroorganizma</i>	
<i>Lactococcus</i>	Nisin, lacticin
<i>Pediococcus</i>	Pediocin
<i>Lactobacillus</i>	Lactocin, helveticin, sakacin, bavaricin, curvacin
<i>Leuconostoc</i>	Leucocin, mesentericin
<i>Carnobacterium</i>	Carnocin
<i>Streptomyces natalensis</i>	Natamisin

Farklı hedef mikroorganizmalar için birden fazla antimikrobiyal maddenin, antimikrobiyal paketlenme sistemi içinde kullanılması ile sinerjik etki mekanizması ortaya çıkmaktadır. Örneğin gram pozitiflere karşı etkili olan lizozim ile şelat ajanı olan EDTA, sistemin gram

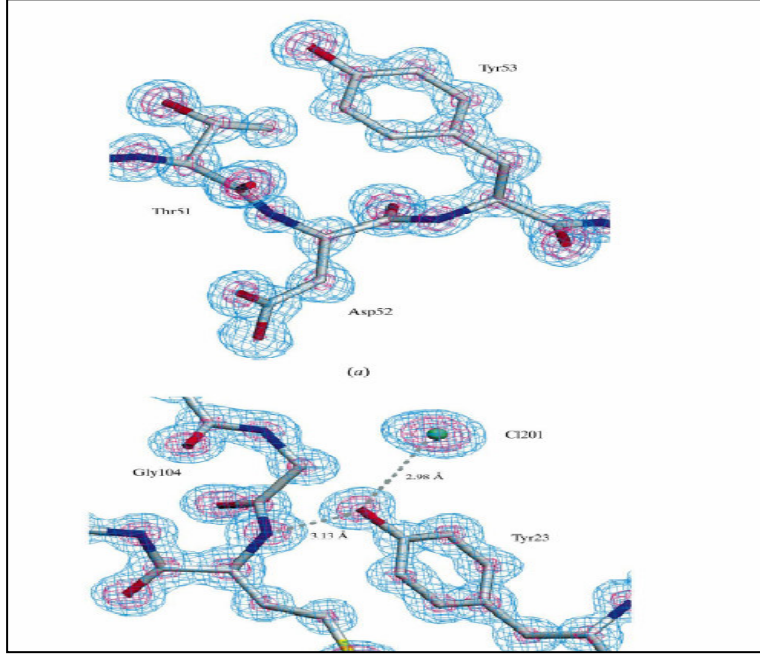
negatiflere karşı da etki göstebilmesi için bir arada kullanılmış; EDTA'nın *E.coli*'ye karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir (Payne ve ark., 1994; Padgett ve ark., 1998; Padgett ve ark., 2000). Sinerjik etki mekanizmaları ve engeller teknolojisi gıdaların korunmasında etkinliği arttıracak yöntemler olarak gösterilmekte, yeni sinerji kombinasyonlarının yenilebilir filmler içinde kullanılmasına yönelik çalışmalar kaynakçada belirtilmektedir (Han, 2000; Padgett ve ark., 2000; Dawson ve ark., 2000; Hoffmann ve ark., 2001; Brody ve Strupinsky, 2001; Appendini ve Hotckiss, 2002; Cagri ve ark., 2002; Suppakul ve ark., 2003; Dufour ve ark., 2003).

2.3.1.Lisozim

Doğal kaynaklı antimikrobiyaller sınıfında olan lisozim, 129 amino asitten oluşur. Molekül ağırlığı 14400'dür (İbrahim ve ark., 1991; İbrahim ve ark., 1993). Lisozim, mikrobiyal, viral, bitki, hayvan orijinli olarak tanımlanmaktadır. Tavuk yumurtasından elde edilen lisozim de bu enzimin farklı bir türüdür ve c-tip olarak adlandırılır. Gözyaşı, tükürük ve üre gibi farklı vücut sıvılarında da sırasıyla 2.6, 0.13, 0.2 mg/ml c-tip enzim bulunmaktadır (Masschalck ve Michiels, 2003). Lisozim tavuk yumurtası beyazının kuru ağırlığının %3,5'ünü oluşturur. Bu nedenle lisozim eldesi için tavuk yumurtası en önemli kaynaktır (Appendini ve Hotckiss, 2002; Branen ve Davidson, 2004). Japonya'da tüm gıdaların korunmasında doğal kaynaklı antimikrobiyal olarak patentlenmiştir. Farklı kullanım alanlarına ilişkin bilgiler kaynaklarda verilmektedir (Payne ve ark., 1993; Hughey ve Johnson 1987; Hughey ve ark., 1989).

Lisozim, gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal özellik gösteren bir enzimdir. Lisozim, bakteri hücre duvarının peptidoglikan tabakasındaki N-acetylglucosamine ve N-acetylmuramic asit arasındaki β -1-4 glikozidik bağları hidrolize ederek, bakterinin bütünlüğünü bozar ve ölümüne sebep olur (İbrahim ve ark., 1996). Ancak gram (-) bakteriler peptidoglikan tabaka üzerinde lipopolisakkarit tabakaya sahip oldukları

için lizozimin gram (-) bakterilere karşı etki göstermediği belirtilmektedir (İbrahim ve ark., 1991).



Şekil 2.4 Lizozim Yapısı

Buna karşın lizozimin gram negatiflere karşı etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalar da yapılmıştır. İbrahim ve arkadaşları (1991, 1993), yağ asitleri ile modifiye edilen lizozimin gram negatiflere karşı oda sıcaklığında etkili olabileceğini belirlemişlerdir. İbrahim ve arkadaşları (1996), başka bir çalışmada ise pH derecesi 6.0 olan tamponda 80°C’da 20 dakika süre ile denatüre edilen lizozimin *E. coli*, *S. enteritidis* ve *P.auriginosa* ya karşı bakteriosidal etki gösterebileceğini saptamışlardır. Masschalck ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan çalışmada, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, and *Shigella flexneri* bakterilerine lizozimin etkisini araştırmışlar,

yüksek basınç ve 100µg lizozim varlığında *Salmonella* dışındaki türlerin inaktive olduğu ancak basınç olmadan herhangi bir bakteriosidal veya bakteriostatik etki oluşmadığı bildirilmiştir. Masschalck ve Michiels (2003), lizozimin gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi ve etkinin oluşum mekanizması araştırmışlardır.

Wertz ve Santore (2002), lizozimin hidrofobik yüzeylerde adsorbsiyon kinetiğini incelemişlerdir. Masuda ve arkadaşları (2001) lizozimin gıda endüstrisi için alternatif bir tatlandırıcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Lizozimin patojenlere karşı mikrobiyolojik etkilerinin incelendiği çalışmalar da mevcuttur. Lizozim ortamdaki kazein miselleri tarafından absorbe edildiğinden enzim aktivitesinin sabit kaldığı böylece peynirlerde *Clostridium tyrobutiricum* un sebep olduğu lezzet kaybını önlediği, şaraplarda malolaktik fermentasyonu kontrol edildiği, et yüzeyinde farklı patojen türlerin sayısının azaltılmasında kullanılabileceği belirtilmektedir (Mecitoğlu, 2005).

Lizozimin gram (+) bakterilere etkisinin incelendiği çalışmada gram (-) bakterilere etkinin artırılması amacıyla EDTA ile kombinasyon oluşturularak; *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerinde inhibisyon etkisi gözlenmiştir (Natrajan & Sheldon, 2000; Appendini ve Hotckiss, 2002).

Son yıllarda film kaplamalara lizozim ve farklı antimikrobiyaller eklenerek, gram pozitif ve gram negatiflere etkinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Tek katlı ve çok katlı PVOH filmlerden lizozim aktivite kaybına uğramadan salınım gerçekleştirdiği, hedef mikroorganizma *Micrococcus lysodeikticus* varlığında incelenerek ortaya konulmuştur (Buonocore ve ark., 2005).

Farklı film materyallerine lizozimin eklenmesiyle oluşturulan antimikrobiyal film kaplamalardan seluloztriasetat filmler,

M.lysodeikticus sayısında 7 log. birim azalma sağlamıştır. Ancak lizozimin gıdalar için antimikrobiyal olarak kullanılmasında gıdanın bileşimi, hedef mikroorganizma ve aktiviteyi değiştirebilecek (pH, sıcaklık) etkiler göz önünde bulundurulmalıdır (Appendini ve Hotchkiss, 1997).

Polivinilalkol ve lizozimden oluşturulan sistem ile *M.lysodeikticus*'a karşı antimikrobiyal aktivite ölçülerek oluşturulan matematik modelinde film içinde kullanılan antimikrobiyalın salınım sonucu hedef mikroorganizmaya karşı etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır (Conte ve ark., 2006).

Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinin araştırıldığı bir çalışmada, lizozimin *C.botulinum* ve *L.monocytogenese* karşı inhibisyon etkisinin olduğu ortaya çıkmıştır 1 mM EDTA ve lizozim kombinasyonunu *L.monocytogenese* inhibisyonunda en etkili kombinasyon olduğu ve 10^{-6} lık dilüsyonda 100-150 koloni üreyebildiği, kontrol örneklerinde ise kolonilerin sayılamayacak kadar çok olduğu belirlenmiştir (Hughey ve Johnson 1987).

UHT sütlerde EDTA, Apo-laktoferrin ve lizozimin farklı mikroorganizma gruplarının gelişimine etkisinin incelendiği bir çalışmada *E.coli*, EDTA'nın tek kullanıldığı uygulamada inhibe edilmiş ancak lizozimle oluşturulan kombinasyonda antimikrobiyal etkide artış gözlenmemiştir. EDTA (1,5-2,5 mg/ml) ve lizozim (150 µg/ml) kombinasyonunun *L.monocytogenes* üremesini 6 log. birim azalttığı belirlenmiştir. Apo-laktoferrin (15 mg/ml) lizozim (150 µg/ml) kombinasyonunun da *E.coli* gelişimine karşı etki gösterdiği, *L.monocytogenes* gelişimini azaltmadığı; hiçbir antimikrobiyal kombinasyonu *P.fluorescens* ve *S.typhimurium* gelişimini engelleyemediği bildirilmektedir (Payne ve ark., 1993).

Nisin, lizozim, monolaurinin, EDTA ve laktoferrin varlığında farklı antimikrobiyal kombinasyonlarının etkileri ile UHT sütlerde antimikrobiyal etkinin incelendiği çalışmada, nisin ve lizozimin EDTA ile kullanıldığında *L.monocytogenes* ve *E.coli*'ye karşı sinerjik etki oluşturduğu ancak 25°C'de depolanan UHT sütlerde tam olarak etki gösteremedikleri belirlenmiştir (Branen ve Davidson, 2004).

Hughey ve arkadaşları (1989), lizozimin taze sebzelerin korunmasında hayvansal besinlerden daha fazla etkili olduğunu belirlemişlerdir. EDTA ve lizozimin birlikte kullanıldığı çalışmada, 5°C'de depolanan 10^3 - 10^4 oranında *L.monocytogenes* ile inokule edilmiş bezelye, marul, mısır, lahana ve havuçta inhibisyon sağlarken kontrol örneklerinde *L.monocytogenes* oranı 10^7 ye kadar yükselmiştir. Aynı uygulamada lizozim sosisler üzerine tek başına yeterli etkiyi göstermezken, EDTA lizozim kombinasyonu *L.monocytogenes* üremesini ilk 2-3 hafta inhibe ettiği, EDTA ve lizozimin sinerjik etki gösterdiği görülmüştür.

2,4 log CFU/g *L.monocytogenes* inokule edilerek lizozim (25mg/g) içeren peynir altı suyu izolatu ile kaplanan som balığında inhibisyon sağlanmıştır (Min ve ark., 2005).

L.plantarum ve *E.coli* ye karşı lizozim, nisin ve EDTA'nın etkisinin araştırıldığı çalışmada, zein film içindeki lizozim konsantrasyonu arttıkça *L.plantarum* inokule edilmiş ortamda filmin hedef mikroorganizmayı içeren agar üzerinde inkübasyon süresi sonunda oluşturduğu alan büyümüştür. 66 mg. lizozim ve 30 mM EDTA ile oluşturulan kombinasyon *E.coli* üzerinde en geniş zonu oluşturmuştur (Padgett ve ark., 1998).

Mecitoğlu ve arkadaşları (2006), zein film içindeki lizozim aktivitesindeki değişim ile antimikrobiyal zein filmlerin *B.subtilis*, *L.plantarum* ayrıca disodium EDTA ilavesi ile *E.coli* üzerinde

antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edip, lizozim içeren zein filmin gıdaların muhafazasında kullanılabileceği ifade etmişlerdir.

Kandemir ve arkadaşları (2005), agar yöntemini kullanıp farklı konsantrasyonda lizozim ile disodium EDTA içeren filmlerin agar üzerinde oluşturduğu alanın çapını ölçerek, antimikrobiyal içeren filmin hedef mikroorganizmaya etkisini belirlemişlerdir. İnkübasyon sonrası ölçüm ile *E.coli* için en etkili kombinasyonun film etrafında en geniş zonu oluşturan 780 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ lizozim ve 520 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ disodyum EDTA kombinasyonu olduğu bulunmuştur.

2.4. Minimum İşlem Görmüş Tüketime Hazır Meyve ve Sebzeler

Yenilebilir filmlerin ve antimikrobiyallerin kullanılmasıyla gıdaların raf ömrünün uzatılmasına ilişkin çalışmalardan önceki bölümlerde söz edilmişti. Bu bölümde ise tüketimi giderek yaygınlaşan tüketime hazır sebze ve meyveler yenilebilir film ve kaplamaların uygulandığı çalışmalarla ilgili genel bilgi verilmektedir.

Minimum işlem görmüş tüketime hazır meyve ve sebzelere olan talep değişen tüketim alışkanlıklarıyla birlikte son yıllarda oldukça artmıştır. Bu tip gıdalar kısmi bir hazırlamadan geçirilerek tüketime hazır hale getirilirler. Hazırlama sırasında dış yaprakların atılması, doğrama, yıkama, kurutma ve paketleme işlemleri uygulanıp, ürünler 0,5 ile 4 kg. arasında paketlenmektedir. İşlem basamaklarından geçirilen meyve ve sebzelerin raf ömrü 7 ile 20 gün arasında değişmektedir. (Nguyen and Carlin, 1994; Watada ve Qi, 1999).

Tüketiciler olgunlaşmış, fiziksel kusuru olmayan ve taze görünümlü ürünleri tercih etmektedirler. Raf ömrüne etki eden faktörler, kesilmiş yüzeylerin ve zarar görmüş dokuları varlığı, üretim

teknolojisinin ürünlerin mikrobiyal stabilitesini tam olarak koruyamaması olarak sıralanabilir (Nguyen and Carlin, 1994; Watada ve Qi (1999).

Minimum işlem görmüş tüketime hazır marulla yapılan farklı çalışmada, üretimde kullanılan farklı yıkama metotlarının ürünün kalite kriterleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Hammaddenin farklı konsantrasyonlardaki ozonlu ve klorlu suda yıkanması ile mikrobiyal yükte azalma (*Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*) olduğu, diğer parametrelerin de (renk, doku, duyuşal, sıcaklık) ozon ve klor uygulamasından olumlu etkilendiğı belirlenmiştir (Delaquis ve ark., 1999; Li ve ark., 2001; Baur ve ark., 2004a; Baur ve ark., 2004b; Delaquis ve ark., 2004; McKellar ve ark., 2004; Hassenberg ve Idler, 2005).

Modifiye atmosfer paketlemenin minimum işlem görmüş tüketime hazır salata ürünlerine etkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Üretimin her aşamasında bakteriyel yük ve kalite kriterleri kontrol edilmiştir. Modifiye atmosfer, mikrobiyal yük ve diğer kalite kriterlerinin birbirine bağımlı olduğu belirlenmiştir (Garcia-Gimeno ve ark., 1997; McKellar ve ark., 2004; Alende ve ark., 2004; Kim ve ark., 2004 b).

Yenilebilir film kaplamalar, minimum işlem görmüş tüketime hazır meyve ve sebzelerde modifiye atmosfer yaratmak, gaz transferini azaltmak, nem ve aroma kaybını önlemek ve kesilmiş olan yüzeyi dış katman yaratarak korumak için kullanılması öngörülmektedir.

Kesilmiş elma dilimlerinin karbonhidrat/lipid çift katlı film ile kaplanmasıyla depolama sürecindeki su kaybı %20 azalma göstermiştir (Wong ve ark., 1994).

Kararmayı engelleyici ajan içeren karagenin (0,5g/100mL) ile kaplanan 2 hafta 3°C'da depolanan elma dilimlerinin raf ömrünün

uzadığı, farklı kararmayı engelleyici ajanların renk ve tekstürün korunmasında kullanılabileceği belirtilmiştir (Lee ve ark., 2003).

Peynir altı suyu protein izolatı (%5-%10 w/v) ile kaplanan 13 gün 2°C’da depolanan kesilmiş elma dilimlerinin ağırlık kaybı % 10 oranında azalırken, renkte herhangi bir değişme meydana gelmemiştir. Depolamanın 10. gününde toplam bakteri sayısı 0-0,54 log CFU/g olarak belirlenmiştir (Sonti, 2003).

3. ÖZDEK VE YÖNTEMLER

3.1. Özdek

Lisozim üretiminde tavuk yumurtası kullanılmış ve tavuk yumurtaları yerel bir marketten satın alınmıştır.

Pullulan üretiminde Prof. Dr. T. Roukas'tan (University of Thessaloniki, Greece) temin edilen *Aureobasidium pullulans* P56 suşu kullanılmıştır.

Hammadde olarak kullanılan iceberg marul (*Latuca savita*, L.) ve salatalık (*Cucumis savitus*), Fersan Fermentasyon San. ve Tic. Ltd. Sti.'den temin edilerek, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Meyve Sebze İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilmiş ve işleninceye kadar +4°C'da (1 gece) buzdolabı koşullarında saklanmıştır

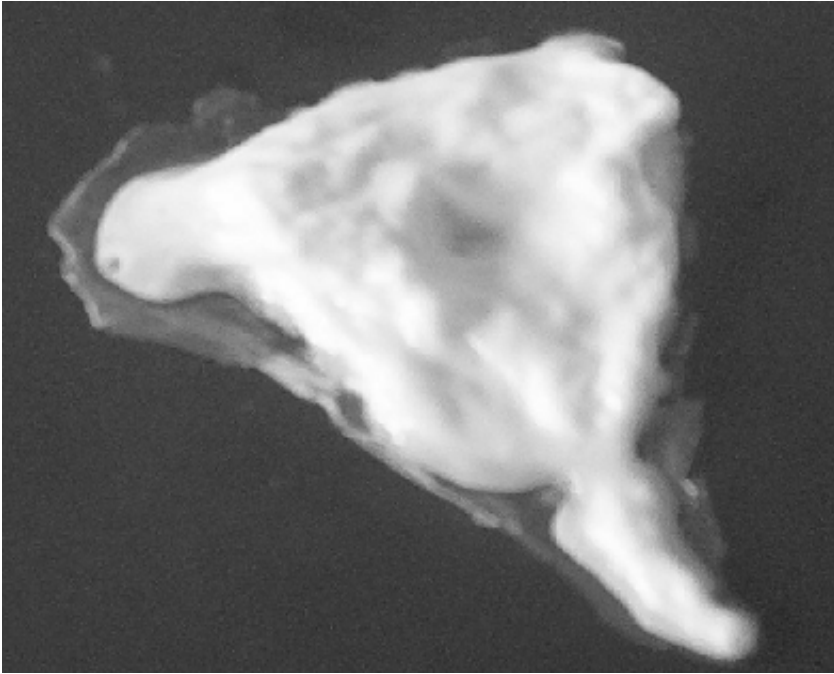
3.2. Yöntemler

3.2.1. Üretim Yöntemleri

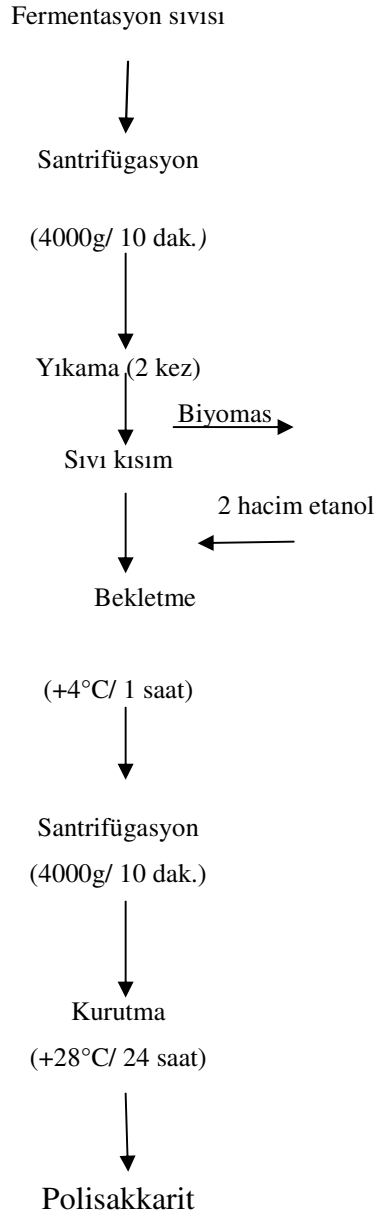
3.2.1.1. Granül Pullulan Üretimi

Pullulan üretimi için, mikroorganizma olarak melanin üretmeyen bir suş olan *Aureobasidium pullulans* P56 suşu kullanılmıştır. Mikroorganizma PDA üzerinde +4±1°C'da saklanmış ve her 3 haftada bir taze ortama ekim yapılarak kültür yenilenmiştir. Üretim için 7 Litrelik Chemap AG tipi reaktör kullanılmıştır (Mannedorf ZH Schweiz, Switzerland). Mikroorganizma gelişimi için kullanılan kültür ortamı kompozisyonu (g/l): sakkaroz 30, (NH₄)₂SO₄ 0.6, maya ekstraktı 0.4, K₂HPO₄ 5.0, MgSO₄.7H₂O 0.2 ve NaCl 1.0 (pH=5.5). Üretim ortamı

kompozisyonu ise (g/l): sakkaroz 50, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.6, maya ekstraktı 0.4, K_2HPO_4 5.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 ve NaCl 1.0 (pH=7.5) olarak alınmıştır. Biyoreaktörde içinde mikrobiyal polisakkarit üretimi Leathers (1998)'de belirtilen şekilde gerçekleştirilerek, fermentasyon süresi sonunda reaktörden alınan fermentasyon sıvısı şekil 3.2'de belirtilen işlemlerden geçirilmiştir. Santrifüj edilen fermentasyon sıvısı 2 kez yıkanarak biyomasın ayrılması sağlanmıştır. Biyoması ayrılan fermentasyon sıvısına 2 hacim etanol ilave edilmiş, $+4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 1 saat bekletilerek mikrobiyal polisakkaritin çökmesi sağlanmıştır (Şekil 3.1). Son santrifüj ile alkolü uzaklaştırılan mikrobiyal polisakkarit, hava sirkülasyonlu ortamda $+28^\circ\text{C}$ 'de 24 saat kurutulmuştur. Kurutulan mikrobiyal polisakkarit, çekiçli değirmen (Break, Crompton Series 2000, Wakefeld, England) ile granül haline getirilmiştir.



