

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UÇUCU YAĞ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BİYOPOLİMER BAZLI FİLMİN
PİLİÇ GÖĞÜS ETİNDE AMBALAJ MATERYALİ OLARAK KULLANIMI

Ezgi ERYİĞİT ARSLAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

UÇUCU YAĞ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BİYOPOLİMER BAZLI FİLMİN PİLİÇ GÖĞÜS ETİNDE AMBALAJ MATERYALİ OLARAK KULLANIMI

Ezgi ERYİĞİT ARSLAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Eda DEMİROK SONCU

Bu çalışmada, biberiye uçucu yağı (*Rosmarinus officinalis*) ve ZnO nanopartiküllerini ayrı ayrı (AFRO, AFZnO) ya da kombine (AFZnORO) bir şekilde içeren jelatin/karboksimetil selüloz/kitosan bazlı çok katmanlı biyoaktif filmlerin özellikleri karakterize edilmiş ve bu bağlamda filmlerin fiziksel ve bariyer özelliklerini belirlemek amacıyla film kalınlığı, filmin su içeriği, şişme kapasitesi, suda çözünürlüğü, su buharı geçirgenliği, opaklık, ışık geçirgenliği, L^* , a^* ve b^* renk ölçümü ve antioksidan kapasite analizleri yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise biyoaktif filmlerin piliç göğüs etinde ambalaj materyali olarak kullanılabilirliğini test etmek için bir model et çalışması kurgulanmıştır. Bu kapsamda, piliç et kesitleri biyoaktif filmler ile sarıldıktan sonra polistiren köpük tabaklara yerleştirilerek strech film ile kaplanmış ve 4°C’de 13 gün süreyle depolanmıştır. Piliç göğüs etinde kimyasal bileşimi belirlemenin yanı sıra, depolamanın 0., 1., 3., 5., 7., 9., 11. ve 13.günlerinde tüm gruplarda toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı, pH ve L^* , a^* , b^* renk değerleri, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARM) ve sülfidril miktarı belirlenmiştir.

Film karakterizasyon analizleri sonucunda film bileşimine biberiye uçucu yağı ilavesinin opaklığı artırdığı ve ışık geçirgenliğini azalttığı, filmin antioksidan kapasitesini artırdığı, film yapısına ZnO nanopartikül ilavesinin ise daha yüksek şişme kapasitesi ile sonuçlandığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Model et çalışmasının önemli çıktılarından biri hidrofilik polimerlerden oluşan biyoaktif filmin et ile teması sonucu etin yüzeyindeki suyu çekerek şişmesi, etin su içeriğinin azalması ve kuru yüzey oluşumuna bağlı olarak L^* , a^* , b^* renk değerlerinde ölçülen değişimlerdir. TMAB sayısı açısından en uzun depolama süresi AFRO ve AFZnORO gruplarında belirlenmiş ($p<0.05$), benzer şekilde bu gruplarda biberiye uçucu yağı kullanımına bağlı olarak TBARM değeri daha düşük ($p<0.05$) hesaplanmıştır.

Şubat 2023, 69 sayfa

Anahtar kelimeler: Çok katmanlı biyoaktif film, çinko oksit, biberiye uçucu yağı, oksidasyon, soğuk depolama

ABSTRACT

Master Thesis

BIOPOLIMER BASED FILM INCORPORATED WITH ESSENTIAL OIL AS AN ACTIVE PACKAGING MATERIAL IN BROILER BREAST MEAT

Ezgi ERYİĞİT ARSLAN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Food Engineering

Supervisor: Doç. Dr. Eda DEMİROK SONCU

In this study, the properties of gelatin/carboxymethyl cellulose/chitosan-based multilayer bioactive films containing rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) and ZnO nanoparticles separately (AFRO, AFZnO) or combined (AFZnORO) were characterized. Film thickness, water content, swelling capacity, water solubility, water vapor permeability, opacity, light transmittance, L^* , a^* and b^* color measurement and antioxidant capacity analyses were performed in order to determine the physical and barrier properties of the films. In the second phase of this thesis, a model meat study was designed to test the usability of bioactive films as packaging material in chicken breast meat. With that said, chicken meat sections were wrapped with bioactive films, placed on polystyrene foam plates, covered with cling film and stored at 4°C for 13 days. In addition to determining the chemical composition in chicken breast meat, total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) count, pH and L^* , a^* , b^* color values thiobarbituric acid reactive substance (TBARM) value and sulfhydryl content were determined at 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 and 13 days of storage.