Şekil 3.1. Alkol ile muamele edilmiş pullulan



Şekil 3.2. Mikrobiyal polisakkarit üretim şeması

3.2.1.2. Lizozim Üretimi

Lizozim üretiminde Jiang ve arkadaşları (2001)'de belirtilen yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla tavuk yumurtası beyazı 0.05 N NaCl ile 1/2 oranında (yumurta akı/NaCl) seyreltilmiş, ardından lizozim dışındaki diğer proteinlerin çöktürülmesi amacıyla 1N asetik asit ile ortam pH derecesi 4'e ayarlanmış, son olarak etanol çözeltisi ile 1/1 oranında muamele edilmiştir. Oda sıcaklığında 6 saat inkübasyona bırakılan karışım, +4°C'da 15000 x g hızla 15 dakika santrifüj edilerek çökelti kısmı uzaklaştırılmış, supernatant +4±1°C'da 21 saat 2000 ml saf su içinde diyaliz tüpü yardımıyla (Sigma Chem. Co. St. Louis, Mo., USA) diyaliz edilmiştir. Diyaliz sonunda liyofilize edilen lizozim, -18°C'da kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

3.2.1.3. Pullulan Film Üretimi

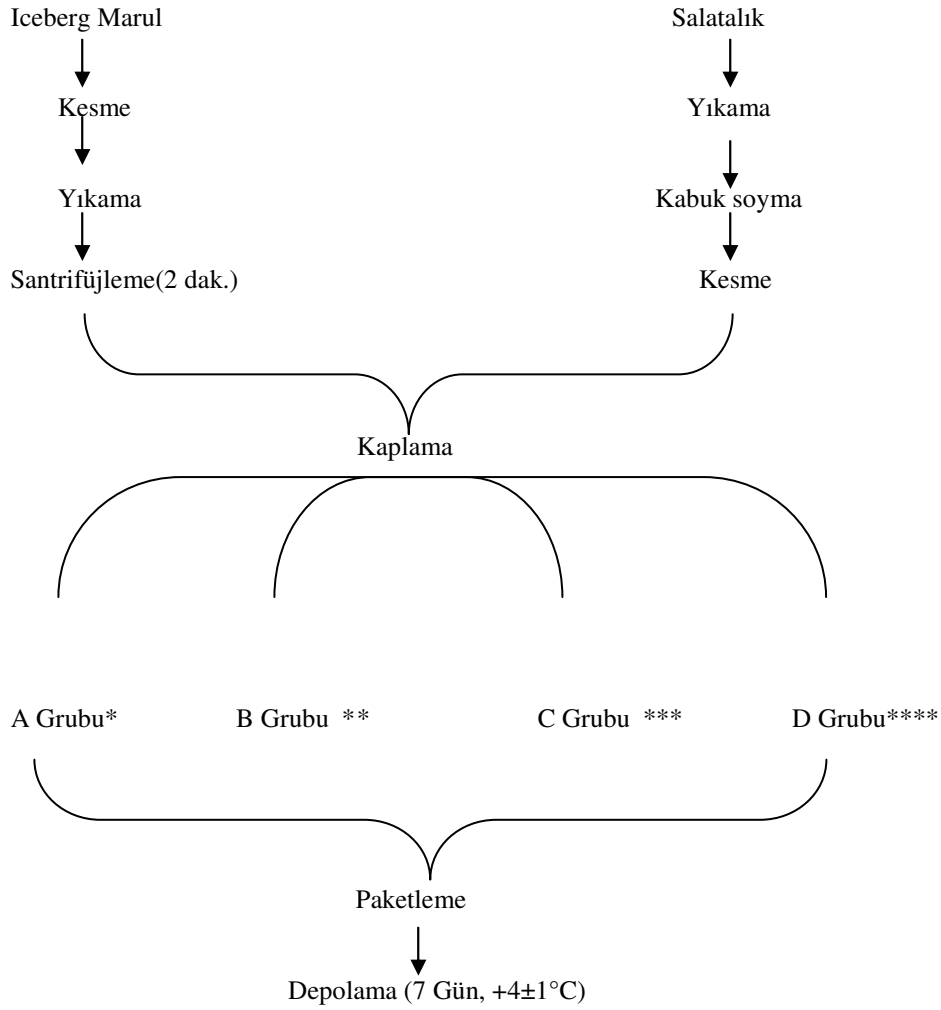
Çalışmada kullanılacak lizozimin pullulan film içindeki optimum miktarının, film bileşenlerinin lizozim aktivitesine etkilerinin ve lizozimin yapılacak soğuk depolama süresince aktivite değişiminin belirlenmesi amacıyla pullulan film üretimi yapılmıştır. Üretiminde, toz haldeki pullulan (% 59 saflıkta) manyetik karıştırıcı yardımıyla 1 saat süresince saf suda çözülerek, % 2.6 (w/v) oranında pullulan içeren film çözeltisi elde edilmiştir. Çözeltinin pH derecesi 0.1 M NaOH ile 6.5'a ayarlanmıştır. 1 ml film çözeltisi petri (Isolab, D=35 mm) içine pipet yardımı ile yayılarak, inkübatörde (B.Braun Certomat) 25°C'de 21 saat kurutulmuştur.

3.2.1.4. Tüketime Hazır Salatalık ve Marullara Pullulan Film Uygulanması

Marul ve salatalıklara film uygulaması için işlem basamakları şekil 3.3'te gösterilmiştir. Buzdolabı koşullarında depolanan marulların dış yaprakları uzaklaştırılmıştır. Paslanmaz çelik bıçak kullanılarak kesilen marullar (1.5-2 cm), $+4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'daki su ile 3 kez 2'şer dakika daldırılarak yıkanmış, son olarak da 10 saniye akan su altında tutulmuştur. Yapraklardaki fazla su ev tipi sebze santrifüjü (Dynaware, C-2116) ile (2 dk.) uzaklaştırılmıştır.

Salatlıklar ise şekil 3.3'te gösterildiği gibi $+4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'daki su ile 3 kez yıkandıktan sonra kabukları paslanmaz çelik bıçak ile şerit şeklinde soyulmuş, yaklaşık 0,3-0,4 cm. genişliğide halka şeklinde kesilmiştir.

Kesilmiş marul ve salatalık örnekleri 4 gruba ayrılmış, 1. grubu kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 2. grup pullulan çözeltisi, 3. grup disodyum EDTA.2H₂O içeren pullulan, 4. grup ise disodyum EDTA.2H₂O ve lizozim içeren pullulan ile kaplanmış. Her farklı grup çözeltisiye 7,5 mg/ml disodyum EDTA.2H₂O ve 7,5 mg/ml lizozim ilave edilmiştir. Kaplama işlemi örneklerin 2 dakika. bir yüzlerinin 2 dakika diğer yüzlerinin pullulan filme daldırılmasıyla yapılmıştır. Kaplama işleminden sonra örnek yüzeyindeki pullulan miktarı $2,3\pm0,2$ gramdır. Oda sıcaklığında 10 dakika kurutulan örnekler, selofan ambalaja yerleştirilerek ve ağızları kapatma makinası (Umar Makine Sanayi, Kırıkpazar, İstanbul) ile kapatılmıştır.



Şekil 3.3. Iceberg marul ve salatalık üretim akış şeması

*Kontrol Grubu

**Pullulan Çözeltilisi ile kaplanan grup

*** Disodyum EDTA.2H₂O içeren pullulan çözeltisi ile kaplanan grup

**** Disodyum EDTA.2H₂O ve lizozim içeren pullulan çözeltisi ile kaplanan grup

3.2.2. Analiz Metotları

3.2.2.1. Pullulan Tayini

Pullulan film üretiminde kullanılan granül haldeki mikrobiyal polisakkarit içindeki pullulan konsantrasyonu ile üretilcek filmde kullanılacak pullulan miktarını belirlemek amacıyla, pullulan konsantrasyonu tayini yapılmıştır. Bu amaçla, Leathers ve ark. (1998)'de belirtilen yöntem kullanılarak, fermentasyon ortamından alkol yardımı ile çöktürülüp kurutulan mikrobiyal polisakkarit, 10mg/ml oranında 0.05 M sodyum asetat (pH=5.0) ile çözülmüştür. 1 ml örneğe 10 µl Pullulanaz (Promozyme D2, Novozymes A/S, Denmark) ilave edilip 25°C'da 21 saat inkübe edilmiştir. Pullulanaz saf pullulan örneğine de ilave edilmiştir. İndirgen şeker değerleri ile saptanan glukoz indirgen eşdeğerlerinden yararlanarak mikrobiyal polisakkaritteki pullulan içeriği, DNS metodu ile belirlenmiştir. Spektrofotometrik standart grafik verileri Uçan (2004)'ten elde edilmiştir.

3.2.2.2. Lizozim Aktivitesi Tayini

Liyofilize edilen lizozimin pullulan film içinde kullanılacak miktarını belirlemek için lizozim aktivitesi tayini yapılmıştır. Lizozimin aktivite tayininde Mecitoğlu-Güçbilmez (2005)'te belirtilen spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma Chem. Co. St. Louis, Mo., USA), 0,26 mg/mL oranında 0,05 M (pH 7.0) Na-fosfat tamponunda çözülmüştür. Film örneklerinin 2 ml saf su içinde baget yardımıyla çözündürülmesiyle elde edilen film çözeltisi içindeki lizozimin (enzim) 0,1 mililitresi pipet yardımı ile spektrofotometre küvetine aktarılmıştır. 2,9 ml *Micrococcus lysodeikticus* ile 0,1 ml enzim çözeltisi 2 grup olarak hazırlanmıştır. 30°C'deki su banyosunda 5 dakika inkübe edilen *Micrococcus lysodeikticus* ve 0,1 ml enzim çözeltisi inkübasyon sonunda karıştırılmış, 1. grubun absorbans değişimi karıştırmadan hemen sonra, 2. grubun absorbans değişimi ise

karıştırıldıktan 1 dakika sonra 660 nm’de spektrofotometre (Varian, Carry 50, UV-visible Spectrofotometer) ile ölçülerek, 0. ve 1. dakika arasındaki absorbans farkı ölçüm sonunda hesaplanarak, enzim aktivitesi Unit (dakikadaki 0.0001 lik absorbans değişimi) olarak belirlenmiştir.

3.2.2.3. Kimyasal Analizler

3.2.2.3.1. Askorbik Asit Tayini

Örneklerin askorbik asit değerleri Hışıl (2004)’te belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Analiz için 1 gr. örnek ezilerek 10 ml’ye saf su ile tamamlanmıştır. Bu karışım 100 ml’ye kadar oksalik asit (Fluka, 33034) ile tamamlanmıştır. Süzüntüden elde edilen 1 ml örnek 9 ml 2,6-diklorofenolindophenol (Fluka, 00617) ile karıştırılarak, spektrofotometrede (Varian, Carry 50, UV-visible Spectrofotometer) 518 nm dalga boyunda 3 kez ölçüm yapılmıştır.

3.2.2.3.2. pH Tayini

Örneklerin pH değerleri Cemeroğlu (1992)’de belirtilen yöntemle göre WTW Inolab (Almanya) model pH-metre kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.2.3.3. Asitlik (Titrasyon Asitliği) Tayini

Titrasyon asitliği ölçümleri Cemeroğlu (1992)’de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. 5 gr. ezilmiş örnek, 100 ml saf suda seyreltilip, filtre kağıdından geçirilmiş, süzüntüden alınan 10 ml’lik 3 örnek, fenolftalein indikatörlüğünde 0,1 N NaOH ile pembe renk elde edilene kadar titre edilmiştir.

3.2.2.4. Fiziksel Analizler

3.2.2.4.1. Renk Tayini

Renk ölçümlerinde hunter (HunterLab, Colorflex Color Management Company, USA) cihazı ile L (aydınlık/karanlık), a (kırmızı/yeşil), b (sarı/mavi) değerleri ölçülmüştür. Örnekler cihazın haznesine yerleştirilerek okuma gerçekleştirilmiştir. L., a, b değerlerindeki toplam renk farkı (ΔE) ve kroma farkı (ΔC) aşağıda verilen formullere göre hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{[(L-L_{ref})^2 + (a-a_{ref})^2 + (b-b_{ref})^2]}$$

$$\Delta C = \sqrt{[(a-a_{ref})^2 + (b-b_{ref})^2]}$$

3.2.2.4.2. Doku Sertlik Tayini

Örneklerin doku sertliği Baysal ve ark. (2000)'e göre yapılmıştır. Ölçümlerde instron (model 1140, Instron Co., USA) cihazı (5 kg. yükleme hücresi ve 50 mm/dak. başlık hızı) kullanılmıştır. Her ölçümde 1 parça alınıp, 4 kez ölçüm yapılmıştır.

3.2.2.5 Mikrobiyolojik Analizler

Örneklerin kaplanmasıdan sonra, $+4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'da depolanan örneklerde 0., 1., 4., ve 7. günde toplam canlı, küf, maya, laktik asit bakterisi (LAB), koliform sayımları yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler her örnek grubundan 10 gram alınarak, 90 ml Peptonlu su (Oxoid, CM 009) içerisinde 2 dakika homojenize edilerek 10^{-1} 'lik dilüsyon elde edilmiştir. Homojenize edilmiş örnekten uygun oranda hazırlanan seri dilüsyonlardan paralel olarak mikrobiyolojik ekimler yapılmıştır.

3.2.2.5.1. Toplam Canlı Sayısı

Toplam canlı sayımı Plate Count-Agar (PCA, pH=7,0; Oxoid, CM0325) ile dökme plaka yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Petriler $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır. (BAM, 1998, Bacteriological Analytical Manuel FDA, 8th Ed., Revision A, AOAC Gaithersburg, MD 20877, USA).

3.2.2.5.2. Koliform Sayımı

Koliform sayımında Violet Red Bile Agar (VRBA, pH=7,4; Oxoid, CM 107) kullanılmış, çift tabaka dökme plaka yöntemine göre paralel ekim yapılan petriler, $37\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiş, gelişen koyu kırmızı koloniler koliform bakteri olarak sayılmıştır (BAM, 1998, Bacteriological Analytical Manuel FDA, 8th Ed., Revision A, AOAC Gaithersburg, MD 20877, USA).

3.2.2.5.3. Laktik Asit Bakterisi Sayımı

Laktik asit bakterisi sayımında Man-Rogosa-Sharpe (MRS, pH=5,7; Merck- 4488961079.87142) ile çift tabaka dökme plaka yöntemi uygulanmış, petriler $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5-6 gün inkübe edilmiştir (Garg ve ark.,1990).

3.2.2.5.4. Maya-Küf Sayısı

Maya-küf sayımı %10'luk tartarik asit çözeltisi ile pH'sı 3,5'e ayarlanmış Potato Dextrose Agar (PDA, Ph=3,5; Oxoid, CM 139) kullanılarak belirlenmiştir. Çift kat dökme plak yöntemine göre paralel ekim yapılan petriler $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (BAM, 1998, Bacteriological Analytical Manuel FDA, 8th Ed., Revision A, AOAC Gaithersburg, MD 20877, USA).

3.3.2.6. İstatistiksel Analizler

İstatistik analizler için SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır. Tüm sonuçlara tesadüf blokları modeline göre varyans analizi uygulanmıştır. Uygulama ile analizlerdeki süre, grup ve süre-grup etkileşimleri belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Bu bölümde taze marul ve salatalık örneklerine kaplama uygulamasında eklenecek lizozim miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan deneme sonuçları ile kaplama uygulanmış örneklerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik değişimleri ayrı ayrı verilmiştir.

4.1. Lizozim Aktivitesi Sonuçları

Hazır salatalık ve marullara kaplama uygulaması öncesinde pullulan film içerisine ilave edilecek optimum lizozim miktarının belirlenmesi ve depolama süresince lizozim aktivitesindeki değişimin saptanması için bir grup deneme yapılmıştır.

4.1.1. Film İçerisindeki Lizozim Aktivitesinin Hesaplanması

Örneklere pullulan film uygulamadan önce pullulan film içindeki lizozim miktarının belirlenmesi amacıyla, 1, 2,5, 5, 7,5 mg/ml lizozim, 0,5 ve 5 mg/ml disodyum EDTA.2H₂O içeren film çözeltileri oluşturulmuş ve 100, 260, 520 ve 780 µg/cm² lizozim ve 52 ile 520 µg/cm² disodyum EDTA.2H₂O içeren filmler elde edilmiştir (Şekil 4.1). Parlaklık vermek amacıyla film içindeki konsantrasyonu 10 mg/cm² olacak şekilde sakkaroz film çözeltisine ilave edilmiştir.

Filme eklenen lizozim miktarının başlangıçtaki aktivitesi ve farklı konsantrasyonlarda sadece lizozim içeren, lizozim+disodyum EDTA.2H₂O, Lizozim+disodyum EDTA.2H₂O +sakkaroz içeren pullulan filmlerde lizozim aktivitesi tayini yapılarak, ölçülen değerler Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Üretim aşamasında elde edilen pullulan film örnekleri

Çizelge 4.1. Pullulan filme eklenen ve filmde ölçülen lizozim miktarları

Filmde Eklenen Lizozim Miktarı (mg/ml)	Filmde Eklenen Lizozim Aktivitesi (Ünite)	Filmde Ölçülen Lizozim Aktivitesi (Ünite)		
		L*	L+E*	L+E+S*
1	5420	1659	1915	3980
2,5	14090	10492	9279	10938
5	28180	11983	11842	10668
7,5	42270	7821	14196	11400

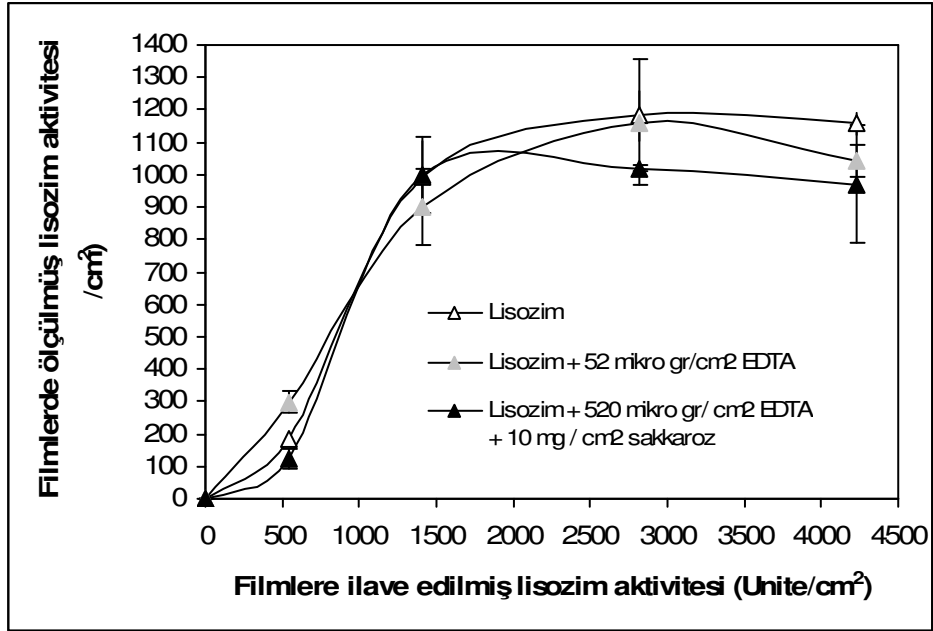
*L:Lizozim, L+E: Lizozim+ disodyum EDTA.2H₂O, L+E+S: Lizozim+disodyum EDTA.2H₂O +Sakkaroz

Farklı konsantrasyonlarda lizozim içeren filmlerin tümünde, eklenen lizozim aktivitesi, filmlerde ölçülen lizozim aktivitesinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Pullulan filme eklenen lizozim miktarı arttıkça, filmde ölçülen lizozim aktivitesi de başlangıçta doğrusal bir artış göstermiş, ancak 2,5 mg/ml lizozim eklenen örneklerden sonra (14090 ünite) enzim miktarı arttıkça, aktivitede artış saptanmamıştır. Diğer bir ifadeyle 2,5 mg/ml lizozim içeren pullulan filmin aktivitesi eklenen ilave lizozim miktarı ile aynı oranda bir artış göstermemiştir.

Farklı film bileşenlerinin lizozim aktivitesi üzerine etkisi incelendiğinde 1 mg/ml lizozim içeren film örneklerinde sadece lizozim ve lizozim+disodyum EDTA.2H₂O'nun birlikte kullanıldığı filmlerin ölçülen aktiviteleri arasında belirgin bir farklılık gözlenmezken, lizozim+disodyum EDTA.2H₂O+sakkaroz içeren filmlerin aktivitesi

diğer 2 filmin aktivitesinden yaklaşık 2 kat fazla olduğu saptanmıştır. Ancak başlangıçta eklenen lizozim miktarı arttıkça, farklı bileşenlerle oluşturulan filmlerdeki aktivite değerlerinde önemli farklılıklar saptanmamıştır (Çizelge 4.1). Artan başlangıç lizozim miktarı dikkate alındığında, farklı film bileşenlerinin başlangıç lizozim aktivitesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı, lizozim aktivitesindeki değişimlerin enzim ile ortamdaki polisakkaritlerin veya diğer safsızlıkların etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir.

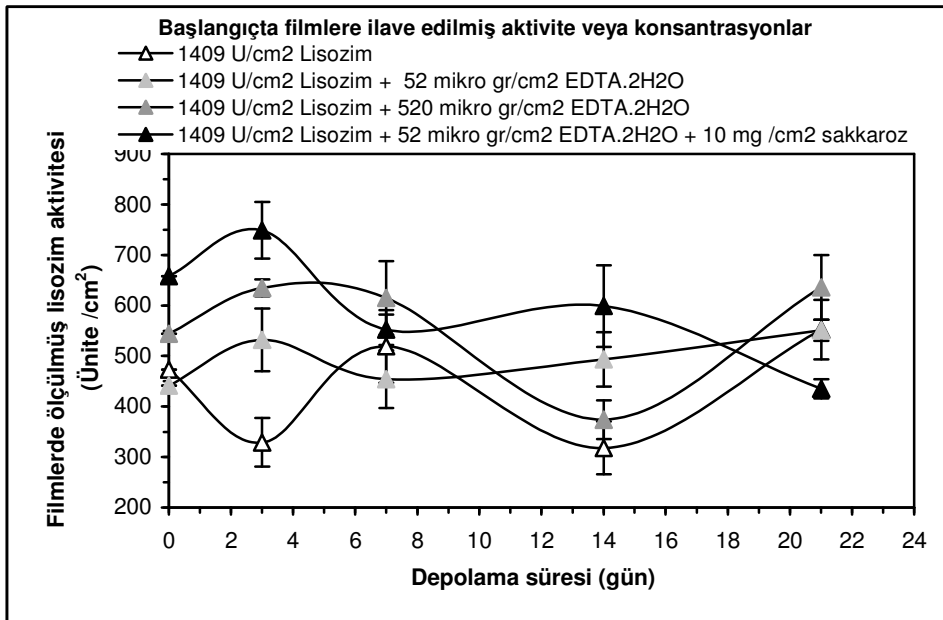
Şekil 4.2’de görüldüğü gibi 2,5 mg/ml lizozim içeren pullulan film için saptanan aktivite lizozim miktarındaki artışla aynı oranda artış göstermediğinden film içerisinde 2,5 mg/ml lizozim miktarının yeterli olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Pullulan filme eklenen lizozimin filmde ölçülen aktiviteleri

4.1.2. Lisozim Aktivitesinin Depolama Süresince Değişimi

Filme ilave edilecek lisozim miktarının saptanmasından sonra, depolama süresince ortaya çıkabilecek aktivite değişimlerinin doğrudan materyale etkisi olması nedeniyle aktivitedeki değişimin belirlenmesi gerektiği düşünülmüştür. Bunun için taze bir ürünün maksimum depolanabileceği süreden daha fazla bir depolama süresi seçilerek 21 gün boyunca lisozim aktivitesindeki değişim saptanmıştır. Bu amaçla 2,5 mg/ml lisozim ile 0,5 ve 5 mg/ml disodyum EDTA.2H₂O ve 0,1g/ml sakkaroz içeren 4 farklı film hazırlanarak buzdolabı koşullarında 4±1°C'ta 21 gün boyunca depolanmıştır. Depolama sürecinde aktivite değişimini saptamak için petri içinde depolanan filmlerde 0.,3.,7., 14. ve 21. günlerde lisozim aktivitesi ölçülmüştür. Depolama süresince belirlenen değişim Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Soğukta depolama ve film bileşenlerinin lisozimin aktivite değişimine etkisi

Şekil 4.3'te görüldüğü gibi depolama süresini başında sakkaroz içeren filmlerde lizozim aktivitesi diğer 3 örnekten daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ancak depolama süresince bu aktivitenin sürekli olarak azaldığı ve 21 gün sonunda azalmanın başlangıca göre %33 olduğu saptanmıştır. Lizozim+disodyum EDTA.2H₂O ve lizozim+disodyum EDTA.2H₂O+sakkarozun birlikte kullanıldığı film örneklerinde depolama boyunca lizozim aktivitesinde artış ve azalmalar görülmekle beraber önemli bir değişim saptanmamıştır. Depolama sırasında enzimlerde meydana gelen asosiyasyon-disosiyasyon ve polimerizasyon-depolimerizasyon reaksiyonlarına bağlı olarak bu tür düzensiz artış azalmaların olduğu düşünülmektedir. Depolama süresince lizozim aktivitesinde değişimler olmasına rağmen, aktivitede sakkaroz örnekleri dışında belirgin değişim olmadığı ve aktivitenin korunduğu görülmüştür.

Elde edilen bu sonuçlara göre sakkaroz içeren örneklerde aktivitedeki değişimin fazla olması yanısıra elde edilen filmlerin son derece yapışkan olmasının uygulamada yaratabileceği zorluklar göz önüne alınarak, film oluşturmada sakkarozun kullanılmamasına karar verilmiştir. Salatalık ve marullara film uygulamasında 2,5 mg/ml lizozim, 5 mg/ml disodyum EDTA.2H₂O'nun kullanılmasının yeterli olabileceği düşünülmüştür. Ancak elde edilen bu filmlerin yapılan ön denemelerde *E.coli*'ye etkisi incelendiğinde 2,5 mg/ml lizozim yerine 7,5 mg/ml lizozim kullanılmasının daha güvenli sonuçlar verdiği (Kandemir ve ark., 2005) göz önüne alınarak, çalışmanın bundan sonraki kısmında lizozim miktarı 7,5 mg/ml olarak kullanılmıştır.

4.2 Tüketime Hazır Salatalık ve Marulların Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Örneklerin kaplanması için kullanılacak lizozim miktarının belirlenmesinden sonra, daha önce belirtildiği gibi ön işlemler sonrasında herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol grubu (A); sadece pullulan ile kaplanan (B), disodyum EDTA.2H₂O içeren pullulan ile kaplanan (C); lizozim ve disodyum EDTA.2H₂O içeren pullulan ile kaplanan (D)

örneklerin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.2 Depolama sürecinde marul örneklerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları

Grup	Gün	Titrasyon Asitliği	Ph	Askorbik Asit (mg/100 g)	Renk					Sertlik (kg)
					L	a	b	ΔE	ΔC	
A	0	0,0027 ^{ab}	5,88 ^a	35,45 ^a	64,49 ^a	-5,55 ^c	27,8 ^a			0,39 ^a
	1	0,0026 ^{ab}	5,29 ^a	52,35 ^a	70,78 ^a	-5,18 ^c	25,06 ^a	6,87 ^a	2,76 ^a	0,32 ^a
	4	0,0027 ^{ab}	6,12 ^a	120,13 ^a	69,9 ^a	-5,8 ^c	22,86 ^a	7,33 ^a	4,95 ^a	0,39 ^a
	7	0,0026 ^{ab}	5,94 ^a	50,44 ^a	60,47 ^a	-3,73 ^c	26,04 ^a	4,75 ^a	2,53 ^a	0,33 ^a
B	0	0,0013 ^b	5,55 ^b	52,17 ^a	66,31 ^a	-5,44 ^{ab}	28,53 ^a			0,35 ^a
	1	0,0013 ^b	5,76 ^b	60,76 ^a	68,15 ^a	-4,1 ^{ab}	26,17 ^a	3,28 ^a	2,71 ^a	0,36 ^a
	4	0,0013 ^b	5,86 ^b	130,87 ^a	58,04 ^a	-4,9 ^{ab}	24,82 ^a	8,4 ^a	1,45 ^a	0,34 ^a
	7	0,0013 ^b	5,87 ^b	52,89 ^a	61,3 ^a	-2,55 ^{ab}	25,42 ^a	5,81 ^a	2,95 ^a	0,25 ^a
C	0	0,0026 ^a	5,01 ^a	63,21 ^a	64,34 ^a	-4,38 ^{bc}	25,93 ^a			0,38 ^a
	1	0,0026 ^a	5,84 ^a	50,59 ^a	63,61 ^a	-4,51 ^{bc}	28,89 ^a	3,05 ^a	2,96 ^a	0,39 ^a
	4	0,0027 ^a	5,27 ^a	131,21 ^a	55,77 ^a	-4,52 ^{bc}	31,58 ^a	10,27 ^a	5,65 ^a	0,36 ^a
	7	0,004 ^a	5,68 ^a	77,78 ^a	59,58 ^a	-0,51 ^{bc}	29,36 ^a	7,03 ^a	5,17 ^a	0,39 ^a
D	0	0,0013 ^{ab}	4,76 ^a	83,28 ^a	68,32 ^a	-4,44 ^c	20,26 ^a			0,32 ^a
	1	0,0013 ^{ab}	5,31 ^a	38,24 ^a	66,57 ^a	-2,78 ^c	22,97 ^a	3,63 ^a	3,18 ^a	0,33 ^a
	4	0,0013 ^{ab}	5,13 ^a	50,34 ^a	50,68 ^a	-2,57 ^c	26,66 ^a	18,86 ^a	6,67 ^a	0,36 ^a
	7	0,004 ^{ab}	5,77 ^a	49,33 ^a	55,47 ^a	-0,93 ^c	32,88 ^a	18,35 ^a	13,1 ^a	0,35 ^a

Çizelge 4.3 Depolama sürecinde salatalık örneklerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları

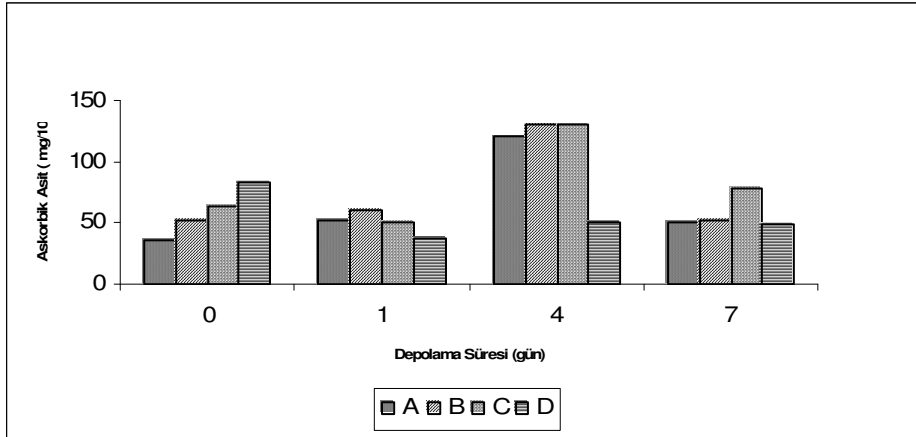
Grup	Gün	Titrasyon Asitliği	Ph	Askorbik Asit (mg/100 g)	RENK					Sertlik (kg)
					L	a	b	ΔE	ΔC	
A	0	0,002 ^a	6,01 ^a	54,77 ^a	61,67 ^a	-8,86 ^a	31,51 ^a			0,53 ^a
	1	0,003 ^a	6,11 ^a	53,99 ^a	61,82 ^a	-8,65 ^a	29,09 ^a	7,12 ^a	2,45 ^a	0,76 ^a
	4	0,001 ^a	6,39 ^a	49,18 ^a	62,25 ^a	-7,64 ^a	28,53 ^a	9,21 ^a	3,41 ^a	0,79 ^a
	7	0,003 ^a	6,31 ^a	125,23 ^a	58,78 ^a	-8,89 ^a	30,23 ^a	3,27 ^a	1,28 ^a	0,64 ^a
B	0	0,003 ^a	6,02 ^a	70,54 ^{bc}	60,23 ^a	-8,94 ^a	31,48 ^{ab}			0,54 ^a
	1	0,003 ^a	6,14 ^a	66,31 ^{bc}	59,1 ^a	-8,55 ^a	29,51 ^{ab}	4,42 ^a	2,07 ^a	0,82 ^a
	4	0,003 ^a	6,26 ^a	49,41 ^{bc}	65,41 ^a	-7,84 ^a	29,79 ^{ab}	7,53 ^a	2,27 ^a	0,69 ^a
	7	0,004 ^a	6,31 ^a	134,27 ^{bc}	60,75 ^a	-8,12 ^a	31,14 ^{ab}	1,76 ^a	0,99 ^a	0,9 ^a
C	0	0,003 ^a	5,91 ^a	65,02 ^{bc}	60,59 ^a	-9,52 ^a	33,63 ^{ab}			0,71 ^a
	1	0,004 ^a	6,22 ^a	69,72 ^{bc}	62,46 ^a	-8,56 ^a	31,38 ^{ab}	3,92 ^a	2,44 ^a	0,81 ^a
	4	0,001 ^a	6,48 ^a	65,65 ^{bc}	62,79 ^a	-7,6 ^a	32,41 ^{ab}	3,96 ^a	2,31 ^a	0,72 ^a
	7	0,003 ^a	6,5 ^a	136,74 ^{bc}	55,77 ^a	-7,63 ^a	30,63 ^{ab}	4,28 ^a	3,58 ^a	0,77 ^a
D	0	0,002 ^a	6,02 ^a	81,77 ^c	55,37 ^a	-9,41 ^a	32,58 ^b			0,56 ^a
	1	0,003 ^a	6,07 ^a	74,14 ^c	60,08 ^a	-9,09 ^a	32 ^b	5,23 ^a	2,26 ^a	0,74 ^a
	4	0,001 ^a	6,45 ^a	72,65 ^c	63,07 ^a	-8,14 ^a	32,59 ^b	7,9 ^a	1,74 ^a	0,76 ^a
	7	0,004 ^a	6,59 ^a	137,95 ^c	57,05 ^a	-7,25 ^a	31,78 ^b	5,21 ^a	4,37 ^a	0,71 ^a

*Aynı sütundaki harfler gruplar içerisindeki farklılıkları göstermektedir.

4.2.1. Askorbik Asit

Marul örneklerine ait askorbik asit değerleri Çizelge 4.2’de, Şekil 4.4, istatistiksel analiz sonuçları Ek A.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi A, B, C ve D grubuna ait örneklerinin askorbik asit miktarları sırasıyla 35,45 mg/100 g; 52,17 mg/100 g; 63,21 mg/100 g; 83,18 mg/100 g olarak bulunmuştur. Uygulama sonrasında farklılıklar istatistiksel olarak ($p \leq 0,05$) anlamlıdır (Ek A.1).



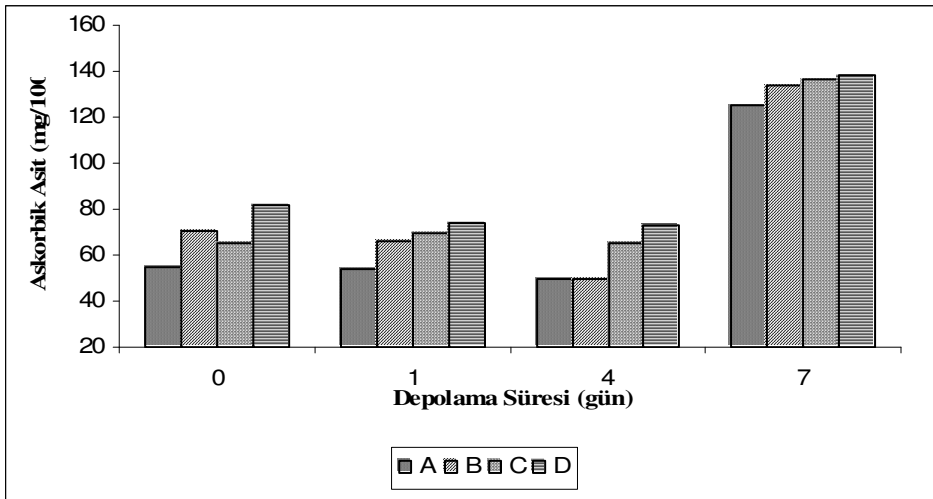
Şekil 4.4. Marul örneklerin askorbik asit değerleri değişimi

Örneklerin 7 günlük depolama süresi boyunca, askorbik asit içeriklerinin değişim gösterdiği ve A, B, C grubu örneklerde askorbik asit niceliğinin depolamanın 1. ve 4. gününde başlangıç değerlerine göre arttığı belirlenmiştir. Bu artış depolamanın 4. gününde başlangıca göre A grubu örneklerde % 238,87; B grubu örneklerinde %150,85; C grubu örneklerinde % 107,58 olmuştur. Askorbik asit değerindeki bu artışların

istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Depolama sonunda ise A, B, C örneklerinin askorbik asit nicelikleri 4. gün değerlerine göre azalarak, başlangıçtaki askorbik asit değerlerine yakın bulunmuştur. D grubu örnekleri için ise, depolama süresince belirgin bir artış gözlenmemiş, 7. gün sonunda da başlangıç değerinden %40,76 az olarak saptanmıştır.

Salatalık örneklerine ait askorbik asit değerleri Çizelge 4.3’de, Şekil 4.5 istatistiksel analiz sonuçları Ek B.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi A, B, C ve D örneklerinin başlangıç askorbik asit nicelikleri sırasıyla 54,77 mg/100 g; 70,54 mg/100 g; 65,02 mg/100g ve 81,77 mg/100 g olarak saptanmıştır. Salatalık örnekleri için de marul örneklerine benzer olarak uygulama sonrasındaki başlangıç değerleri farklılık göstermiş ve istatistiksel olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Ek B.1).



Şekil 4.5. Salatalık örneklerin askorbik asit değerleri değişimi

Depolamanın 1. ve 4. günlerinde A, B, C ve D gruplarının askorbik asit niceliklerinde önemli değişim saptanmamıştır; ancak 7. günde, marul örneklerinin 4. gününe benzer olarak, örneklerin askorbik asit miktarı başlangıca göre artış göstermiştir. Bu artış A grubunda % 128,64; B grubunda % 90,34; C grubunda % 110,30; D grubunda % 68,70 olarak gerçekleşmiştir.

Salatalık ve marulların askorbik asit değerleri genel olarak incelendiğinde, başlangıç askorbik asit değerleri bakımından ortaya çıkan farklılıkların benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu farklılıkların film içerisinde kullanılan farklı bileşenlerin etkisinden kaynaklandığı; ayrıca sebzelerin hasattan sonra metabolik faaliyet ve doku canlılığı devam ettiğinden, kaplama uygulanan örneklerde askorbik asitin depolamada devam eden metabolik aktiviteye, doku canlılığına ve sentezlenmeye bağlı olarak artış göstermiş olabileceği düşünülmektedir.

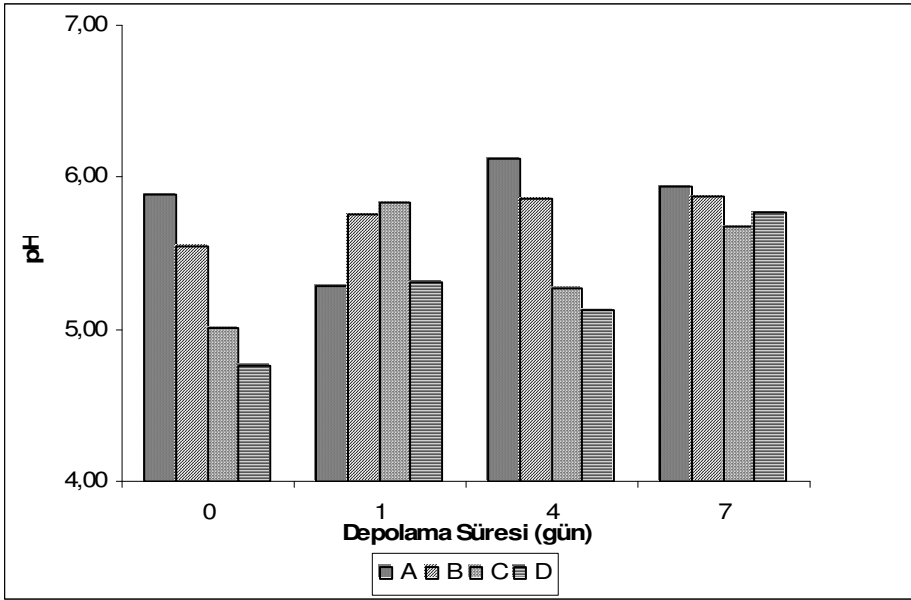
Depolamanın marul örnekleri için 1. ve 4., salatalık örnekleri için ise 7. gününde belirlenen askorbik asit değerlerindeki artış, askorbik asit sentezinden kaynaklanabilir. Benzer şekilde portakal sularının ve kivilerin depolanmasında da askorbik asit değerlerinde artış görülmüştür (Budurlu ve ark., 2006; Chien ve ark., 2007).

Martin-Diana ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, klor ve farklı konsantrasyonlarda peynir altı suyu protein konsantresi ile muamele edilerek 4°C'da depolanan kesilmiş marullarda 10 günlük depolama sürecinde askorbik asit miktarı peynir altı suyu proteini ile muamele edilen örneklerde sürekli azalma göstermiş, ancak klorla yıkanan örneklerde ise 7. ve 10. günler arasında tez çalışmasında elde edilen sonuçlara benzer şekilde artış görülmüştür.

4.2.2. pH ve Titrasyon Asitliği

Depolama süresinde marul örneklerinin pH değerleri Çizelge 4.2’de, Şekil 4.6, istatistiksel analiz sonuçları Ek A.2’de verilmiştir.

Uygulama sonrası başlangıç pH değeri A grubu örnekte 5,29 ile en yüksek değeri alırken, B, C, D grubu örneklerin pH değerleri sırasıyla 5,55; 5,01 ve 4,76 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.6. Marul örneklerin pH değerleri değişimi

Depolamanın 1. ve 4. günlerinde A ve B gruplarının pH değerleri artmaya devam ederken, C ve D gruplarına ait örneklerin pH değerlerindeki değişim sınırlıdır.

Örneklerin pH değerlerinde 7 günlük depolama boyunca değişimler görülürken, tüm grupların pH değerlerinin başlangıca göre arttığı saptanmıştır, ancak bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Ek A.2). Depolama süresince başlangıca göre en fazla pH değişimi %21,21 artış ile D grubuna ait örneklerde görülmüştür. Depolama sonunda ise tüm örneklerin pH değerleri birbirine yakın değerlerdedir.

Elde edilen sonuçlarda A grubunun 0. gün pH değeri diğer grupların 0. gün değerlerinden daha yüksektir. A grubunda görülen bu farklılığın diğer gruplara uygulanan kaplamadan ve kullanılan antimikrobiyallerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ancak depolama sonunda grupların pH değerleri belirgin farklılık göstermemektedir.

Hassenberg ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada elde edilen pH değişimleri ile çalışmamızda saptanan değişimler uyum göstermektedir. Bu çalışmada 0. gün çeşme suyu ile yıkanan marullarda pH değeri 6,11 iken 6. günün sonunda değer 6,39 olarak bulunmuştur. Örneklerde depolama süresinde oluşan değişimlerin üretim metodundaki değişimlerden kaynaklanabileceği belirtilmektedir.

King ve arkadaşları (1991) yaptıkları çalışmada 5°C’da depolanan kesilmiş marul örneklerinde pH değerinin depolama süresi sonunda başlangıca göre artış gösterdiği belirtmişlerdir.

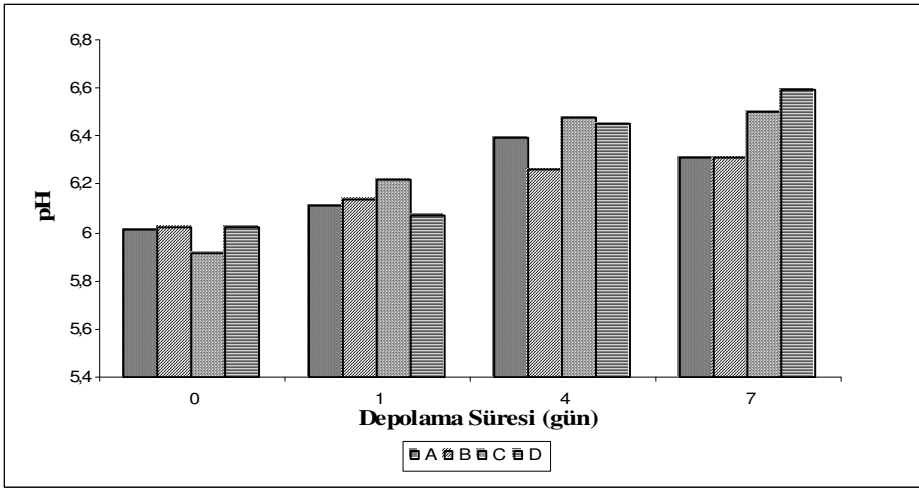
Allende ve arkadaşları (2004), modifiye atmosfer ortamında 5°C’da 7 gün depolanan marulların pH değerinin 6,0-6,3 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Martin-Diana ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (2006), farklı konsantrasyonlarda peynir altı suyu protein konsantresi ile muamele edilerek 4°C’da 10 gün depolanan kesilmiş marulların pH

değeri depolama boyunca artış gösterdiği saptanmıştır. Ortamdaki mikrobiyal yük ve üretim tekniğinin etkisi ile pH değerinin depolama süresince arttığı belirtilmiştir.

Depolama süresinde salatalığa ait pH değerleri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.7’de, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi marul örneklerinden farklı olarak, salatalık örneklerinin A, B ve D gruplarının başlangıç pH değerleri 6,02 olarak bulunurken C grubunda bu değer 5,91 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.7. Salatalık örneklerinin pH değerleri değişimi

Depolama süresince A grubu dışındaki grupların pH değerlerinde artış görülürken, A grubunda 7. günde bir azalma saptanmıştır. Depolama süresince elde edilen pH değerleri marul örneklerinde en yüksek 6,1 bulunurken, salatalık örneklerinde en yüksek değer 6,6 olarak saptanmıştır. pH değerindeki yükselmenin mikrobiyal üremenin bir

göstergesi (King ve ark., 1991; Temiz, 1999) olduğu düşünüldüğünde, 7 günlük depolama süresi sonunda salatalık örneklerinin, marul örneklerine kıyasla bozulmaya eğilimli oldukları düşünülmektedir.