As a result of the film characterization analysis, it was observed that the addition of rosemary essential oil to the film composition increased the antioxidant capacity and opacity of the film and decreased the light transmittance ($p < 0.05$). On the other hand, the addition of ZnO nanoparticles to the film structure resulted in a higher swelling capacity ($p < 0.05$). One of the important outputs of the model meat study is the swelling of the bioactive film consisting of hydrophilic polymers by absorbing the water on the contact surface of the meat. The decrease in the moisture content of the meat resulted in fluctuation in the L^* , a^* and b^* color values due to the dry surface formation. In terms of TMAB count, the longest storage time was determined in AFRO and AFZnORO groups ($p < 0.05$). Similarly, TBARM value was lower ($p < 0.05$) in these groups due to the use of rosemary essential oil.

February 2023, 69 pages

Keywords: Multilayered bioactive film, zinc oxide, rosemary essential oil, oxidation, chilled storage

TEŞEKKÜR

Danışmanlığımı üstlenen yüksek lisans eğitim hayatım ve tez çalışmam boyunca kıymetli görüşleri ve önerileriyle bana her konuda yol gösteren, desteğini her aşamada hissettiren, olumlu tavrı ile beni cesaretlendiren, akademik bilgisi ve tecrübesiyle her şekilde yardımcı olan çok değerli danışman hocam sayın Doç.Dr. Eda DEMİROK SONCU'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) öncelikli olarak çok teşekkür ederim.

Analizlerimde laboratuvar olanaklarından yararlandığım Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Arş. Grv. Dr. Simel BAĞDER ELMACI'ya teşekkür ederim.

Çalışmamda kullandığım piliç göğüs etini temin eden Beypiliç, Beypi Beypazarı Tarımsal Üretim Paz. San. Tic. A.Ş.'ye teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen, çalışma ortamını eğlenceli ve çalışılabilir kılan, sevgili laboratuvar arkadaşlarım, Özge Erke MAMAY'a ve Zeynep BACIN'a teşekkür ederim.

Hayatta olduğu gibi, tez çalışma sürecimde bana inanan ve her anlamda destek veren can eşim Oğulcan ARSLAN'a, hayatım boyunca beni destekleyen ve motive eden biricik kardeşim Ekin ERYİĞİT'e çok teşekkür ederim.

Ezgi ERYİĞİT ARSLAN
Ankara, Şubat 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Biyobozunur Ambalajlama ve Hazırlama Teknikleri	3
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1 Materyal	17
3.2 Yöntem	17
3.2.1 Film üretim yöntemi	17
3.2.2 Biyoaktif filmlerin piliç göğüs eti üzerine uygulanması	20
3.3 Analiz Yöntemleri	21
3.3.1 Film karakterizasyonuna ilişkin analiz metotları	21
3.3.1.1 Film kalınlığının ölçülmesi	21
3.3.1.2 Filmin su içeriğinin belirlenmesi.....	21
3.3.1.3 Filmin suda çözünürlük düzeyi.....	22
3.3.1.4 Filmin şişme kapasitesi	22
3.3.1.5 L^* , a^* , b^* renk ölçümü.....	22
3.3.1.6 Opaklık ölçümü	23
3.3.1.7 Işık geçirgenliğinin belirlenmesi.....	23
3.3.1.8 Su buharı geçirgenliğinin (WVP) belirlenmesi.....	23
3.3.1.9 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi	24
3.3.2 Model et çalışmasına ilişkin analiz yöntemleri.....	24
3.3.2.1 Genel bileşim analizleri.....	24
3.3.2.2 Ağırlık kaybının belirlenmesi	25
3.3.2.3 L^* , a^* , b^* renk değerlerinin ölçümü	25
3.3.2.4 pH değerinin ölçümü	25
3.3.2.5 Tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARM) sayısı.....	25