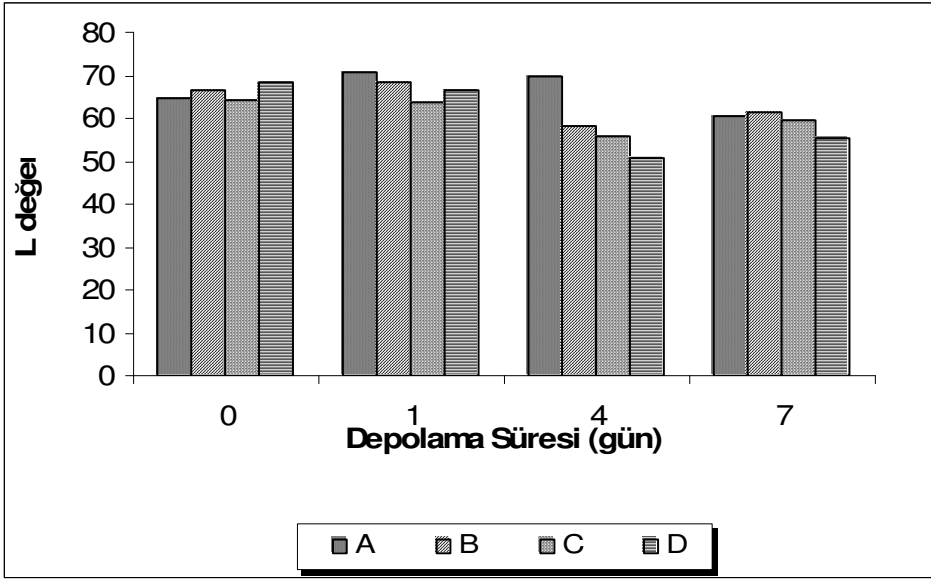
Salatalık ve marullar için depolama boyunca saptanan pH değişimleri literatürdeki değerler ile benzerlik göstermektedir (Hassenberg ve Idler, 2005). Ancak elde edilen pH değerlerinde yıkamada kullanılan yöntem, analiz günleri arasındaki fark ve kaplama işlemlerinde kullanılan antimikrobiyalardan kaynaklanabilecek farklılıklar bulunmaktadır.

Depolama süresinde marul ve salatalık örneklerine ait asitlik değerleri sırasıyla Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te, istatistiksel analiz sonuçları Ek A.3 ve Ek B.3'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

4.2.3. Renk

Marula ait renk değerleri Çizelge 4.2 ile Şekil 4.8, 4.9 4.10'da; istatistiksel analiz sonuçları Ek A.4, A.5, A.6, A.7'de verilmiştir.

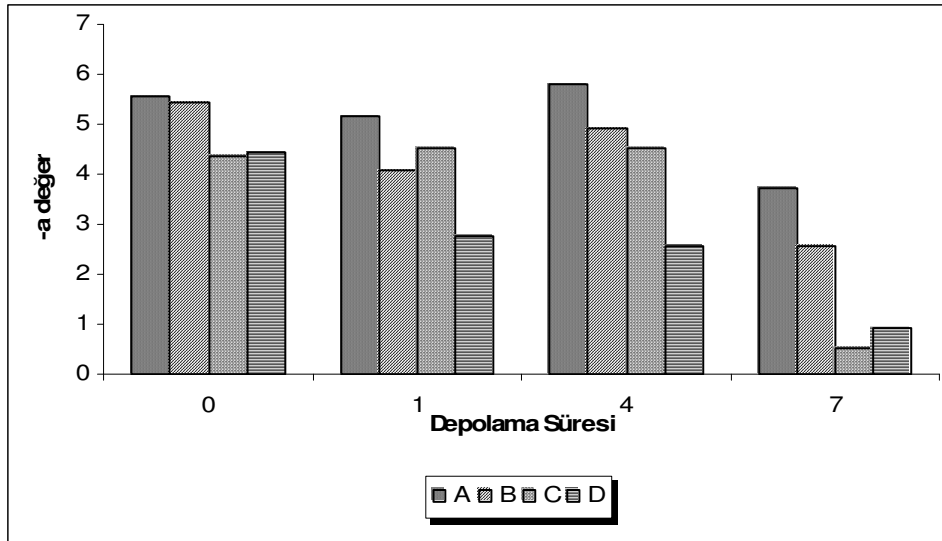
Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, A, B, C ve D grubuna ait örneklerde başlangıç L değerleri sırasıyla 64,69; 66,31; 64,34 ve 68,32 olarak bulunmuştur. Örneklerle ait renk ölçümünde 0. gün L değerlerinin birbirine yakın olduğu, bununla birlikte aydınlık değeri en yüksek grubun D grubu örneklerle ait olduğu saptanmıştır. Buna göre kaplamanın örneklerin parlaklığı üzerinde az da olsa olumlu bir etkisi olduğu söylenebilir.



Şekil 4.8. Marul örneklerinin L değerleri değişimi

Depolama boyunca örneklerin L değeri değişimleri belirgin değildir ve istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamıştır (Ek A.4). Örneklerin depolamanın başlangıç ve son günlerinde çekilen fotoğrafları Ek C1’de verilmiştir. Depolamanın başlangıcında A ve B grupları ile C ve D gruplarının (a) değerleri birbirine yakındır. Depolama süresince (a) değeri tüm gruplarda azalma göstermiş, bu azalma başlangıca göre en fazla C ve D grubu örneklerde depolamanın 7. günü sonunda sırasıyla % 7,3 ve %8,80 olmuştur. (a) değerindeki bu değişim gruplar ve depolama süreleri arasında istatistiksel olarak ($p<0,05$) anlamlı bulunmuştur (Ek A.4).

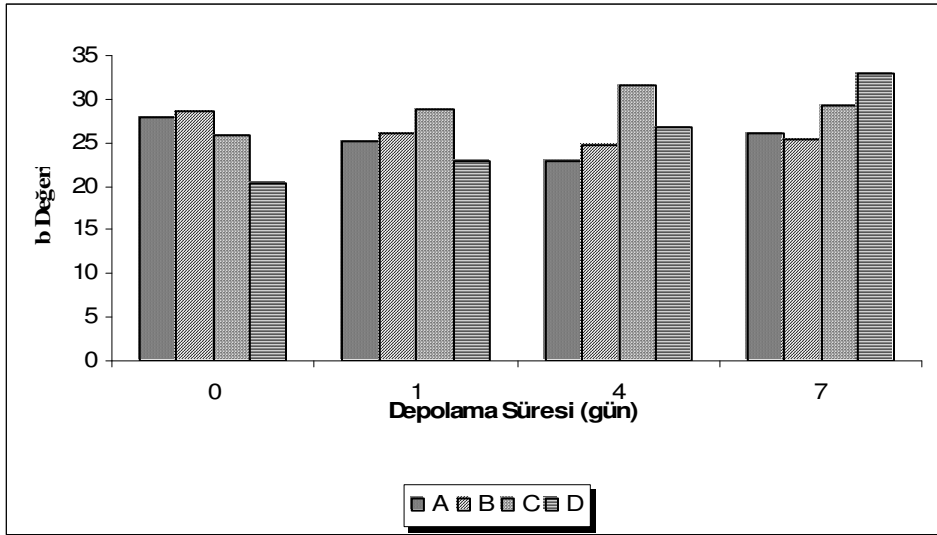
Depolama süresince (a) değeriindeki artış, yeşil renkteki azalmayı ifade etmektedir. Depolama sonunda (a) değeri bakımından en kötü örnekler C ve D grubu örnekleri iken en yüksek (a) değeri A grubu örneklerden elde edilmiştir. (a) değerlerinde istatistiksel olarak da gruplar arasında $p \leq 0,05$ düzeyinde farklılık bulunmuştur. Örneklerin hunter (a) değerleri açısından A ve B grubu örnekler istatistiksel açıdan birbirinden farklı bulunmazken, C grubu örnekleri A grubundan farklı olarak değerlendirilmiştir. D grubu örneklerin ise C grubu örneklerinden farksız, A ve B grubu örneklerden farklı olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.9. Marul örneklerinin (a) değeri değişimi

Marul örneklerinin (b) değeri ise birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Başlangıca göre en fazla artış D grubu örneklerde saptanmıştır. (b) değeriindeki bu artış örnek yüzeyinde bir esmerleşmeyi de ifade etmektedir. Ancak depolama boyunca saptanan artışlarda istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Başlangıca göre renk değişimini ifade eden ΔE ve ΔC değerlerinde de (a) ve (b) değerlerine benzer sonuçlar

tespit edilmiştir. Başlangıca göre en fazla renk değişimi C ve D gruplarına ait örneklerde görülürken, A ve B grubu örneklerde başlangıca göre değişim en azdır. Analiz sonuçlarına göre C ve D grubu örneklerdeki değişim fazla olmasına rağmen, istatistiksel olarak renk değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Ek A.7 ve A.8)



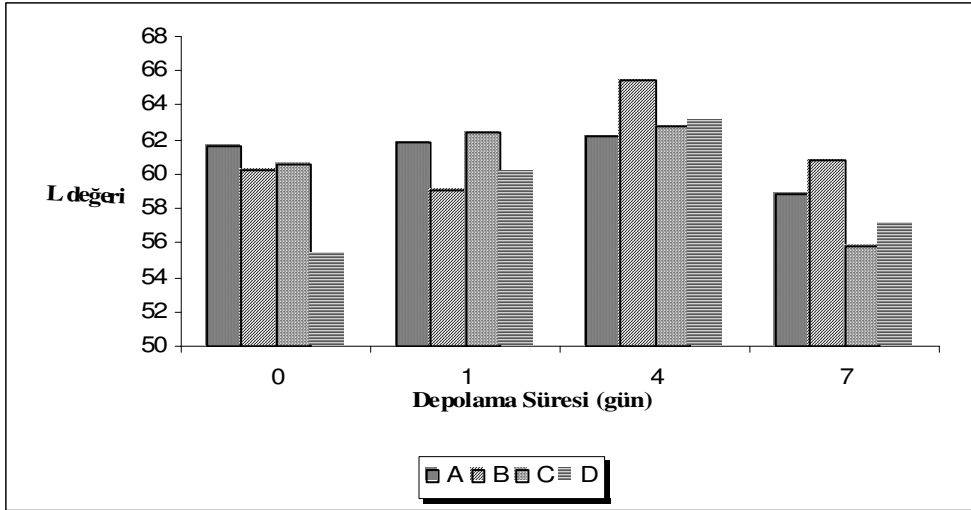
Şekil 4.10. Marul örneklerinin (b) değerleri değişimi

Depolama süresince (a), (b), ΔE ve ΔC değerlerindeki değişim sonuçlarına göre, en fazla değişim antimikrobiyal içeren C ve D gruplarında görüldüğünden, antimikrobiyal madde ve kaplama uygulamasının örneklerin renk değerleri üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Baur ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda peynir altı suyu proteini ile muamele edilerek, +4°C’da depolanan taze kesilmiş marul örneklerinde, depolama süresince

L değeriindeki azalmanın belirgin olduğunu, başlangıçta yaklaşık 67 olan L değerinin, depolama sonunda 63 olduğunu tespit etmişlerdir. Saptanan bu L değerleri ile literatürde bulunan değerlerin birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Baur ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada %0,5 konsantrasyondaki peynir altı suyu ile muamele edilen örneklerin L değeri değişimi en az ve depolama sonu L değeri en yüksektir; %3 konsantrasyondaki peynir altı suyu ile muamele edilen örneklerin L değeri ise en düşük olarak bulunmuştur. Aynı şekilde %0,5 peynir altı suyu ile muamele edilen örneklerin renk değişimleri de diğer örneklerle oranla daha düşük olarak bulunmuştur.

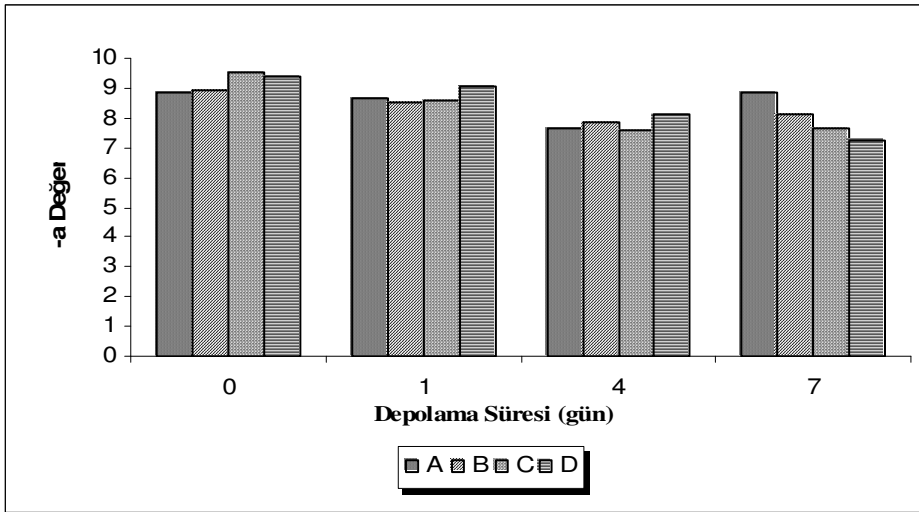
Salatalığa ait renk değerleri Çizelge 4.3 ile Şekil 4.11, 4.12 ve 4.13'te, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.4, B.5, B.6, B.7'de verilmiştir.



Şekil 4.11.Salatalık örneklerinin L değerleri değişimi

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, A, B, C ve D grubuna ait örneklerde başlangıç L değerleri sırasıyla 61,67; 60,23; 60,59 ve 55,37 olarak bulunmuştur. Örneklerle ait renk ölçümünde 0. gün L değerlerinin

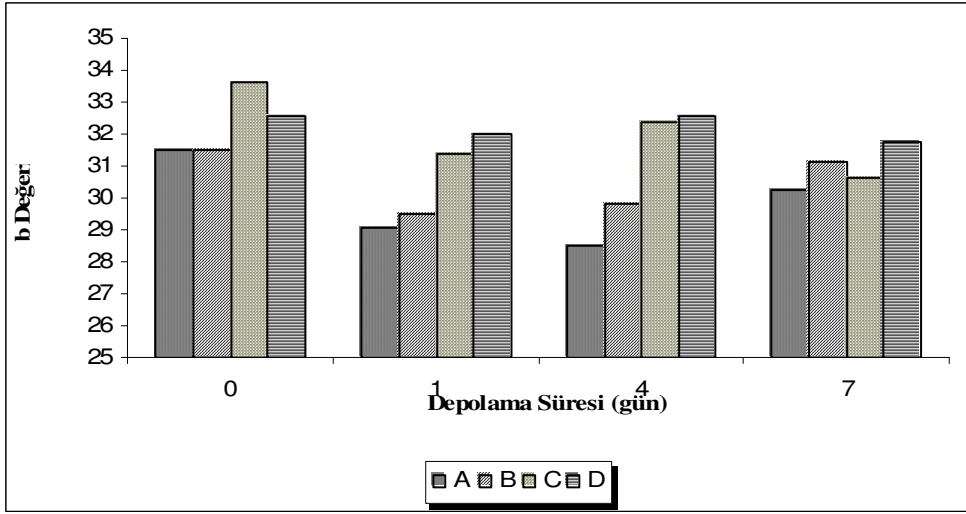
birbirine yakın olduğu, bununla birlikte aydınlık değeri en düşük grubun D grubu örnekler için olduğu saptanmıştır. Depolama boyunca örneklerin L değeri değişimleri belirgin değildir; bu değerlerde istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamıştır (Ek B.4). Örneklerin depolamanın başlangıç ve son günlerinde çekilen fotoğrafları Ek C2’de verilmiştir.



Şekil 4.12.Salatalık örneklerinin (a) değerleri değişimi

Depolama süresince salatalık örneklerinin (a) değerinin değişimi marul örneklerinden daha az olmuştur. Depolama süresinin başlangıcında en yüksek (a) değerleri C ve D grubu örnekler için, depolamanın 7. gününde (a) değeri bakımından en kötü örnekler yine marul örneklerinde olduğu gibi C ve D grubu örnekler için, Depolama süresince (a) değerindeki en yüksek değişim C ve D gruplarında saptanırken; başlangıça oranla en fazla azalma % 23 ile D grubuna aittir. Depolama sonunda en yüksek (a) değeri A grubu örneklerde ölçülmüştür. Depolama sonunda en düşük (a) değerleri C ve D gruplarında saptansa da, bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Ek B.5).

Salatalık örneklerinin (b) değerleri de marul örneklerinde benzer şekilde için birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Ancak bu örneklerin (b) değerlerinde azalma saptanmış, başlangıca göre en büyük farkın %9 ile C grubuna ait olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.13. Salatalık örneklerinin (b) değerleri değişimi

Depolamadaki renk değişimini gösteren ΔE ve ΔC değerlerinde başlangıca göre en fazla renk değişimi A ve B gruplarına ait örneklerde görülürken, D grubu örneklerde başlangıca göre değişim en azdır. Analiz sonuçlarına göre A ve B grubu örneklerdeki değişim fazla olmasına rağmen, istatistiksel olarak renk değerleri açısından gruplar arasında marul örneklerinde olduğu gibi anlamlı bir fark bulunamamıştır (Ek B.7 ve B.8).

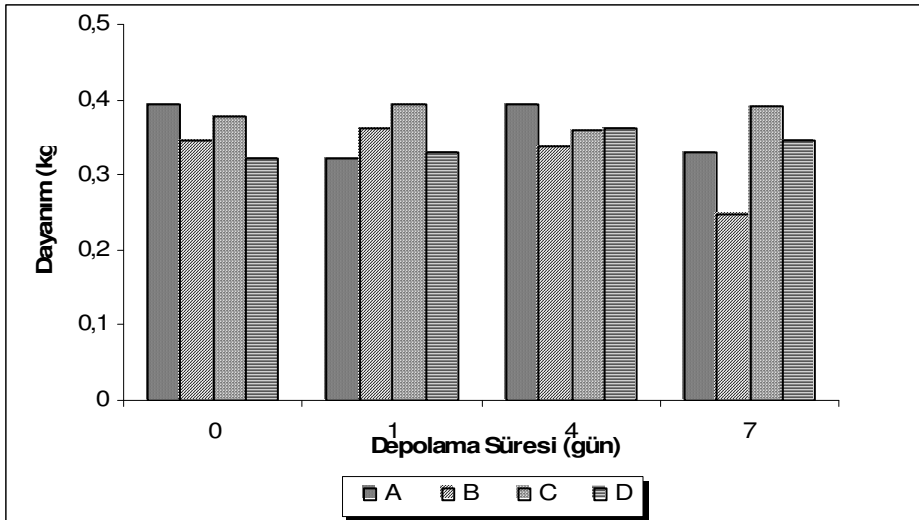
Marul ve salatalıkların renk değerleri genel olarak değerlendirildiğinde, örneklerin renk değerleri üzerine pullulan ve antimikrobiyal içeren pullulan film uygulamanın olumsuz bir etki yarattığı düşünülebilir. Ancak bu etki örneklerin renk değerlerinden de

görüldüğü gibi materyale göre farklılık göstermektedir. Ayrıca depolamanın 4. gününden sonra artan kararmanın, ürünlerde devam eden solunum sonucu ortaya çıkan fenolik bileşikler ile solunum metabolitleri tarafından aktif hale getirilen polifenoloksidaz (PPO) enziminin aktivitesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Marullarda aktif formdaki PPO enziminin latent formdaki enzime oranının 2:1 olduğu belirtilmiştir (Cemeroğlu ve ark., 2001).

4.2.4. Doku Sertliği

Depolama sürecinde marula ait doku değişimleri Çizelge 4.2 ile Şekil 4.14'te, istatistiksel analiz sonuçları Ek A.9'da görülmektedir.

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, A, B, C ve D grubuna ait örneklerde başlangıç sertlik değerleri sırasıyla 0,39; 0,35; 0,32, 0,38 olarak birbirine yakın olarak belirlenmiştir.



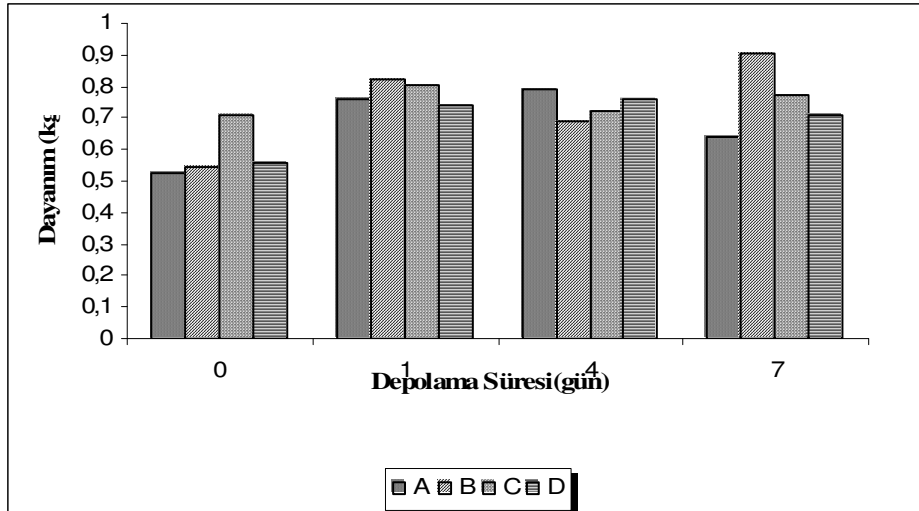
Şekil 4.14. Marul örneklerinin doku sertliği değişimleri

Depolama süresince A ve B grubuna ait örneklerin doku sertliği değerleri azalırken, C ve D grubu örneklerde artış görülmektedir. Depolama sonunda doku sertliği değerinde en fazla azalma % 23 olarak B grubunda saptanmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel açıdan bir farklılık bulunmamıştır.

Salatalığa ait doku sertliği değerleri Çizelge 4.3 ile Şekil 4.17’de, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.3’te görüldüğü gibi, A, B, C ve D grubuna ait örneklerde başlangıç sertlik değerleri sırasıyla 0,53; 0,54; 0,71; 0,56 olarak saptanmıştır.

Depolama süresince tüm grupların doku sertliği değerleri değişim gösterdiği ve depolama sonunda başlangıca göre arttığı belirlenmiştir. Doku sertliği değeri değişimleri gruplar arasında ($p<0,05$) gruplar anlamlı fark taşımaktadır (Ek B.9).



Şekil 4.15 Salatalık örneklerinin doku sertliği değişimleri

Örneklerin doku sertliği değerlerinin başlangıca göre artış göstermesinin, depolamaki nem kaybından ayrıca ortamdaki Ca^{+2} ile pektinmetilesteraz enziminin oluşturduğu bağlara bağlı olabileceği düşünülmektedir.

4.3. Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizlerde örneklerde saptanan toplam canlı, maya-küf, koliform ve LAB sayımı hesaplamalarında 30-300 arasında koloni gelişen petriler kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçları paralel petrilerden elde edilen ortalama mikroorganizma sayısının logaritması alınarak CFU/g olarak verilmiştir.

Çizelge 4.4 Depolama sürecinde marul örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Grup	Gün	Toplam Canlı CFU/g	Koliform CFU/g	Maya-Küf CFU/g
A	0	$4,3 \cdot 10^{3a}$	$5,5 \cdot 10^{2b}$	-
	1	$4,2 \cdot 10^{5a}$	$1,3 \cdot 10^{4b}$	-
	4	$2,9 \cdot 10^{6a}$	$3,5 \cdot 10^{6b}$	-
	7	$3,9 \cdot 10^{6a}$	$0,7 \cdot 10^{6b}$	-
B	0	$4,5 \cdot 10^{4a}$	$7,4 \cdot 10^{2b}$	-
	1	$5,0 \cdot 10^{5a}$	$1,7 \cdot 10^{4b}$	-
	4	$1,9 \cdot 10^{7a}$	$0,6 \cdot 10^{6b}$	-
	7	$5,5 \cdot 10^{7a}$	$2,4 \cdot 10^{7b}$	-
C	0	$4,0 \cdot 10^{3b}$	<10	-
	1	$2,6 \cdot 10^{3b}$	$1,0 \cdot 10^{1a}$	-
	4	$2,3 \cdot 10^{4b}$	$8,0 \cdot 10^{2a}$	-
	7	$1,6 \cdot 10^{4b}$	$4,1 \cdot 10^{3a}$	-
D	0	$1,6 \cdot 10^{2b}$	<10	-
	1	$5,8 \cdot 10^{3b}$	$7,0 \cdot 10^{1a}$	-
	4	$3,6 \cdot 10^{4b}$	$1,6 \cdot 10^{3a}$	-
	7	$1,7 \cdot 10^{4b}$	$3,5 \cdot 10^{3a}$	-

Çizelge 4.5 Depolama sürecinde salatalık örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Grup	Gün	Toplam Canlı CFU/g	Koliform CFU/g	LAB CFU/g	Maya*Küf CFU/g
A Grubu	0	$2,25 \cdot 10^{3a}$	$2,0 \cdot 10^{2a}$	$6,5 \cdot 10^{1a}$	-
	1	$6,0 \cdot 10^{3a}$	$1,7 \cdot 10^{2a}$	$1,5 \cdot 10^{1a}$	$1,0 \cdot 10^{1a}$
	4	$1,01 \cdot 10^{6a}$	$1,45 \cdot 10^{4a}$	$3,0 \cdot 10^{1a}$	-
	7	$1,64 \cdot 10^{8a}$	$1,36 \cdot 10^{7a}$	$1,1 \cdot 10^{2a}$	-
B Grubu	0	$4,7 \cdot 10^{3a}$	$3,5 \cdot 10^{1a}$	$3,0 \cdot 10^{1a}$	-
	1	$1,5 \cdot 10^{4a}$	$4,75 \cdot 10^{2a}$	$1,0 \cdot 10^{1a}$	-
	4	$3,3 \cdot 10^{6a}$	$6,8 \cdot 10^{5a}$	$9,0 \cdot 10^{1a}$	-
	7	$9,65 \cdot 10^{7a}$	$1,25 \cdot 10^{7a}$	$5,63 \cdot 10^{4a}$	-
C Grubu	0	$2,25 \cdot 10^{3a}$	<10	$3,0 \cdot 10^{1a}$	$1,0 \cdot 10^{1a}$
	1	$2,75 \cdot 10^{3a}$	$2,45 \cdot 10^{2a}$	$2,5 \cdot 10^{1a}$	-
	4	$1,2 \cdot 10^{7a}$	$6,6 \cdot 10^{5a}$	$1,0 \cdot 10^{2a}$	-
	7	$2,14 \cdot 10^{8a}$	$1,1 \cdot 10^{7a}$	$2,56 \cdot 10^{4a}$	-
D Grubu	0	$5,90 \cdot 10^{2a}$	<10	$2,5 \cdot 10^{1a}$	-
	1	$6,8 \cdot 10^{3a}$	$5,45 \cdot 10^{2a}$	<10	$1,0 \cdot 10^{1a}$
	4	$1,66 \cdot 10^{6a}$	$5,2 \cdot 10^{4a}$	<10	-
	7	$3,56 \cdot 10^{8a}$	$6,08 \cdot 10^{7a}$	$1,5 \cdot 10^{2a}$	-

4.3.1. Toplam Canlı Sayısı

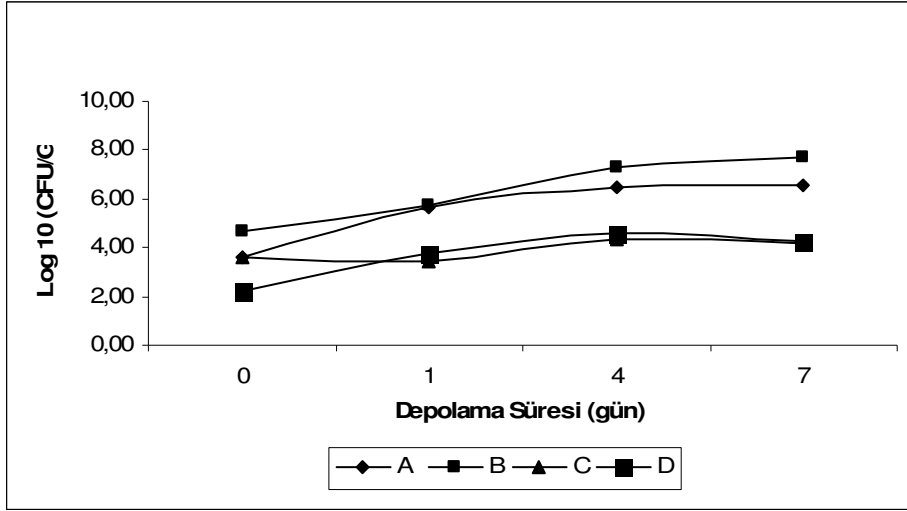
Depolama süresinde marul örneklerinin ait toplam canlı sayıları Çizelge 4.4’de, Şekil 4.16’da, istatistiksel analiz sonuçları Ek 10.A’da verilmiştir.

Çizelge 4.4’te görüldüğü gibi A, B, C ve D gruplarında başlangıç mikroorganizma yükü sırasıyla $4,3 \cdot 10^3$, $4,5 \cdot 10^4$, $4,0 \cdot 10^3$, $1,6 \cdot 10^2$ CFU/g iken, depolama süresi sonunda sırasıyla $3,9 \cdot 10^6$, $5,5 \cdot 10^7$, $1,6 \cdot 10^4$ ve $1,7 \cdot 10^4$ CFU/g olarak saptanmıştır. C grubu örneklerde başlangıç mikroorganizma yükü 10^1 logaritmik birim azalma gösterirken, yalnızca A ve B grubu örneklerin başlangıç mikroorganizma yükü arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Depolamanın 4. ve 7. günlerinde antimikrobiyal içeren gruplar yalnızca 10^1 logaritmik birim artış gösterirken, kontrol grubu ile pullulan ile kaplanan gruplarda başlangıç mikrobiyal yüke göre 10^3 ünitedir.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda depolama süresi ve grupların toplam canlı sayısındaki fark belirgindir ($p < 0,05$). Buna göre depolamada 0. ve 1. günü, 4. ve 7. günden farklılık göstermektedir. Toplam canlı sayısı açısından A ve B grubu örnekler arasında belirgin bir farklılık gözlenmezken ($p < 0,05$), bu gruplara ait örneklerin toplam canlı sayıları C veya D grubu örneklerin toplam canlı sayılardan daha fazla bulunmuştur ($p < 0,05$).

Lopez-Galvez (1997), 5°C ’da depolanan tüketime hazır iceberg marullardaki başlangıç mikrobiyal yükün, 10 günlük depolama süresinin sonunda 5 logaritmik üniteden 7 logaritmik üniteye artış gösterdiğini saptamışlardır.

Pingulkar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2001), marketten temin edilip, çeşme suyu ile yıkanan marullarda başlangıç anında mikrobiyal yükün $1,8 \cdot 10^6$ olduğunu belirlemişlerdir.



Şekil 4.16. Marul örneklerinin toplam canlı sayıları

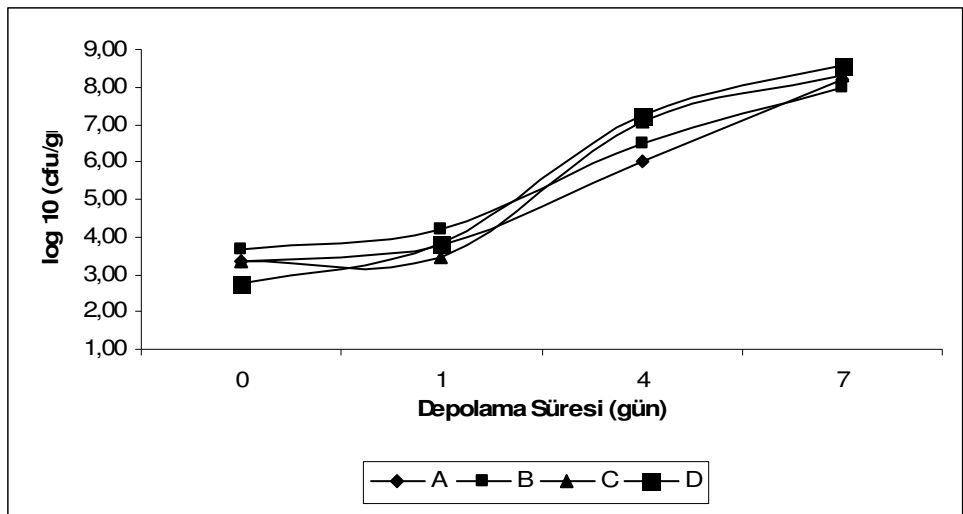
Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2001), 20°C’da klorlu su ile yıkanan, 5°C’da depolanan kesilmiş marul örneklerinde başlangıç anında toplam canlı sayısı 5,13 log CFU/g, depolamanın 18. gününde ise 10,13 log₁₀ CFU/g olarak tespit edilmiştir.

Baur ve arkadaşları (2005), çeşme suyu ile yıkanıp kesilmiş marullarda, depolamanın 0. gününde toplam canlı sayısının 4-5 log₁₀ CFU/g, 5. günde 5-6 log₁₀ CFU/g, 7. günde ise 6 log₁₀ CFU/g olarak tespit etmişlerdir.

Hassenberg ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, çeşme suyu ile yıkanan örneklerin toplam canlı sayısı $3,7 \cdot 10^4$ CFU/g olarak belirlenmiştir. 6°C’da 6 gün depolanma sonunda, örneklerde belirlenen mikrobiyal yük ise $1,5 \cdot 10^8$ CFU/g’dır. Yapılan çalışmalarda marul örneklerine ait toplam canlı sayısı 10^4 - 10^8 arasına değişirken, tez çalışmamızda A grubu örneklerin toplam canlı sayısı $4,3 \cdot 10^3$ ünite

antimikrobiyal içeren C ve D gruplarında ise sırasıyla $4,0 \cdot 10^3$ ve $1,6 \cdot 10^2$ olarak saptanmıştır. Ayrıca depolama sonunda toplam canlı sayısı 10^7 CFU/g düzeyini geçmemiştir.

Salatalık örneklerinin ait toplam canlı sayıları Çizelge 4.5’de, Şekil 4.17’de, istatistiksel analiz sonuçları Ek 10.B’de verilmiştir.



Şekil 4.17.Salatalık örneklerinin toplam canlı sayıları

Çizelge 4.5’te görüldüğü gibi A, B, C ve D gruplarında başlangıç mikroorganizma yükü sırasıyla $2,3 \cdot 10^3$; $4,7 \cdot 10^3$; $2,3 \cdot 10^3$; $5,9 \cdot 10^2$ CFU/g iken, depolama süresi sonunda sırasıyla $1,64 \cdot 10^8$; $9,65 \cdot 10^7$; $2,14 \cdot 10^8$ ve $3,56 \cdot 10^8$ CFU/g olarak belirlenmiştir.

Depolamanın 1. gününde A ve C grubuna ait örneklerde toplam canlı sayısı 10^3 logaritmik birimde sabit kalırken, B ve D gruplarında 10^1 logaritmik birim artış görülmüştür. Ancak gruplar arasındaki en fazla

artış 1. gün ile 4. gün arasında saptanmıştır; istatistiksel olarak depolama süreleri arasındaki fark belirgindir ($p<0,05$) (Ek 10.B).

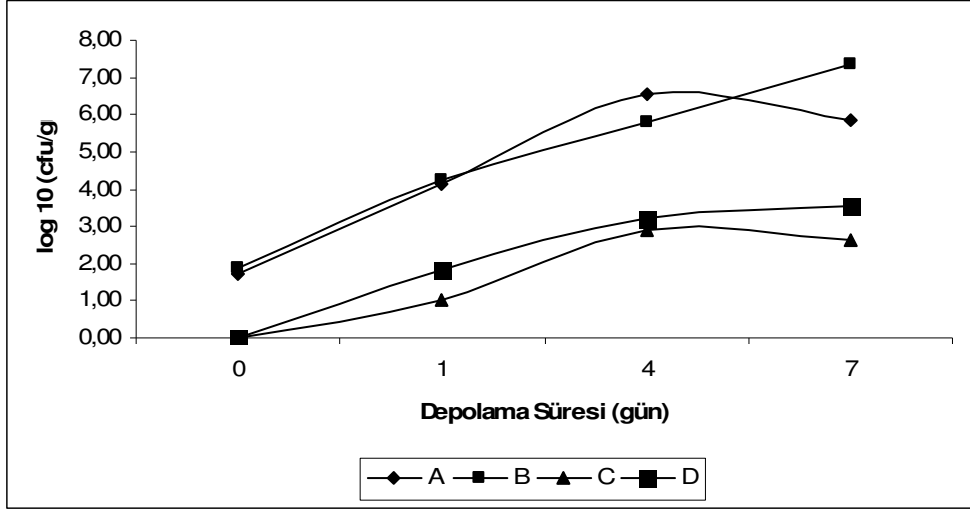
Depolamanın son gününde ise B grubu toplam canlı sayısı 10^7 , A, C, D gruplarının toplam canlı sayıları ise 10^8 logaritmik ünite olmuştur.

4.3.2. Koliform Sayısı

Depolama süresinde marul örneklerinin ait koliform sayıları Çizelge 4.4’de, Şekil 4.18’de, istatistiksel analiz sonuçları Ek A.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.4’te görüldüğü gibi A ve B gruplarında koliform sayısı 10^2 birimden başlayarak 1. ve 4 günlerde artmış, 7. günde sırasıyla $0,7 \cdot 10^6$ ve $2,4 \cdot 10^7$ CFU/g olarak tespit edilmiştir. C ve D gruplarında 0. günde koliform tespit edilmezken, 1. günde koliform sayısı her iki grupta da 100’den küçüktür. 4. ve 7. günlerde bu gruplarda tespit edilen koliform sayısı 10^3 CFU/g İstatistiksel olarak hem gruplar hem de depolama süreleri arasında $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bir fark bulunmaktadır. A ve B grubu koliform sayısı C ve D gruplarından farklılık göstermektedir. Depolama süresinde ise 0. ve 1. günler, 4 ve 7. günlerden farklılık göstermektedir. 0. ve 1. günler arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Gruplarda tespit edilen koliform sayısı da toplam canlı sayısında olduğu gibi antimikrobiyal içeren C ve D gruplarında, A ve B gruplarından sırasıyla 10^3 - 10^4 CFU/g azdır. Ayrıca antimikrobiyal içeren gruplarda üreme hızının yavaş olması da antimikrobiyal maddelerin etkinliğini göstermektedir.

Modifiye atmosferde $+5^\circ\text{C}$ ’da depolanan tüketime hazır ‘Lotto Rosso’ tipi marullarda, 7. gün sonunda koliform sayısının 6 log. CFU/g düzeyine yükseldiği belirtilmektedir (Allende ve ark., 2004).



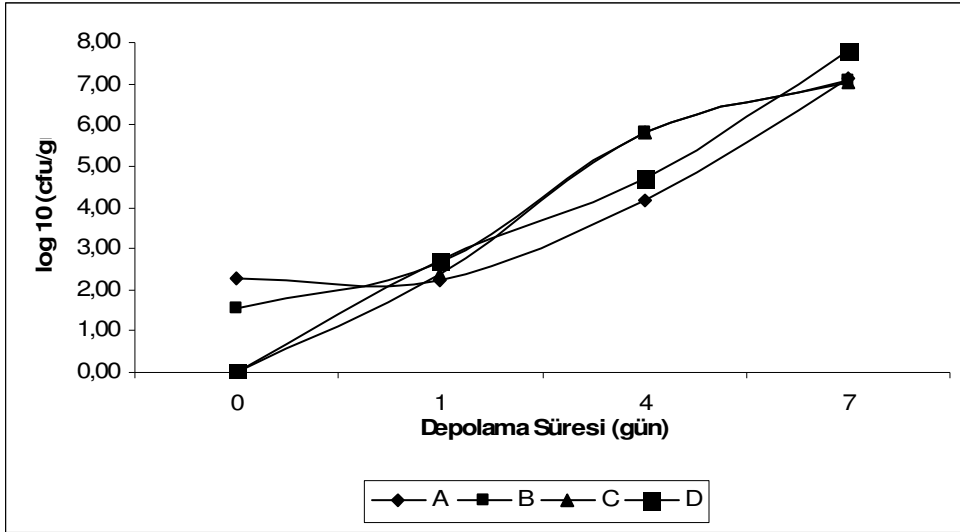
Şekil 4.18. Marul örneklerinin koliform sayıları

Hassenberg ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, çeşme suyu ile yıkanan örneklerde koliform sayısı $8,0 \cdot 10^3$ CFU/g olarak bulunmuştur. $+6^\circ\text{C}$ 'da 6 gün depolama sonunda belirlenen koliform sayısı ise $3,6 \cdot 10^5$ CFU/g'dır. Antimikrobiyal kullanılan C ve D gruplarında koliform sayısı ise depolama sonunda 10^3 CFU/g olarak belirlenmiştir.

Depolama süresinde salatalık örneklerinin ait koliform sayıları Çizelge 4.5'de, Şekil 4.20'de, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.11'de verilmiştir.

Çizelgeye göre 0. gün koliform sayısı, A ve B gruplarında 100'den küçük, C ve D gruplarında 10'dan küçüktür. Depolamanın 7. gününde ise tüm grularda 10^7 birime yükselmiştir. Gruplarda antimikrobiyal etkinlik ilk 4 günde görülmektedir. 4. günden sonra azalan etkinin artan

mikrobiyolojik yük ve metabolik etkinlikten kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.20. Salatalık örneklerinin koliform sayıları

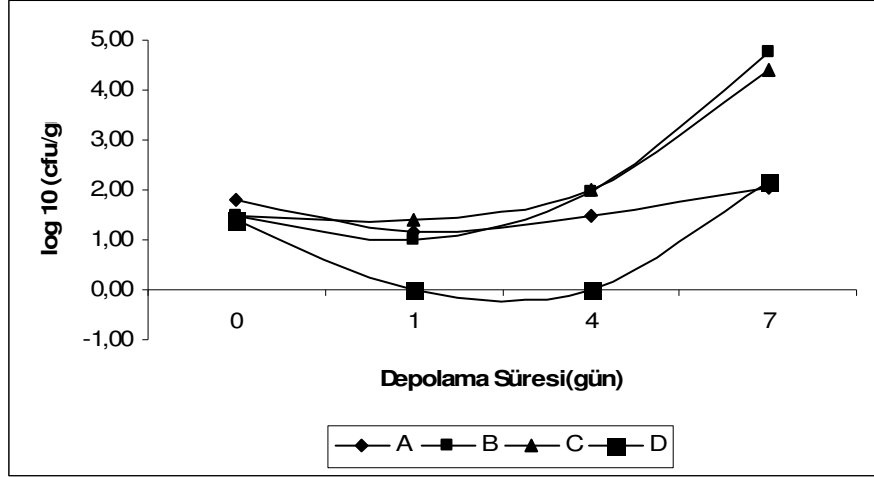
Farklı çalışmalarda elde edilen sonuçlarda, tüketime hazır salatalarda koliform sayısının örneklerin %60'ında 10 - 10^2 CFU/g'dan küçük olması gerektiği belirtilmektedir (Nguyen ve Carlin, 1994).

4.3.3. Laktik Asit Bakterisi Sayısı

Salatalık örneklerinin laktik asit bakterisi sayıları Çizelge 4.5'de, Şekil 4.20'de, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi tüm gruplarında laktik asit bakterisi (LAB) sayısı 0. günde 10^1 CFU/g olarak tespit edilmiştir. B ve C gruplarında 7. gün LAB sayısı 10^4 CFU/g olurken, A ve D gruplarında 10^2 CFU/g olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak günler arasında

anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$). 0, 1., 4. günler istatistiksel olarak 7. günden farklılık göstermektedir.



Şekil 4.20. Salatalık örneklerinin laktik asit bakterisi sayıları

Garcia-Gimeno ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (1997), marul (%75), havuç (%15), lahanadan (%5) oluşturularak polipropilen film ile kaplanan örneklerde başlangıç LAB sayısı $8 \cdot 10^2$ CFU/g, 4°C’da 216 saatlik depolama sonunda ise 10^5 CFU/g olarak saptamışlardır. Bu çalışmada 7. gün sonunda tespit edilebilen LAB sayısı en fazla 10^4 CFU/g olmuştur. Laktik asit bakterisinin ortamdaki artışı, ambalaj içindeki CO₂ konsantrasyonundaki artışa bağlanmaktadır.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2001), hem 50°C’da klorlu suya daldırılıp, 5°C’da depolanan işlem gören kesilmiş marul örneklerinde hem de kontrol örneklerinde LAB sayısı 1-100 CFU/g değişmiştir.

Martin-Diana ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (2006), farklı konsantrasyonlarda peynir altı suyu protein konsantresi ile

muamele edilerek 4°C’da 10 gün depolanan kesilmiş marullarda %3 peynir altı suyu protein konsantresi ile muamele edilen örneklerde laktik asit bakterisi 4,5 log CFU/g olarak bildirilmiştir.

4.3.4. Küf-Maya Sayısı

Marul örneklerinin inkübasyonu sonunda petrilere küf ve maya saptanmamıştır.

Salatalık örneklerinin küf,maya sayıları Çizelge 4.5’de, istatistiksel analiz sonuçları Ek B.12’de verilmiştir.

Çizelgede görüldüğü gibi A, B, C gruplarında 0. günün dışında küf görülmezken, D grubunda 1., 4. ve 7. günlerde küfe rastlanmıştır. Ancak bu $1,0 \cdot 10^1$ CFU/g düzeyindedir. İstatistiksel olarak süre ve gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde bir farklılık bulunmamaktadır. Marul ve salatalık örneklerinde maya küf bulunmaması veya $1,0 \cdot 10^1$ CFU/g gibi düşük bir düzeyinde olmasının, marul ve salatalığın yetiştirilme koşullarından veya küf-mayanın diğer mikroorganizmalar tarafından baskılanmış olabileceği kaynaklandığı düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlar Garcia-Gimeno ve arkadaşları (1997) ile Garg ve ark. (1990)’da elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Garcia-Gimeno ve ark. (1997) 196 saat 4°C’da depolamanın ardından marul-lahana-havuç karışım salatada küfe rastlamamışlardır. Garg ve ark. (1990) az sayıda küf bulunmuştur.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2001), 20°C’da klorlu su ile yıkanan, 5°C’da depolanan kesilmiş marul örneklerinde küf-maya sayısı 18 günlük depolama boyunca artarak, depolama sonunda 6,90 log₁₀ CFU/g olarak belirlenmiştir. Kontrol örneklerinde küf-maya

sayısı 0. gün işlem görmüş örneklere oranla daha fazla iken depolama sonunda iki grup arasında belirgin bir fark saptanmamıştır.