3.3.2.6 Sülfidril analizi	26
3.3.2.7 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı	26
3.3.2.8 İstatistik analiz	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1 Film Karakterizasyonuna İlişkin Analiz Sonuçları	28
4.1.1 Biyoaktif filmlerin kalınlığı	28
4.1.2 Biyoaktif filmlerin L^* , a^* ve b^* renk değerleri.....	28
4.1.3 Biyoaktif filmlerin opaklık düzeyi ve ışık geçirgenliği	30
4.1.4 Biyoaktif filmlerin su içeriği, şişme kapasitesi ve suda çözünürlük	33
4.1.5 Biyoaktif filmlerin su buharı geçirgenliği	35
4.1.6 Biyoaktif filmlerin antioksidan aktivite düzeyi	36
4.2 Model Et Çalışmasına İlişkin Analiz Sonuçları	37
4.2.1 Piliç etlerinin genel bileşim analiz sonuçları.....	37
4.2.2 Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim	38
4.2.3 Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi	41
4.2.4 Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişim.....	43
4.2.5 Depolama süresince piliç etlerinin L^* , a^* ve b^* renk değerindeki değişim	45
4.2.6 Depolama süresince piliç etlerinin TBARM değerindeki değişim	49
4.2.7 Depolama süresince piliç etlerinin sülfidril miktarındaki değişim.....	52
5. SONUÇ	55
ÖZGEÇMİŞ	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μL	Mikrolitre
%	Yüzde
Ag	Gümüş
a_w	Su aktivitesi
$^{\circ}\text{C}$	Celcius
Ca	Kalsiyum
$-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Karboksilik Asit
CO_2	Karbondioksit
Cu	Bakır
CuO	Bakır(2) Oksit
m	Metre
m^2	Metrekare
meq	Milieşdeğer
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
μmol	Mikromol
M	Molar
TiO_2	Titanyum dioksit
$-\text{SH}$	Sülfidril grubu
ZnO	Çinkooksit
sa	Saat
sn	Saniye
w/w	Kütle/kütle
w/v	Kütle/hacim

Kısaltmalar

ABS	Absorbans
ABTS/TEAC	Troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi
AITC	Alil izotiyosiyanat
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
CH	Kitosan
CH_2COONa	Sodyum Karboksimetil Grubu
CMC	Karboksimetil selüloz
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GSE	Üzüm çekirdeği ekstresi
HDPE	Yüksek Densiteli Polietilen

MAP	Modifiye atmosfer
MDA	Malondialdehit
NC	Nano selüloz
NLGeo	Nano-lipozomal sarımsak uçucu yağı
PBS	Polibütillen süksinat
PCA	Plate Count Agar
PCL	Polikaprolakton
PHA	Polihidroksi Alkanotlar
PHB	Polihidroksibütirat
PLA	Polilaktik asit
RS	Reaktif türler
TBA	Tiyobarbiturik asit
TBARM	Tiyobarbiturik asit reaktif madde sayısı
TBHQ	Tersiyer bütill hidrokinon
TCA	Triklorik asit
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
UV	Ultraviole
WVP	Su buharı geçirgenliği

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Biyopolimer ambalaj malzemelerinin yaşam döngüsü.....	3
Şekil 2.2 Aktif ambalajlamanın yakalama ve salınım fonksiyonlarına ilişkin görsel.....	4
Şekil 2.3 Biyoaktif film Üretiminde Çok Katmanlı Film hazırlama Metodu.....	7
Şekil 2.4 Aktif film üretiminde çok katmanlı film üretim metodu.....	12
Şekil 3.1 Farklı bileşime sahip biyoaktif filmlerin hazırlanışı.....	18
Şekil 3.2 Hazırlanan biyoaktif filmin piliç göğüs etine uygulanması.....	21
Şekil 3.3 Su buharı geçirgenliği testi için hazırlanan filmler.....	24
Şekil 4.1 Biyoaktif filmlere ait görseller.....	31
Şekil 4.2 Farklı film gruplarının 1. (a) ve 2. (b) tekerrür ışık geçirgenlik düzeyine ilişkin tarama grafikleri.....	32
Şekil 4.3 Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim.....	40
Şekil 4.4 Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi.....	43
Şekil 4.5 Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişim.....	44
Şekil 4.6 Depolama süresince piliç etlerinde L* değerindeki değişim.....	47
Şekil 4.7 Depolama süresince piliç etlerinde a* değerindeki değişim.....	47
Şekil 4.8 Depolama süresince piliç etlerinde b* değerindeki değişim.....	48
Şekil 4.9 Depolama süresince piliç etlerinde ölçülen TBARM değerindeki değişim....	50
Şekil 4.10 Depolama süresince piliç etlerinde ölçülen sülfidril miktarındaki değişim...	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Biyopolimerlerin sınıflandırılması ve kaynağı.....	8
Çizelge 4.1	Film karakterizasyonuna ilişkin analiz sonuçları.....	29
Çizelge 4.2	Piliç göğüs etlerinin su, protein, yağ ve kül içerikleri.....	38
Çizelge 4.3	Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim.....	39
Çizelge 4.4	Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi.....	42
Çizelge 4.5	Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişimi.....	44
Çizelge 4.6	Depolama süresince piliç etlerinin L*,a*,b* renk değerlerindeki değişim.....	46
Çizelge 4.7	Depolama süresince piliç etlerinin TBARM değerindeki değişim.....	50
Çizelge 4.8	Depolama süresince piliç etlerinin sülfidril miktarındaki değişim.....	53