Tournas (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, restoranların salata barlarından alınan kesilmiş marul örneklerinde küf-maya sayısı $1,6 \cdot 10^3$ CFU/g, kesilmiş salatalıklarda $1,7 \cdot 10^4$ CFU/g olarak bulunmuştur. Tespit edilen sayıların 10^3 - 10^4 CFU/g aralığında değiştiği, bunun nedeninin taze kesilmiş olan örneklerde küfün hücrelere yerleşecek zamanı bulamamasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Ayrıca bu tip gıdalarda küf gelişiminin doğrama, paketlenme ve bu aşamada personel ile temasla oluşabileceği vurgulanmıştır.

5. GENEL SONUÇ VE ÖNERİLER

Hazır salata ürünlerinden keşilmiş marul ve salatalağın raf ömrü ve kalite kriterleri üzerine lizozim içeren pullulan filmin etkilerinin belirlenmeye çalışıldığı bu çalışmada, bir kaplama materyali olan pullulan ile doğal bir antimikrobiyal olan lizozim üretimi gerçekleştirilmiştir. Pullulandan oluşturulan film içerisindeki lizozimin antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Son aşamada ise keşilmiş marul ve salatalağın raf ömrü ve kalite kriterleri üzerine lizozim içeren pullulan filmin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla kontrol grubu (A), pullulan (B), disodyum EDTA.2H₂O içeren pullulan (C) ve disodyum EDTA.2H₂O, lizozim içeren pullulan film (D) olarak 4 farklı grup oluşturulmuştur. 4 farklı grubun kalite özellikleri yapılan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler ile karşılaştırılmıştır.

Depolama süresince askorbik asit değerleri incelendiğinde tüm grupların askorbik asit değerlerinde değişimler saptanmıştır. Marul örneklerinin A, B ve C gruplarında depolamanın 4. gününde, salatalık örneklerinin tüm gruplarında depolamanın 7.gününde askorbik asit değerinin artış gösterdiği; bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanmıştır. Salatalık örneklerinde depolama sonunda en yüksek askorbik asit miktarına kaplama yapılan ve antimikrobiyal içeren örneklerin sahip olduğu belirlenmiştir.

Marul örneklerinde depolama boyunca artan pH değerleri, en düşük B, C ve D gruplarında tespit edilmiştir. Salatalık örneklerinde ise pH değerinin depolama sonunda en fazla olduğu örnekler C ve D grubu örnekleridir. Ancak elde edilen pH değerleri marul ve salatalık örnekleri için istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kaplama ve antimikrobiyal uygulaması marul örneklerinin L değerleri üzerinde ilk 4 gün olumlu etki göstermiştir. Ancak depolama sonunda tüm grupların L değerleri birbirine yakın bulunmuştur.

Depolama sonunda (a) değeri ve (b) değerleri bakımından en iyi sonuçlar A grubuna aittir, (a) değeri en fazla azalmanın kaplama yapılan gruplarda azalmıştır. Salatalık örneklerinin L ve (a) değerlerinde kaplama ve antimikrobiyal uygulamanın örnekler üzerinde belirgin bir etki yaratmadığı belirlenmiştir.

Hem marul hem de salatalık örneklerinin doku sertliği değerleri üzerine kaplama ve antimikrobiyal uygulamasının etkisi kontrol grubuna oranla daha iyi düzeydedir ancak doku sertliği değerleri tüm gruplarda depolama boyunca nem kaybı ve enzim aktivitesine bağlı olarak değişimler olduğu saptanmıştır.

Marul örneklerinin toplam canlı sayıları üzerine depolama süresince antimikrobiyal uygulamanın etkisi belirgindir. Antimikrobiyal içeren D grubunun başlangıç mikroorganizma yükü $1,6 \cdot 10^2$ CFU/g iken A grubu örneklerinki $4,3 \cdot 10^3$ tür. Depolama sonunda ise C ve D grubu örneklerde tespit edilen mikroorganizma sayısı 10^4 logaritmik birim olduğu halde B grubu örneklerde toplam canlı sayısı 10^7 logaritmik birim olarak saptanmıştır. Salatalık örneklerinin toplam canlı sayısı D grubu örneklerde başlangıçta diğer gruplardan 10^1 logaritmik birim azdır ancak depolama sonunda mikroorganizma yükü aynıdır.

Depolama süresince marul örneklerindeki koliform bakteri yükü üzerine C ve D gruplarına uygulanan antimikrobiyal madde etkisi devam etmiştir. Depolama sonunda C ve D gruplarının koliform sayıları, A ve B gruplarından 10^3 - 10^4 logaritmik birim daha düşüktür. Salatalık örneklerinde C ve D gruplarının başlangıç koliform sayısı üzerine etkisi belirgindir ancak depolama sonunda tüm grupların koliform sayıları birbirine yakın olduğu; antimikrobiyal etkinin kaybolduğu görülmektedir. Lizozim+EDTA antimikrobiyal uygulamasının marul örneklerinde koliform grubu bakteri üzerine etkili olduğu ancak salatalık örneklerinde lizozimin gram pozitif bakterilere karşı etki yarattığı, rekabetin ortamı oluşması bunun sonucunda mikrofloranın bozulması nedeniyle ortamda

bulunan EDTA'nın gram negatiflere üzerine etkisinin azaldığı görülmüştür.

Depolama süresince salatalık örneklerinin D grubunda laktik asit bakterisi sayısında artış ve azalma görülmüş, A, B ve C gruplarında sürekli artış saptanmıştır.

Marul örneklerinde depolama süresince maya-küf saptanmamıştır. Salatalıkta ise küf maya sayısı farklı günlerde düzenli bir dağılım göstermediğinden uygulamanın antimikrobiyal etkisinden söz etmek mümkün değildir.

Elde edilen verilere göre; lizozim içeren pullulan film ile kaplama uygulamasının, örneklerin pH ve asitlik değerleri üzerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir farklılık oluşmadığı ancak lizozimin EDTA ile birlikte kullanılmasıyla ortaya çıkan sinerjik etkinin marulda mikrobiyolojik kalite kriterlerinin korunmasında etkili olduğu görülmüştür.

Bu konuda yapılacak sonraki çalışmalarda, taze meyve sebzelerin kaplanmasında lizozim içeren farklı kaplama materyallerinin denenmesi yanı sıra, farklı doğal antimikrobiyallerin bu tür ürünlerin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamada yararlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, taze meyve sebze ürünlerinin tüketime hazır hale getirilme öncesinde hammadde uygulamalarının da denenmesi, ürünün sonraki raf ömrü üzerine etkilerinin de araştırılması diğer bir çalışma konusu olarak ele alınması yerinde olacaktır.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Allende, A., Aguayo, E., Arte's, F.,** 2004, Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life, *International Journal of Food Microbiology*, 91, 109-117.
- Appendini, P. & Hotchkiss, J. H.,** 1997, Immobilization of Lysozyme on Food Contact Polymers as Potential Antimicrobial Films, *Packaging Technology and Science*, 10, 271-279.
- Appendini, P., Hotchkiss, J. H.,** 2002, Review of Antimicrobial Food Packaging, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 113-126.
- Azak, M.,** 1994, Washington Navel Portakalı ve Klementin Mandarinin Soğukta Depolanması Konusunda Araştırmalar, Ege Üniversitesi, Araştırma Fon Saymanlığı, Yüksek Lisans Tezi, Bornova-İzmir, 120s.
- Baldwin, E.A.,** 1994, Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: Past, Present and Future, In: Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, editors: J.M.Krochta, E.A.Baldwin and M.O.Nisperos-Carriedo, Techomic Publishing Company Inc., Lancaster, pp. 25-64.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O., Chen, X., and Hagenmaier, R.D.,** 1996, Improving storage life of cut apple and potato with edible coating, *Postharvest Biol. Technol.*, 9:151-163.
- Baur, S., Klaiber, R., Koblo, A., & Carle, R.,** 2004a, Effect of different washing procedures on phenolic metabolism of shredded, packaged iceberg lettuce during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7017- 7025.

- Baur, S., Klaiber, R., Hammes, W. P., & Carle, R.,** 2004b, Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 45– 55.
- Baur, S., Klaiber, R., Wei, H., Hammes, W. P., Carle, R.,** 2005, Effect of temperature and chlorination of pre-washing water on shelf-life and physiological properties of ready-to-use iceberg lettuce, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 171– 182.
- Baysal, T., Akbaba, H., Yurdagel, Ü., Demirağ, K., İçier, F., Ersus-Uyan, S.,** 2000, Modifiye Atmosferde Paketlemenin Iceberg Marullarının (Lactuca savita, L.) Raf Ömrü ve Kalitesi Üzerine Etkileri, 6. Soğuma ve İklimlendirme Tekniği Kongresi, Adana.
- Baysal, T., Yemenicioğlu, A., Kandemir, N. S.,** 2004, The effects of lysozyme and disodium EDTA.2H₂O impregnated pullulan film coatings on the microbial load and color of cold stored high moisture dried tomatoes, EFOST Congress, Varsova.
- Branen, J. K. & Davidson, P. M.,** 2004, Enhancement of Nisin, Lysozyme, and Monolaurin Antimicrobial Activities by Ethylenediaminetetraacetic Acid and Lactoferrin, *International Journal of Food Microbiology*, 90, 63-74.
- Brody, A. L., Strupinsky, E. R.,** 2001, Active Packaging for Food Applications, editor: Kline, R. L., CRC Press, Washington, chapter 10.
- Brody, A. L., Strupinsky, E. R., Kline, L. R.,** 2001, Active Packaging for Food applications, Lanchester, Technomic Publishing CO., CRC Press, Chapter 10, 131-194.

- Burdurlu, H.S., Koca N., Karadeniz F.**,2006, Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage, *Journal of Food Engineering*, 74, 211–216.
- Buonocore G. G., Conte, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A.**, 2005, Mono- and multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 459 – 464.
- Cağrı, A., Üstünol, Z., Ryser, E.T.**, 2002, Inhibition of Three Pathogens on Bologna and Summur Sausage Using Antimicrobial Edible Films, *Food Microbiology and Safety*, 67, 6, 2317-2324.
- Cemeroğlu, B.**, 1992, Meyve Sebze Endüstrisinde Temel Analiz Metotları, BİLTAV Üniversite Kitapları Serisi no:02-2 381s., Ankara.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M.**, 2001, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Meyve ve Sebzelerin Bileşimi ve Soğukta Depolanmaları, Gıda Teknolojisi Dergisi Yayınları, No:24, 328 s., Ankara.
- Chien P.J., Sheu F., Yang F.H.**, 2007, Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit, *Journal of Food Engineering* 78, 225–229.
- Conte, A., Buonocore, G. G., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A.**, 2006, Development of immobilized lysozyme based active film, *Journal of Food Engineering*, Article In Press.
- Cha, D. S. and Chinnan M. S.**, 2004, Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:223–237.

- Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S.,** 1994, Edible Films and Coatings as Active Layers, In: Rooney, M. (Ed.), *Active Food Packaging*, Blackie Academic and Professional, pp.111-142.
- Davidson P. M. & Harrison M. A.,** 2002, Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers and Other Process Controls, Scientific Status Summary, *Food Technology*, Vol. 56 (11), 69-78.
- Dawson, P., Hoffman, K., Han, I.,** 2000, Biocide-Impregnated Food Films to Inhibit Food Pathogens, Second NSF International Conference on Food Safety, Sanannah, GA, 143-149.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., Voilley, A.,** 1998, Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review, *Critical reviews in Food Science*, 38(4):299–313.
- Delaquis, P.J., Stewart, S., Toivonen, P.M.A., Moyls, A.L.,** 1999, Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce, *Food Res. Int.*, 32, 7–14.
- Delaquis, P. J., Fukumoto, L. R., Toivonen, P. M. A., Cliff, M. A.,** 2004, Implications of wash water chlorination and temperature for the microbiological and sensory properties of fresh-cut iceberg lettuce, *Postharvest Biology and Technology*, 31, 81–91.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., Debevere, J.,** 2004, Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruits and vegetables, *Food Microbiology*, 21: 703-714.
- Diab, T., Biliaderis, C. G., Gerasopoulos, D., Sfakiotakis, E.,** 2001, Physicochemical Properties and Application of Pullulan Edible Films and Coatings in Fruit Preservation, *Journal of Science of Food and Agriculture*, 81, 988-1000.

- Doğaner, Y.**, (1997). Meyvelerde Film ve Kaplamaların Kullanılması, İTÜ, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bitirme Tezi.
- Donhowe, G. I., Fennema, O.**, 1994, Edible Films and Coatings: Characteristics, Formation, Definitions and Testing Methods, 1-21In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, O. M. (Eds), Technomic Publishing CO, USA, 379p.
- Dufour, M., Simmonds, R. S., Bremer, P. J.**, 2003, Development of a Method to Quantify in Vitro the Synergistic Activity of “natural” Antimicrobials, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 85, 249-258.
- Francis, G.A., Thomas, C., O’Beirne, D.**, 1999, The microbiological safety of minimally processed vegetables, *Int. J. Food Sci. Technol.*,34, 1 – 22.
- Garcia-Gimeno, R. M., Zurera-Cosano, G.**, 1997, Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life, *International Journal of Food Microbiology*, 36, 31-38.
- Garg, N., Curey, J. And Splittstoess D.**, 1990, Effect of processing conditions on the microflora of fresh cut vegetables, *J. of food prot.*,33, 701-703.
- Gennadios, A., McHugh, T. H., Weller, C. L., Krochta, J. M.**, 1994, Edible Coatings and Films Based On Proteins, In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, O. M. (Eds), Technomic Publishing CO, USA, 201-278.
- Gennadios, A., Hanna, M. A., Kurth, L. B.**, 1997, Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A review, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* Vol. 30, pp. 337-350.

- Göksungur, Y., Uçan, A., Güvenç, U.,** 2003, Production of pullulan from beet molasses and synthetic medium by *Aureobasidium pullulans*, *Turk J Bio.*, 28:23–30.
- Göksungur, Y., Dağbaşı, S., Uçan A. And Güvenç U.,** 2005, Optimization of pullulan production from synthetic medium by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor by response surface methodology, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80:819–827.
- Guilbert, S.,** 1986, Technology and Application of Edible Protective Films. In: *Food Packaging and Preservation*, M. Matathlouthi (Ed.), Elsevier Applied Science Publishers, New York, 371-394.
- Guilbert, S., Biquet,** 1995, Edible Films and Coatings, In: *Food Packaging Technology*, Breau, G., Multon, J. L. (Eds.), VHC Publishers Inc., Volume 1, 315-373.
- Guilbert S., Gontard N.,** 1995, Edible and Biodegradable Food Packaging, In: *Foods and Packaging Materials-Chemical Interactions*, Ackerman P., Jargstad M. And Ohlsson T. (Eds.), The Royal Society Chemistry, Cambridge, pp: 159-168.
- Guilbert, S., Gontard, N., Gorris, L. G. M.,** 1996, Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products using Biodegradable Films and Coatings, *Lebensmittel-Wiss u-Technology*, 29, 10-17.
- Han, J. H.,** 2000, Antimicrobial Food Packaging, *Food Technology*. Vol. 4, No.3, pp.56-65.
- Han, J. H.,** 2001, Edible and Biodegradable Film/Coatings Carrying Bioactive Agents, *Cyber Food Science*, volume 2001, 1-7.
- Han, J., Gomes-Feitosa, C. L., Castell-Perez, E., Moreira, R. G., Silva, P. F.,** 2004, Quality of packaged romaine lettuce hearts exposed to low-dose electron beam irradiation, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 37, 705-715.

- Hassenberg, K. and Idler C.,** 2005, Influence of Washing Method on the Quality of Prepacked Iceberg Lettuce, *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript FP 05 003. Vol VII. November.
- Hışıl Y.,** 2004, Enstrümantal Gıda Analiz Deneyleri, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, Yayın No:45, 39 s.,Bornova-İzmir.
- Hoffman, K., Han, I., Dawson, P.,** 2001, Antimicrobial Effect of Corn Zein Films Impregnated with Nisin, Lauric Acid, EDTA, *Journal of Food Protection*, 64;6, 885- 889.
- Hong, S.I. and Krochta, J.M.,** 2003, Oxygen Barrier Properties of Whey Protein Isolate Coatings on Poly Propylene Films, *Journal of Food Science*. Vol. 68, No. 1, pp. 224-228.
- Hughey, V. L. and Johnson, E. A.,** 1987; Antimicrobial Activity of Lysozyme against Bacteria Involved in Food Spoilage and Food-Borne Disease, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 53, No. 9, 2165-2170.
- Hughey, V. L., Wilger, P. A. and Johnson, E. A.,** 1989, Antibacterial Activity of Hen Egg White Lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in Foods, *Applied And Environmental Microbiology*, Vol.55, No.3, p. 631-638.
- Ibrahim, H.R., Kato, A., Kobayashi, K.,** 1991, “Antimicrobial Effects of Lysozyme Against Gram-Negative Bacteria due to Covalent Binding of Palmitic Acid”, *J.Agric. Food Chem.*, Vol. 39, pp. 2077-2082.
- Ibrahim, H.R., Kobayashi, K., Kato, A.,** 1993, Length of Hydrocarbon Chain and Antimicrobial Action to Gram-Negative Bacteria of Fatty Acylated Lysozyme, *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 41, pp. 1164-1168.

- Ibrahim, H. R., Higashiguchi, S., Junega, L. R., Kim, M., Yamamoto, T.,** 1996, A Structural Phase of Heat-Denaturated Lysozyme with Novel Antimicrobial Action, *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 44, 1416-1423.
- Jiang, C.M., Wang, M.C., Chang, W.H., Chang, H.M. ,**2001, Isolation of Lysozyme from Hen Egg Albumen by Alcohol-Insoluble Cross-Linked Pea Pod Solid on Exchange Chromatography, *Journal of Food Science*. Vol. 66, No. 8, pp. 1089-1092.
- Kachhawa D.K., Bhattacharjee P., Singha R.S.,** 2003, Studies on downstream processing of pullulan, *Carbohydrate Polymers*, 52, 25–28.
- Kandemir N. S., Yemenicioglu A., Mecitoglu Ç., Elmacı Z. S., Arslanoglu A., Göksungur Y., Baysal T.,** 2005, Production of Antimicrobial Films by Incorporation of Partially Purified Lysozyme into Biodegradable Films of Crude Exopolysaccharides Obtained from *Aureobasidium pullulans* Fermentation, *Food Technol. Biotechnol.*, 43 (4) 343–350.
- Kester, J. J., Fennema, O. R.,** 1986, Edible Films and Coatings Food Technology, *Food Technology*, 47-59.
- King Jr., A.D., Magnuson, J.A., Török, T. and Goodman, N.,** 1991, Microbial Flora And Storage Quality Of Partially Processed Lettuce, *Journal of Food Science*, Volume 56, No. 2, 459-462.
- Kim, S.J. and Ustünol, Z.,** 2001, Thermal Properties, Heat Sealability and Seal Attributes of Whey Protein Isolate/ Lipid Emulsion Edible Films, *Journal of Food Science*, Vol. 66, No. 7, pp. 985-990.
- Kim, S., Sessa, D.J., Lawton, J.W. ,** 2004 a , Characterization of Zein Modified With A Mild Cross-Linking Agent, *Industrial Crops and Products*. pp.1-9.

- Kim, J. G., Luo, Y., Gross, K. C.**, 2004 b, Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy, *Postharvest Biology and Technology*, 32, 99-107.
- Koyuncu, M. A., Savran, H. E.**, 2002, Yenilebilir Kaplamalar ve Bahçe Ürünlerinde Kullanımı, *S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6-3, 73-83.
- Krochta, J. M.**, 1997, Edible Protein Films and Coatings, In: *Food Proteins and Their Applications*, Damodaran, S., Paraf, A. (Eds.), Marcek Dekker Inc., New York, 529-549.
- Krochta, J. M., De Mulder- Johnston, C.**, 1997, Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunites, *Journal of Food Technology*, 51 (2), 61-74.
- Lai, H. M., Padua, G. W.**, 1997, Properties And Microstructure of Plasticized Zein Films, *Cereal Chem.*, Vol. 74, No. 6, 771-775.
- Lazaridou A., Biliaderis C. G., Roukas T. and Izydorczyk M.**, 2002-a, Production and characterization of pullulan from beet molasses using a nonpigmented strain of *Auerobasidium pullulans* in batch culture. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 97:1–22.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C.G.**, 2002-b, Thermophysical properties of chitosan, chitosan–starch and chitosan–pullulan films near the glass transition, *Carbohydrate Polymers*, 48, 179–190.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Kontogiorgos, V.**, 2003, Molecular weight effects on solution rheology of pullulan and mechanical properties of its films, *Carbohydrate Polymers*, 52, 151–166.
- Leathers T.D., Nofsinger G.W., Kurtzman C.G. and Bothast R.J.**, Pullulan production by color variant strains of *Aureobasidium pullulans*, *J Ind Microbiol*, 3:231–239 (1998).

- Leathers T.D.**, 2003, Biotechnological production and applications of pullulan. *Appl Microbiol Biotechnol* 62: 468-473.
- Lee, J.Y., Park, H. J., Lee, C. Y., Choi, W. Y.**, 2003, Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 36, 323–329.
- Li, Y., Brackett, R. E, Shewfelt, R. L. and Beuchat, L. R.**, 2001, Changes in appearance and natural microflora on iceberg lettuce treated in warm, chlorinated water and then stored at refrigeration temperature, *Food Microbiology*, 18, 299-308.
- Lin, S.Y. and Krochta, J.M.**, 2003, Plasticizer Effect on Grease Barrier and Color Properties of Whey-Protein Coatings on Paperboard, *Journal of Food Science*, Vol. 68, No. 1, pp. 229-233.
- Lindstrom, T.R., Morimoto, K., Cante, C. J.**, 1992, “Edible Films and Coatings”, in *Encyclopedia of Food Science and Technology*, Y.H. Hui (Ed.), John Wiley and Sons. Inc., New York, Vol. 2, pp. 659-663.
- Lopez-Galvez, G., Peiser, G., Nie, X., Cantwell, M.**, 1997, Quality Changes in Packaged Salad Products During Storage, *Z. Lebensm.-Unters*, 205, 64-72.
- Martin-Diana , A.B., Rico, D., Frias, J., Mulcahy, J, Henehan, G.T.M., Barry-Ryan, C.**, 2006, Whey permeate as a bio-preservative for shelf life maintenance of fresh-cut vegetables, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 112–123.
- Masschalck B., Houdt R. V., Van Haver E. G. R. and Chris W. Michiels**, 2001, Inactivation of Gram-Negative Bacteria by Lysozyme, Denatured Lysozyme, and Lysozyme-Derived Peptides under High Hydrostatic Pressure, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, No. 1, 339,344.

- Masschalck, B., Michiels, C. W.,** 2003, Antimicrobial properties of lysozyme in relation to foodborne vegetative bacteria, *Critical Reviews in Microbiology*, 2003; 29, 3; 191-214.
- Masuda T., Ueno, Y. And Kitabatake, N.,** 2001, Sweetness and Enzymatic Activity of Lysozyme, *J.Agric. Food Chem.*, 49, 4937-4941.
- McKellar R.C., Odumeru, J., Zhou, T., Harrison, A., Mercer, D.G., Young, J.C., Lu, X., Boulter, J., Piyasena P., Karr S.,** 2004, Influence of a commercial warm chlorinated water treatment and packaging on the shelf-life of ready-to-use lettuce, *Food Research International*, 37: 343–354.
- Mecitoğlu-Güçbilmez, Ç.,** 2005, Production of Functional Packaging Materials by Use of Biopreservatives, A Thesis Submitted to the Graduate School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology.
- Mecitoğlu Ç., Yemenicioğlu A., Arslanoğlu A., Elmacı Z. S., Korel F., Çetin A. E.,** 2006, Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein Films for antimicrobial food packaging, *Food Research International*, 39, 12-21.
- Miller, K. S. and Krochta, J. M.,** 1997, Oxygen and Aroma Barrier Properties in Edible Films, *Trends in Food Science and Technology*, Vol:8, 228-237.
- Min, S.C., Harris, L.J., Han, J.H., and Krochta, J.M. ,** 2005, *Listeria monocytogenes* inhibition by whey protein films and coatings incorporating lysozyme, *J. Food Protect.*, Accepted June 10, 2005.
- Natrajan, N., & Sheldon, B.,** 2000, Efficacy of nisin-coated polymer films to inactivate *Salmonella typhimurium* on fresh broiler skin, *Journal of Food Protection*, 63 (9) , 1189-1196.

- Nguyen C. and Carlin, F.**, 1994, The Microbiology of Minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34 (4):371-401.
- Nisperos-Carriedo, M. O.**, 1994, Edible Coatings and Films Based On Polysaccharides, In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, O. M. (Eds), Technomic Publishing CO, USA, 305-335.
- Olivas G. I. and Barbosa-Canovas, G. V.**, 2005, Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:657-670.
- Padgett, T., Han, I. Y., Dawson, P. L.**, 1998, Incorporation of Food-Grade Antimicrobial Compounds into Biodegradable Packaging Films, *Journal of Food Protection*, Vol. 61, No. 10, pp. 1330-1335.
- Padgett, T., Han, I.Y., Dawson, P.L.**, 2000, Effect of Lauric Acid Addition on the Antimicrobial Efficacy and Water Permeability of Corn Zein Films Containing Nisin, *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol. 24, pp. 423-432.
- Park, H. J.**, 1999, Development of Advanced Edible Coating for Fruits, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 10, pp. 254-260.
- Park, H. J.**, 2003, Edible Coatings for Fruits, In: *Novel Food Packaging Technologies*, Ahvenainen, R.(Eds.), Woodhead Publishing, 331-345.
- Payne, K. D., Oliver, S. P., Davidson, P. M.**, 1994, Comparison of EDTA and apo-lactoferrin with lysozyme on the growth of foodborne pathogenic and spoilage bacteria, *J. Food Prot.*, 57, 62-65.
- Peng, Y., Han, B., Liu, W. and Xu, X.**, 2005, Preparation and Antimicrobial Activity of Hidroxypropyl Chitosan, *Carbonhydrate Research*, 340 (11), 1846-1851.

- Petersen, K., Nielsen, P. V., Bertelsen, G., Lawter, M., Olsen, M. B., Nilsson, N. H. and Mortensen, G.,** 1999, Potential of Biobased Materials for Food Packaging, *Trends in Food Science and Technology*, 10, 52-68.
- Phan, D., Debeaufort, F., Luu, D., Voilley, A.,** 2005, Funtional Properties of Edible Agar-Based and Starch-Based Films for Food Quality Preservation, *J.Agric. Food Chem.*, 53 (4), 973-981.
- Pingulkar, K., Kamat, A., Bongirwar, D.,** 2001, Microbial Quality of Fresh Leafy Vegetables, Salad Components and Ready-to- eat Salads: An Evidence of Inhibition of *Listeria Monocytogenes* in Tomatoes, *Int. J. of Food Sciences and Nutrition*, 52, 15-23.
- Quintavalla, S. and Vicini, L.,** 2002, Antimicrobial Food Packaging in Meat Industry, *Meat Science*. Vol. 62, pp. 373-380.
- Rico-Peña, D. C. and Torres, J. A.,** 1990, Edible Methylcellulose-Based Films as Moisture Barrier Impermeable Barriers in Sundae Ice Cream Cones, *Journal of Food Science*, 55(5), 1468-1469.
- Riva, M., L. Pranzetti and A. Galli,** 2001, Effect of storage temperature on microbiological quality and shelf-life of ready to use salads., *Annals of Microbiology*. 51: 39-52.
- Scannel, A. G. M., Hill, C., Ross, R. P., Marx, S., Hartmeier, W., Arendt, E. K.,** 2000, Development of Bioactive Food Packaging Materials Using Immobilized Bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin, *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 60, 241-249.
- Shukla, R. and Cheryan, M.,** 2001, Zein: The Industrial Protein from Corn, *IndustrialCrops and Products*, Vol. 13, pp. 171-192.

- Sonti, S.**, 2003, Consumer Perception And Application Of Edible Coatings On Fresh-Cut Fruits And Vegetables, A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College In partial fulfillment of the Requirements for the degree of Master of Science In The Department of Food Science, B.S., Osmania University College of Technology, 143 s.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W.**, 2003., Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and Its Applications, *Journal of Food Science*. Vol. 68, No. 2, pp. 408-420.
- Teerakarn, A., Hirt, D.E., Acton, J.C., Rieck, J.R., Dawson, P.L.**, 2002, Nisin Diffusion in Protein Films: Effects of Film Type and Temperature, *Journal of Food Science*, Vol. 67, No. 8, pp. 3019-3025.
- Temiz, A.**, 1999, Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler, Gıda Mikrobiyolojisi, Ünlütürk, A., Turantaş, F. (Derl.), Mengi-Tan Basımevi, İzmir, 598 s.
- Trahantan, R. N.**, 2003, Biodegradable Films and Composite Coatings: Past, Present and Future, *Trends in Food Science and Technology*, 14, 71-78.
- Torres, J. A., Bouzas, J. O., Karel, M.**, 1985, Microbial Stabilization of Intermediate Moisture Food Surfaces, II. Control of Surface pH, *Journal of Food Processing and Preservation*, 9, 93-106.
- Torres, J., & Karel, M.** , 1985, Microbial stabilization of intermediate moisture food surfaces III. Effects of surface preservative concentration and surface pH control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analog, *Journal of Food Processing and Preservation*, 9, 75-92.

- Torres, J. A.,** 1994, Edible Films and Coatings from Proteins, In:*Protein Functionality in Food Systems*, Hettiarachchy, N. S., Ziegler, G. R. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 467-507.
- Torres, J. A., Dewitt-Mireles, C. and Savant, V.,** 1997, Two Food Applications of Biopolymers: Edile Coatings Microbial Surface Spoilage and Chitosan Use to Recover Proteins from Aqueous Processing Wastes, In:*Biopolymers Utilizing Nature's Advanced Materials*, Imam, S. H., Greene, R. V., Zaidi, B. R. (Eds.), A C S Symposium Series 723, 248-282.
- Tournas, V.H.,** 2005, Moulds and Yeasts in Fresh and Minimally Processed Vegetables and Sprouts, *International Journal of Food Microbiology*, 99, 71-77.
- Uçan, A.,** 2004, Sentetik Ortam ve Melastan *Auerobasidium pullulans* ile Pullulan Üretimi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Üstün, M.,** 1997, Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıdalara Uygunluğu, İTÜ, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Lisans Tezi.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., van Beest, M., de Kruijf, N., and Debevere, J.,** 1999, Developments in the active packaging of foods, *Trends Food SciTechnol.*, 10:77-86.
- Watada, A. E., Qi, L.,** 1999, Quality of fresh-cut produce, *Postharvest Biology and Technology*, 15, 201-205.
- Web_1:**www.ncpri.ro/pullulan/en/index.html
- Web_2:**www.doctorfungus.com

- Wertz, C. F., Santore, M. .M.,** 2002, Adsorption and Reorientation Kinetics of Lysozyme on Hydrophobic Surfaces, *Langmuir*, Vol. 18, No. 4, pp. 1190-1199.
- Wong, D.W.S, Tillin, S.J., Hudson, J.S. and Pavlath A.E.,** 1994, Gas Exchange in cut apples with bilayer coatings, *Journal of Food Chem.*, 42:2278-2285.
- Xu, S., Chen, X., Da-Wen, S.,** 2001, Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature, *Journal of Food Engineering*, 50, 211-216.
- Xu, S., Chen, X., Xu, L.D.,** 2002, Determining optimum edible films for kiwifruits using an analytical hierarchy process, *Computers & Operations Research*, 1-9.
- Youssef, F., Roukas, T., Biliaderis, C.G.,** 1999, Pullulan Production by a Non-Pigmented Strain of *Aureobasidium Pullulans* Using Batch and Fed-Batch Culture, *Process Biochemistry*, 34, 355–366.

EKLER

EKLER DİZİNİ

<u>Ek</u>	<u>Sayfa</u>
Ek A.. Marul örneklerinin istatistiksel analiz sonuçları.....	104
Ek A1. Askorbik asit değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	104
Ek A.2. pH değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	107
Ek A.3. Asitlik değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	107
Ek A.4. L değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	109
Ek A.5. a değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	110
Ek A.6. b değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	112
Ek A.7. ΔE değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	113
Ek A.8. ΔC değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	114
Ek A.9. Instron değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	115
Ek A.10. Toplam canlı sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....	116
Ek A.11. Koliform sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....	118

EKLER DİZİNİ (Devam)

<u>Ek</u>	<u>Sayfa</u>
Ek B Salatalık örneklerinin istatistiksel analiz sonuçları.....	121
Ek B.1. Askorbik asit değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	121
Ek B.2. pH değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	123
Ek B.3. Asitlik değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	124
Ek B.4. L değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	126
Ek B.5. a değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	126
Ek B.6. b değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	128
Ek B.7. ΔE değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	130
Ek B.8. ΔC değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	133
Ek B.9. Instron değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları.....	134
Ek B.10. Toplam canlı sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....	136
Ek B.11. Koliform sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....	137
Ek B.12. Küf maya sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....	139

EKLER DİZİNİ (Devam)EkSayfa

Ek B.13. Laktik asit bakterisi sayısı istatistiksel analiz sonuçları.....139

Ek C. Depolama sürecinde marul ve salatalık örneklerine ait
fotoğraflar.....141

Ek C.1. Marul örneklerinin A, B, C, D gruplarına ait 0. ve 7. Gün
fotoğrafları.....143

Ek C.2.Salatalık örneklerinin A, B, C, D gruplarına ait 0. ve 7. Gün
fotoğrafları.....145

Ek A.. Marul örneklerinin istatistiksel analiz sonuçları

Ek A1. Askorbik asit değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Askorbik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9935.826 ^a	6	1655.971	2.941	.071
Intercept	75493.058	1	75493.058	134.074	.000
Süre	8454.280	3	2818.093	5.005	.026
Grup	1481.546	3	493.849	.877	.488
Error	5067.613	9	563.068		
Total	90496.496	16			
Corrected Total	15003.439	15			

a. R Squared = .662 (Adjusted R Squared = .437)

Post Hoc Tests

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Askorbik
Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-9.5800	16.77898	.938	-61.9606	42.8006
	2	-16.1050	16.77898	.775	-68.4856	36.2756
	3	9.2950	16.77898	.943	-43.0856	61.6756
1	0	9.5800	16.77898	.938	-42.8006	61.9606
	2	-6.5250	16.77898	.979	-58.9056	45.8556
	3	18.8750	16.77898	.684	-33.5056	71.2556
2	0	16.1050	16.77898	.775	-36.2756	68.4856
	1	6.5250	16.77898	.979	-45.8556	58.9056
	3	25.4000	16.77898	.469	-26.9806	77.7806
3	0	-9.2950	16.77898	.943	-61.6756	43.0856
	1	-18.8750	16.77898	.684	-71.2556	33.5056
	2	-25.4000	16.77898	.469	-77.7806	26.9806

Based on observed means.

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Askorbik
Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	8.0425	16.77898	.962	-44.3381	60.4231
	4	-49.6100	16.77898	.064	-101.9906	2.7706
	7	.9175	16.77898	1.000	-51.4631	53.2981
1	0	-8.0425	16.77898	.962	-60.4231	44.3381
	4	-57.6525*	16.77898	.031	-110.0331	-5.2719
	7	-7.1250	16.77898	.973	-59.5056	45.2556
4	0	49.6100	16.77898	.064	-2.7706	101.9906
	1	57.6525*	16.77898	.031	5.2719	110.0331
	7	50.5275	16.77898	.059	-1.8531	102.9081
7	0	-.9175	16.77898	1.000	-53.2981	51.4631
	1	7.1250	16.77898	.973	-45.2556	59.5056
	4	-50.5275	16.77898	.059	-102.9081	1.8531

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Askorbik

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
1	4	50.4850	
7	4	57.6100	57.6100
0	4	58.5275	58.5275
4	4		108.1375
Sig.		.962	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 563.068.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A2. pH değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.392 ^a	6	.232	2.377	.117
Intercept	495.508	1	495.508	5077.211	.000
Süre	.535	3	.178	1.829	.212
Grup	.856	3	.285	2.925	.092
Error	.878	9	.098		
Total	497.778	16			
Corrected Total	2.270	15			

a. R Squared = .613 (Adjusted R Squared = .355)

Ek A3. Asitlik değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Tit. A.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.650E-08 ^a	8	1.608E-08	3.731	.038
Intercept	7.921E-05	1	7.921E-05	183.735	.000
Süre	3.005E-08	3	1.002E-08	2.323	.143
Grup	6.645E-08	3	2.215E-08	5.138	.024
Error	3.880E-08	9	4.311E-07		
Total	9.274E-05	18			
Corrected Total	1.353E-05	15			

a. R Squared = .713 (Adjusted R Squared = .522)

Post Hoc Tests

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Tit. A.

	(i) Grup	(j) Grup	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0	1	.001350	.0004843	.069	-.000399	.002799
		2	-.000325	.0004843	.895	-.001774	.001124
		3	.000675	.0004843	.500	-.000774	.002124
	1	0	-.001350	.0004843	.069	-.002799	.000399
		2	-.001675*	.0004843	.024	-.003124	-.000225
		3	-.000675	.0004843	.500	-.002124	.000774
	2	0	.000325	.0004843	.895	-.001124	.001774
		1	.001675*	.0004843	.024	.000225	.003124
		3	.001000	.0004843	.208	-.000449	.002449
	3	0	-.000675	.0004843	.500	-.002124	.000774
		1	.000675	.0004843	.500	-.000774	.002124
		2	-.001000	.0004843	.208	-.002449	.000449
Dunnnett C	0	1	.001350*	.0000289		.001211	.001489
		2	-.000325	.0003437		-.001984	.001334
		3	.000675	.0006756		-.002585	.003935
	1	0	-.001350*	.0000289		-.001489	-.001211
		2	-.001675*	.0003425		-.003328	-.000022
		3	-.000675	.0006750		-.003932	.002582
	2	0	.000325	.0003437		-.001334	.001984
		1	.001675*	.0003425		.000022	.003328
		3	.001000	.0007569		-.002653	.004653
	3	0	-.000675	.0006756		-.003935	.002585
		1	.000675	.0006750		-.002582	.003932
		2	-.001000	.0007569		-.004653	.002653

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Tit. A.

Grup	N	Subset	
		1	2
Tukey HSD ^a			
1	4	.001900	
3	4	.001975	.001975
0	4	.002650	.002650
2	4		.002975
Sig.		.069	.208

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares.

The error term is Mean Square(Error) = 4.311E-07.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A4. L değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

Grup	N
0	4
1	4
4	4
7	4
Grup	
0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: L

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	335.206 ^a	6	55.868	3.122	.061
Intercept	62973.393	1	62973.393	3518.550	.000
Süre	240.044	3	80.015	4.471	.035
Grup	95.162	3	31.721	1.772	.222
Error	161.078	9	17.898		
Total	63469.677	16			
Corrected Total	496.284	15			

a. R Squared = .675 (Adjusted R Squared = .459)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: L

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-1.4125	2.99145	.963	-10.7512	7.9262
	4	7.2675	2.99145	.140	-2.0712	16.6062
	7	6.6600	2.99145	.188	-2.6787	15.9987
1	0	1.4125	2.99145	.963	-7.9262	10.7512
	4	8.6800	2.99145	.070	-.6587	18.0187
	7	8.0725	2.99145	.094	-1.2862	17.4112
4	0	-7.2675	2.99145	.140	-16.6062	2.0712
	1	-8.6800	2.99145	.070	-18.0187	.6587
	7	-.6075	2.99145	.967	-9.9462	8.7312
7	0	-6.6600	2.99145	.188	-15.9987	2.6787
	1	-8.0725	2.99145	.094	-17.4112	1.2862
	4	.6075	2.99145	.967	-8.7312	9.9462

Based on observed means.

Homogeneous Subsets

L
Tukey HSD^{a,b}

Score	N	Subset
4	4	58.5975
7	4	59.2050
0	4	65.8650
1	4	67.2775
Sig.		.070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 17.898.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A5. a değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Score	4
1	4
4	4
7	4
Grup	4
0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: a

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	33.864 ^a	6	5.644	12.620	.001
Intercept	237.854	1	237.854	535.009	.000
Score	20.946	3	6.982	15.705	.001
Grup	12.718	3	4.239	9.535	.004
Error	4.001	9	.445		
Total	275.519	16			
Corrected Total	37.865	15			

a. R Squared = .894 (Adjusted R Squared = .823)

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: a

Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.8175	.47148	.362	-2.2894	.6544
	2	-1.6350*	.47148	.030	-3.1069	-.1631
	3	-2.3850*	.47148	.003	-3.8569	-.9131
1	0	.8175	.47148	.362	-.6544	2.2894
	2	-.8175	.47148	.362	-2.2894	.6544
	3	-1.5675*	.47148	.037	-3.0394	-.0955
2	0	1.6350*	.47148	.030	.1631	3.1069
	1	.8175	.47148	.362	-.6544	2.2894
	3	-.7500	.47148	.430	-2.2219	.7219
3	0	2.3850*	.47148	.003	.9131	3.8569
	1	1.5675*	.47148	.037	.0955	3.0394
	2	.7500	.47148	.430	-.7219	2.2219

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

a

Tukey HSD^{a,b}

Group	N	Subset		
		1	2	3
0	4	-5.0650		
1	4	-4.2475	-4.2475	
2	4		-3.4300	-3.4300
3	4			-2.6900
Sig.		.362	.362	.430

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares.

The error term is Mean Square(Error) = .445.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: a

Tukey HSD

(i) Score	(j) Score	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.7600	.47148	.419	-2.2319	.7119
	4	-.4550	.47148	.772	-1.9269	1.0169
	7	-2.9725*	.47148	.001	-4.4444	-1.5006
1	0	.7600	.47148	.419	-.7119	2.2319
	4	.3050	.47148	.914	-1.1669	1.7769
	7	-2.2125*	.47148	.005	-3.6844	-.7406
4	0	.4550	.47148	.772	-1.0169	1.9269
	1	-.3050	.47148	.914	-1.7769	1.1669
	7	-2.5175*	.47148	.002	-3.9894	-1.0456
7	0	2.9725*	.47148	.001	1.5006	4.4444
	1	2.2125*	.47148	.005	.7406	3.6844
	4	2.5175*	.47148	.002	1.0456	3.9894

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

a

Tukey HSD^{a,b}

Score	N	Subset	
		1	2
0	4	-4.9025	
4	4	-4.4675	
1	4	-4.1425	
7	4		-1.9300
Sig.		.419	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares.

The error term is Mean Square(Error) = .445.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A6. b değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre	
0	4
1	4
4	4
7	4
Grup	
0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50.978 ^a	6	8.496	.718	.646
Intercept	11301.285	1	11301.285	954.834	.000
Süre	19.874	3	6.625	.560	.655
Grup	31.103	3	10.368	.875	.489
Error	106.523	9	11.836		
Total	11458.785	16			
Corrected Total	157.500	15			

a. R Squared = .324 (Adjusted R Squared = -.127)

Post Hoc Tests

Grup

Homogeneous Subsets

b

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
0	4	25.4400
3	4	25.6925
1	4	26.2350
2	4	28.9400
Sig.		.508

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 11.836.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Süre

Homogeneous Subsets

b

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset
		1
0	4	25.6300
1	4	25.7725
4	4	26.4800
7	4	28.4250
Sig.		.671

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 11.836.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A7. ΔE değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 1	4
4	4
7	4
Grup 0	3
1	3
2	3
3	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: E

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	223.912 ^a	5	44.782	2.981	.108
Intercept	794.301	1	794.301	52.868	.000
Süre	102.537	2	51.268	3.412	.102
Grup	121.375	3	40.458	2.693	.139
Error	90.145	6	15.024		
Total	1108.358	12			
Corrected Total	314.057	11			

a. R Squared = .713 (Adjusted R Squared = .474)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

E

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
1	3	5.8300
0	3	6.3167
2	3	6.7833
3	3	13.6133
Sig.		.165

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 15.024.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Süre**Homogeneous Subsets****E**Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset
		1
1	4	4.2075
7	4	8.9850
4	4	11.2150
Sig.		.095

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 15.024.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A8. ΔC değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları**Univariate Analysis of Variance****Between-Subjects Factors**

	N
Süre 1	4
4	4
7	4
Grup 0	3
1	3
2	3
3	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: c

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	65.549 ^a	5	13.110	1.917	.225
Intercept	243.721	1	243.721	35.645	.001
Süre	18.603	2	9.301	1.360	.326
Grup	46.946	3	15.649	2.289	.178
Error	41.025	6	6.837		
Total	350.294	12			
Corrected Total	106.574	11			

a. R Squared = .615 (Adjusted R Squared = .294)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

c
Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
1	3	2.3700
0	3	3.4133
2	3	4.5933
3	3	7.6500
Sig.		.162

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 6.837.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.
b. Alpha = .05.

Süre

Homogeneous Subsets

c
Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset
		1
1	4	2.9025
4	4	4.6800
7	4	5.9375
Sig.		.301

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 6.837.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.
b. Alpha = .05.

Ek A9. Instron değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Instron

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.009 ^a	6	.002	1.278	.355
Intercept	1.987	1	1.987	1615.795	.000
Süre	.003	3	.001	.717	.566
Grup	.007	3	.002	1.840	.210
Error	.011	9	.001		
Total	1.987	16			
Corrected Total	.020	15			

a. R Squared = .460 (Adjusted R Squared = .100)

Homogeneous Subsets

Instron

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
1	4	.3250
3	4	.3400
0	4	.3575
2	4	.3800
Sig.		.187

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A10. Toplam canlı sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PCA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.828 ^a	6	5.471	17.216	.000
Intercept	380.153	1	380.153	1196.156	.000
Sure	12.752	3	4.251	13.375	.001
Grup	20.076	3	6.692	21.057	.000
Error	2.860	9	.318		
Total	415.841	16			
Corrected Total	35.689	15			

a. R Squared = .920 (Adjusted R Squared = .866)

Post Hoc Tests

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PCA

Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.7675	.39663	.283	-2.0119	.4769
	2	1.6825*	.39663	.010	.4381	2.9269
	3	1.8875*	.39663	.005	.6431	3.1319
1	0	.7675	.39663	.283	-.4769	2.0119
	2	2.4500*	.39663	.001	1.2056	3.6944
	3	2.6550*	.39663	.000	1.4106	3.8994
2	0	-1.6825*	.39663	.010	-2.9269	-.4381
	1	-2.4500*	.39663	.001	-3.6944	-1.2056
	3	.2050	.39663	.954	-1.0394	1.4494
3	0	-1.8875*	.39663	.005	-3.1319	-.6431
	1	-2.6550*	.39663	.000	-3.8994	-1.4106
	2	-.2050	.39663	.954	-1.4494	1.0394

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

PCA

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset	
		1	2
3	4	3.6875	
2	4	3.8925	
0	4		5.5750
1	4		6.3425
Sig.		.954	.283

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .318.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Süre

PCA

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
0	4	3.5200	
1	4	4.6225	4.6225
4	4		5.6650
7	4		5.6900
Sig.		.085	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .318.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek A11. Koliform sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VRBA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	72.391 ^a	6	12.065	33.111	.000
Intercept	172.922	1	172.922	474.555	.000
Süre	40.360	3	13.453	36.920	.000
Grup	32.031	3	10.677	29.301	.000
Error	3.279	9	.364		
Total	248.593	16			
Corrected Total	75.670	15			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .928)

Post Hoc Tests

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VRBA

Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.2550	.42684	.930	-1.5875	1.0775
	2	2.9325*	.42684	.000	1.6000	4.2650
	3	2.4125*	.42684	.001	1.0800	3.7450
1	0	.2550	.42684	.930	-1.0775	1.5875
	2	3.1875*	.42684	.000	1.8550	4.5200
	3	2.6675*	.42684	.001	1.3350	4.0000
2	0	-2.9325*	.42684	.000	-4.2650	-1.6000
	1	-3.1875*	.42684	.000	-4.5200	-1.8550
	3	-.5200	.42684	.632	-1.8525	.8125
3	0	-2.4125*	.42684	.001	-3.7450	-1.0800
	1	-2.6675*	.42684	.001	-4.0000	-1.3350
	2	.5200	.42684	.632	-.8125	1.8525

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

VRBA

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset	
		1	2
2	4	1.6275	
3	4	2.1475	
0	4		4.5600
1	4		4.8150
Sig.		.632	.930

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .364.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VRBA
Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-1.8950*	.42684	.007	-3.2275	-.5625
	4	-3.7025*	.42684	.000	-5.0350	-2.3700
	7	-3.9425*	.42684	.000	-5.2750	-2.6100
1	0	1.8950*	.42684	.007	.5625	3.2275
	4	-1.8075*	.42684	.010	-3.1400	-.4750
	7	-2.0475*	.42684	.004	-3.3800	-.7150
4	0	3.7025*	.42684	.000	2.3700	5.0350
	1	1.8075*	.42684	.010	.4750	3.1400
	7	-.2400	.42684	.941	-1.5725	1.0925
7	0	3.9425*	.42684	.000	2.6100	5.2750
	1	2.0475*	.42684	.004	.7150	3.3800
	4	.2400	.42684	.941	-1.0925	1.5725

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

VRBA

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset		
		1	2	3
0	4	.9025	2.7975	4.6050
1	4			
4	4			
7	4			
Sig.		1.000	1.000	.941

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .364.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek B. Salatalık örneklerinin istatistiksel analiz sonuçları

Ek B.1. Askorbik asit değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Askorbik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.125 ^a	15	.208	34.184	.000
Intercept	21.365	1	21.365	3505.742	.000
Süre	2.900	3	.967	158.643	.000
Grup	.181	3	.060	9.916	.001
Süre * Grup	.043	9	.005	.787	.632
Error	.098	16	.006		
Total	24.587	32			
Corrected Total	3.222	31			

a. R Squared = .970 (Adjusted R Squared = .941)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Askorbik
Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	.019850	.0390327	.956	-.091823	.131523
	4	.088025	.0390327	.151	-.023648	.199698
	7	-.655213*	.0390327	.000	-.766886	-.543539
1	0	-.019850	.0390327	.956	-.131523	.091823
	4	.068175	.0390327	.333	-.043498	.179848
	7	-.675063*	.0390327	.000	-.786736	-.563389
4	0	-.088025	.0390327	.151	-.199698	.023648
	1	-.068175	.0390327	.333	-.179848	.043498
	7	-.743237*	.0390327	.000	-.854911	-.631564
7	0	.655213*	.0390327	.000	.543539	.766886
	1	.675063*	.0390327	.000	.563389	.786736
	4	.743237*	.0390327	.000	.631564	.854911

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Askorbik

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
4	8	.592238	
1	8	.660413	
0	8	.680263	
7	8		1.335475
Sig.		.151	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .006.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Askorbik

Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.093388	.0390327	.119	-.205061	.018286
	2	-.134863*	.0390327	.015	-.246536	-.023189
	3	-.208338*	.0390327	.000	-.320011	-.096664
1	0	.093388	.0390327	.119	-.018286	.205061
	2	-.041475	.0390327	.716	-.153148	.070198
	3	-.114950*	.0390327	.043	-.226623	-.003277
2	0	.134863*	.0390327	.015	.023189	.246536
	1	.041475	.0390327	.716	-.070198	.153148
	3	-.073475	.0390327	.274	-.185148	.038198
3	0	.208338*	.0390327	.000	.096664	.320011
	1	.114950*	.0390327	.043	.003277	.226623
	2	.073475	.0390327	.274	-.038198	.185148

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Askorbik

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset		
		1	2	3
0	8	.707950		
1	8	.801338	.801338	
2	8		.842813	.842813
3	8			.916288
Sig.		.119	.716	.274

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .006.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.2. pH değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.276 ^a	15	.085	9.514	.000
Intercept	1244.631	1	1244.631	139210.71	.000
Süre	1.060	3	.353	39.537	.000
Grup	.061	3	.020	2.258	.121
Süre * Grup	.155	9	.017	1.924	.121
Error	.143	16	.009		
Total	1246.050	32			
Corrected Total	1.419	31			

a. R Squared = .899 (Adjusted R Squared = .805)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: pH

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.15*	.047	.030	-.26	-.01
	4	-.41*	.047	.000	-.54	-.27
	7	-.44*	.047	.000	-.57	-.30
1	0	.15*	.047	.030	.01	.26
	4	-.26*	.047	.000	-.39	-.12
	7	-.29*	.047	.000	-.43	-.15
4	0	.41*	.047	.000	.27	.54
	1	.26*	.047	.000	.12	.39
	7	-.03	.047	.910	-.17	.10
7	0	.44*	.047	.000	.30	.57
	1	.29*	.047	.000	.15	.43
	4	.03	.047	.910	-.10	.17

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset		
		1	2	3
0	8	5.99		
1	8		6.14	
4	8			6.40
7	8			6.43
Sig.		1.000	1.000	.910

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .009.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.3. Asitlik değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Tit. A.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.563E-05 ^a	15	1.709E-06	5.551	.001
Intercept	.000	1	.000	745.634	.000
Süre	2.058E-05	3	6.860E-06	22.287	.000
Grup	1.803E-06	3	6.011E-07	1.953	.162
Süre * Grup	3.245E-06	9	3.606E-07	1.171	.374
Error	4.925E-06	16	3.078E-07		
Total	.000	32			
Corrected Total	3.055E-05	31			

a. R Squared = .839 (Adjusted R Squared = .688)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Tit. A.

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.001138*	.0002774	.004	-.001931	-.000344
	4	.000562	.0002774	.219	-.000231	.001356
	7	-.001387*	.0002774	.001	-.002181	-.000594
1	0	.001138*	.0002774	.004	.000344	.001931
	4	.001700*	.0002774	.000	.000906	.002494
	7	-.000250	.0002774	.804	-.001044	.000544
4	0	-.000562	.0002774	.219	-.001356	.000231
	1	-.001700*	.0002774	.000	-.002494	-.000906
	7	-.001950*	.0002774	.000	-.002744	-.001156
7	0	.001387*	.0002774	.001	.000594	.002181
	1	.000250	.0002774	.804	-.000544	.001044
	4	.001950*	.0002774	.000	.001156	.002744

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Tit. A.

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
4	8	.001625	
0	8	.002188	
1	8		.003325
7	8		.003575
Sig.		.219	.804

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.078E-07.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.4. L değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: L

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	190.261 ^a	15	12.684	.955	.533
Intercept	117469.469	1	117469.469	8844.082	.000
Süre	102.720	3	34.240	2.578	.090
Grup	31.430	3	10.477	.789	.518
Süre * Grup	56.111	9	6.235	.469	.874
Error	212.516	16	13.282		
Total	117872.246	32			
Corrected Total	402.777	31			

^a. R Squared = .472 (Adjusted R Squared = -.022)

Ek B.5. a değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: a

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14.353 ^a	15	.957	7.918	.000
Intercept	2266.160	1	2266.160	18753.292	.000
Süre	9.945	3	3.315	27.432	.000
Grup	.186	3	.062	.512	.680
Süre * Grup	4.222	9	.469	3.882	.009
Error	1.933	16	.121		
Total	2282.446	32			
Corrected Total	16.286	31			

a. R Squared = .881 (Adjusted R Squared = .770)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: a

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.4688	.17381	.068	-.9660	.0285
	4	-1.3750*	.17381	.000	-1.8723	-.8777
	7	-1.2100*	.17381	.000	-1.7073	-.7127
1	0	.4688	.17381	.068	-.0285	.9660
	4	-.9062*	.17381	.000	-1.4035	-.4090
	7	-.7412*	.17381	.003	-1.2385	-.2440
4	0	1.3750*	.17381	.000	.8777	1.8723
	1	.9062*	.17381	.000	.4090	1.4035
	7	.1650	.17381	.779	-.3323	.6623
7	0	1.2100*	.17381	.000	.7127	1.7073
	1	.7412*	.17381	.003	.2440	1.2385
	4	-.1650	.17381	.779	-.6623	.3323

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

a

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
0	8	-9.1787	
1	8	-8.7100	
7	8		-7.9688
4	8		-7.8038
Sig.		.068	.779

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .121.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: a
Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.1487	.17381	.827	-.6460	.3485
	2	-.1838	.17381	.719	-.6810	.3135
	3	-.0363	.17381	.997	-.5335	.4610
1	0	.1487	.17381	.827	-.3485	.6460
	2	-.0350	.17381	.997	-.5323	.4623
	3	.1125	.17381	.915	-.3848	.6098
2	0	.1838	.17381	.719	-.3135	.6810
	1	.0350	.17381	.997	-.4623	.5323
	3	.1475	.17381	.831	-.3498	.6448
3	0	.0363	.17381	.997	-.4610	.5335
	1	-.1125	.17381	.915	-.6098	.3848
	2	-.1475	.17381	.831	-.6448	.3498

Based on observed means.

Homogeneous Subsets

a

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
0	8	-8.5075
3	8	-8.4713
1	8	-8.3588
2	8	-8.3237
Sig.		.719

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .121.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.6. b değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	60.047 ^a	15	4.003	1.508	.212
Intercept	31031.633	1	31031.633	11688.135	.000
Süre	15.149	3	5.050	1.902	.170
Grup	32.762	3	10.921	4.113	.024
Süre * Grup	12.137	9	1.349	.508	.848
Error	42.480	16	2.655		
Total	31134.160	32			
Corrected Total	102.527	31			

a. R Squared = .586 (Adjusted R Squared = .197)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: b

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	1.8038	.81470	.162	-.5271	4.1346
	4	1.4700	.81470	.307	-.8609	3.8009
	7	1.3538	.81470	.375	-.9771	3.6846
1	0	-1.8038	.81470	.162	-4.1346	.5271
	4	-.3338	.81470	.976	-2.6646	1.9971
	7	-.4500	.81470	.945	-2.7809	1.8809
4	0	-1.4700	.81470	.307	-3.8009	.8609
	1	.3338	.81470	.976	-1.9971	2.6646
	7	-.1162	.81470	.999	-2.4471	2.2146
7	0	-1.3538	.81470	.375	-3.6846	.9771
	1	.4500	.81470	.945	-1.8809	2.7809
	4	.1162	.81470	.999	-2.2146	2.4471

Based on observed means.

Homogeneous Subsets

b

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset
		1
1	8	30.4938
4	8	30.8275
7	8	30.9438
0	8	32.2975
Sig.		.162

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.655.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: b
Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.6375	.81470	.861	-2.9684	1.6934
	2	-2.1712	.81470	.072	-4.5021	.1596
	3	-2.3988*	.81470	.043	-4.7296	-.0679
1	0	.6375	.81470	.861	-1.6934	2.9684
	2	-1.5337	.81470	.274	-3.8646	.7971
	3	-1.7613	.81470	.176	-4.0921	.5696
2	0	2.1712	.81470	.072	-.1596	4.5021
	1	1.5337	.81470	.274	-.7971	3.8646
	3	-.2275	.81470	.992	-2.5584	2.1034
3	0	2.3988*	.81470	.043	.0679	4.7296
	1	1.7613	.81470	.176	-.5696	4.0921
	2	.2275	.81470	.992	-2.1034	2.5584

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

b

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset	
		1	2
0	8	29.8388	
1	8	30.4763	30.4763
2	8	32.0100	32.0100
3	8	32.2375	32.2375
Sig.		.072	.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.655.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.7. ΔE değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 1	8
4	8
7	8
Grup 0	6
1	6
2	6
3	6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: E

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	105.133 ^a	11	9.558	1.930	.137
Intercept	678.513	1	678.513	137.035	.000
Süre	49.887	2	24.944	5.038	.026
Grup	25.675	3	8.558	1.729	.214
Süre * Grup	29.571	6	4.928	.995	.471
Error	59.417	12	4.951		
Total	843.063	24			
Corrected Total	164.550	23			

a. R Squared = .639 (Adjusted R Squared = .308)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: E

Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	4	-1.9800	1.11259	.218	-4.9482	.9882
	7	1.5425	1.11259	.378	-1.4257	4.5107
4	1	1.9800	1.11259	.218	-.9882	4.9482
	7	3.5225*	1.11259	.021	.5543	6.4907
7	1	-1.5425	1.11259	.378	-4.5107	1.4257
	4	-3.5225*	1.11259	.021	-6.4907	-.5543

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

E

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
7	8	3.6288	
1	8	5.1713	5.1713
4	8		7.1513
Sig.		.378	.218

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.951.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Grup

Multiple Comparisons

Dependent Variable: E

Tukey HSD

(I) Grup	(J) Grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	1.9667	1.28470	.451	-1.8475	5.7808
	2	2.4833	1.28470	.266	-1.3308	6.2975
	3	.4217	1.28470	.987	-3.3925	4.2358
1	0	-1.9667	1.28470	.451	-5.7808	1.8475
	2	.5167	1.28470	.977	-3.2975	4.3308
	3	-1.5450	1.28470	.637	-5.3592	2.2692
2	0	-2.4833	1.28470	.266	-6.2975	1.3308
	1	-.5167	1.28470	.977	-4.3308	3.2975
	3	-2.0617	1.28470	.412	-5.8758	1.7525
3	0	-.4217	1.28470	.987	-4.2358	3.3925
	1	1.5450	1.28470	.637	-2.2692	5.3592
	2	2.0617	1.28470	.412	-1.7525	5.8758

Based on observed means.

Homogeneous Subsets

E

Tukey HSD^{a,b}

Grup	N	Subset
		1
2	6	4.0517
1	6	4.5683
3	6	6.1133
0	6	6.5350
Sig.		.266

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 4.951.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.8 ΔC değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
Süre	1	8
	4	8
	7	8
Grup	0	6
	1	6
	2	6
	3	6

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: c

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.269 ^a	11	1.843	.762	.670
Intercept	141.863	1	141.863	58.643	.000
Süre	.248	2	.124	.051	.950
Grup	4.082	3	1.361	.562	.650
Süre * Grup	15.940	6	2.657	1.098	.417
Error	29.029	12	2.419		
Total	191.162	24			
Corrected Total	49.299	23			

a. R Squared = .411 (Adjusted R Squared = -.129)

Ek A9. Instron değerlerine ait istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
Süre 0	8
1	8
4	8
7	8
Grup 0	8
1	8
2	8
3	8

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Instron

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.012 ^a	15	.001	1.343	.282
Intercept	.656	1	.656	1092.521	.000
Süre	.007	3	.002	4.063	.025
Grup	.001	3	.000	.701	.565
Süre * Grup	.004	9	.000	.650	.740
Error	.010	16	.001		
Total	.677	32			
Corrected Total	.022	31			

a. R Squared = .557 (Adjusted R Squared = .142)

Post Hoc Tests

Süre

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Instron
Tukey HSD

(I) Süre	(J) Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.0388*	.01225	.028	-.0738	-.0037
	4	-.0300	.01225	.107	-.0650	.0050
	7	-.0338	.01225	.061	-.0688	.0013
1	0	.0388*	.01225	.028	.0037	.0738
	4	.0088	.01225	.890	-.0263	.0438
	7	.0050	.01225	.976	-.0300	.0400
4	0	.0300	.01225	.107	-.0050	.0650
	1	-.0088	.01225	.890	-.0438	.0263
	7	-.0038	.01225	.990	-.0388	.0313
7	0	.0338	.01225	.061	-.0013	.0688
	1	-.0050	.01225	.976	-.0400	.0300
	4	.0038	.01225	.990	-.0313	.0388

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Instron

Tukey HSD^{a,b}

Süre	N	Subset	
		1	2
0	8	.1175	
4	8	.1475	.1475
7	8	.1513	.1513
1	8		.1563
Sig.		.061	.890

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.10. Toplam canlı sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
MB.Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
MB.Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PCA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	67.703 ^a	6	11.284	62.525	.000
Intercept	486.864	1	486.864	2697.765	.000
MB.Süre	67.523	3	22.508	124.718	.000
MB.Grup	.180	3	.060	.332	.803
Error	1.624	9	.180		
Total	556.191	16			
Corrected Total	69.327	15			

a. R Squared = .977 (Adjusted R Squared = .961)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PCA

Tukey HSD

(I) MB.Süre	(J) MB.Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-.5225	.30039	.380	-1.4603	.4153
	4	-3.4200*	.30039	.000	-4.3578	-2.4822
	7	-4.9825*	.30039	.000	-5.9203	-4.0447
1	0	.5225	.30039	.380	-.4153	1.4603
	4	-2.8975*	.30039	.000	-3.8353	-1.9597
	7	-4.4600*	.30039	.000	-5.3978	-3.5222
4	0	3.4200*	.30039	.000	2.4822	4.3578
	1	2.8975*	.30039	.000	1.9597	3.8353
	7	-1.5625*	.30039	.003	-2.5003	-.6247
7	0	4.9825*	.30039	.000	4.0447	5.9203
	1	4.4600*	.30039	.000	3.5222	5.3978
	4	1.5625*	.30039	.003	.6247	2.5003

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

PCA

Tukey HSD^{a,b}

MB.Süre	N	Subset		
		1	2	3
0	4	3.2850	6.7050	8.2675
1	4	3.8075		
4	4			
7	4			
Sig.		.360	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .180.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.11. Koliform sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
MB.Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
MB.Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VRBA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	94.140 ^a	6	15.690	23.611	.000
Intercept	251.698	1	251.698	378.770	.000
MB.Süre	93.534	3	31.178	46.919	.000
MB.Grup	.606	3	.202	.304	.822
Error	5.981	9	.665		
Total	351.819	16			
Corrected Total	100.121	15			

a. R Squared = .940 (Adjusted R Squared = .900)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VRBA

Tukey HSD

(I) MB.Süre	(J) MB.Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-1.550	.5764	.098	-3.349	.249
	4	-4.173*	.5764	.000	-5.972	-2.373
	7	-6.303*	.5764	.000	-8.102	-4.503
1	0	1.550	.5764	.098	-.249	3.349
	4	-2.623*	.5764	.008	-4.422	-.823
	7	-4.752*	.5764	.000	-6.552	-2.953
4	0	4.173*	.5764	.000	2.373	5.972
	1	2.623*	.5764	.008	.823	4.422
	7	-2.130*	.5764	.021	-3.929	-.331
7	0	6.303*	.5764	.000	4.503	8.102
	1	4.752*	.5764	.000	2.953	6.552
	4	2.130*	.5764	.021	.331	3.929

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

VRBA

Tukey HSD^{a,b}

MB.Süre	N	Subset		
		1	2	3
0	4	.960		
1	4	2.510		
4	4		5.133	
7	4			7.263
Sig.		.098	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .665.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek B.12. Küf maya sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
MB.Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
MB.Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PDA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.375 ^a	6	.229	1.000	.480
Intercept	1.563	1	1.563	6.818	.028
MB.Süre	.188	3	.063	.273	.844
MB.Grup	1.188	3	.396	1.727	.231
Error	2.063	9	.229		
Total	5.000	16			
Corrected Total	3.438	15			

a. R Squared = .400 (Adjusted R Squared = .000)

Ek B.13. Laktik asit bakterisi sayısı istatistiksel analiz sonuçları

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	N
MB.Süre 0	4
1	4
4	4
7	4
MB.Grup 0	4
1	4
2	4
3	4

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: LAB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19.333 ^a	6	3.222	6.339	.007
Intercept	50.980	1	50.980	100.299	.000
MB.Süre	13.869	3	4.623	9.095	.004
MB.Grup	5.464	3	1.821	3.583	.060
Error	4.574	9	.508		
Total	74.897	16			
Corrected Total	23.907	15			

a. R Squared = .809 (Adjusted R Squared = .681)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LAB

Tukey HSD

(I) MB.Süre	(J) MB.Süre	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	.8475	.50412	.594	-.9263	2.2213
	4	.1850	.50412	.982	-1.3888	1.7588
	7	-1.8025*	.50412	.025	-3.3763	-.2287
1	0	-.8475	.50412	.594	-2.2213	.9263
	4	-.4625	.50412	.797	-2.0363	1.1113
	7	-2.4600*	.50412	.004	-4.0238	-.8762
4	0	-.1850	.50412	.982	-1.7588	1.3888
	1	.4625	.50412	.797	-1.1113	2.0363
	7	-1.9875*	.50412	.015	-3.5613	-.4137
7	0	1.8025*	.50412	.025	.2287	3.3763
	1	2.4600*	.50412	.004	.8762	4.0238
	4	1.9875*	.50412	.015	.4137	3.5613

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

LAB

Tukey HSD^{a,b}

MB.Süre	N	Subset	
		1	2
1	4	.8950	3.3450
4	4	1.3575	
0	4	1.5425	
7	4		
Sig.		.594	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .508.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Ek C1. Marul Örneklerinin A, B, C, D gruplarına ait 0. ve 7. Gün Fotoğrafları



0. Gün



7. Gün

Ek C2.Salatalık Örneklerinin A, B, C, D gruplarına ait 0. ve 7. Gün Fotoğrafları



0.Gün



7. Gün

ÖZGEÇMİŞ

Nilay Sultan KANDEMİR, 1980 yılında İzmir’de doğmuş, ilk ve orta öğrenimini Uşak’ta, lise öğrenimini İzmir’de tamamlamıştır. 2002 yılında Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2004 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Uşak İl Tarım Müdürlüğü, Kontrol Şubesine gıda mühendisi olarak atanmış, halen buradaki görevine devam etmektedir.