1. GİRİŞ

Gıda ambalajı için kullanılan petrol türevli malzemelerden üretilen plastiklerin çevre kirliliğine sebep olduğu bilinmektedir (Davis ve Song 2006). Petrol kaynaklarının sınırlı olması ve çevreye olumsuz etkisi nedeniyle gıda ambalaj malzemesi üretiminde yenilenebilir kaynakların kullanımı giderek artmaktadır (Namazi ve Mosadeg 2011). Yenilenebilir kaynaklı ambalaj hammaddesi olarak karbonhidrat, protein ve lipit gibi doğal kaynaklı polimerler kullanılmaktadır (Çelebi ve Dehmen 2013). Bu bağlamda, gıda ile çevre arasında nem, oksijen ve karbondioksit için bariyer özelliği göstererek gıdaların kalite özelliklerini geliştirmek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yenilebilir ve doğada biyolojik olarak parçalanabilen filmlere olan ilgi giderek artmaktadır (Canbaz 2021).

Bir et ürününü satın almadan önce ve sonra tüketicilerin ilk ve nihai kalite değerlendirmesini etkileyen en önemli ve algılanabilir et özellikleri; görünüm, kıvam, sululuk, sertlik, hassasiyet, koku ve aromadır (Mir 2017). Yapısı gereği daha kolay bozulma eğiliminde olan taze ve işlenmiş et ürünlerinin üretimi ve depolanması sürecinde birçok mikrobiyolojik, enzimatik, fizikokimyasal ve biyokimyasal değişim meydana gelmektedir. Bununla birlikte tüketiciler, katkı maddelerinin daha az kullanıldığı, doğal özellikleri en az düzeyde değişmiş, kolay hazırlanabilen, daha uzun raf ömrüne sahip, uygun maliyetli gıdaları daha çok tercih etmektedirler (Çelebi Sezer ve Bozkurt 2021).

Çiğ piliç etinin bakteriyel kontaminasyon durumu gerek insan sağlığı gerekse ekonomik açıdan önemli bir sorundur. Yüksek besin ve su aktivitesi ile uygun pH değerlerine sahip olması mikroorganizmaların gelişmesi için uygun ortam hazırlamaktadır (Yıldırım vd. 2015). Kanatlı etinde ön plana çıkan mikroorganizmalar, kanatlı eti tüketimine bağlı insan gastroenteritinden sorumlu iki ana patojen olan *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi patojenik türleri içerebilir (Rouger vd. 2017). Bununla birlikte, araştırmacıların bu gıdalar için, bozulma yapıcı veya patojen nitelikte mikroorganizmaları sayıca indirgeyebilecek veya elemine edebilecek, doğal ve kabul edilebilir özellikte antimikrobiyal ve antioksidan maddeleri ya da uygulamaları bulma arayışları artarak devam etmektedir (Harmankaya ve Vatansever 2016). Gıda kalitesi ve güvenliğiyle ilgili endişeler nedeniyle, gıda raf ömrünü uzatmak için özellikle antioksidan ve antimikrobiyal ambalaj uygulamaları gibi

aktif ambalaj geliştirmeye olan ilgi son zamanlarda artmıştır (Söğüt ve Seydim 2020). Bu alanda en çok kullanılan aktif bileşenler arasında güçlü biyolojik aktiviteye sahip olan uçucu yağlar gelmektedir.

Nane familyasına ait olan biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*), dünyanın pek çok yerinde yetişen yoğun yapraklı, yaprak dökmeyen aromatik bir bitkidir. Taze ve kurutulmuş yaprakları Akdeniz mutfağında sıklıkla kullanılmaktadır (Jiang vd. 2011). Uçucu yağlar arasında etkili antioksidan özelliklere ilişkin çalışmaların çoğu biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) bitkisinden elde edilen özlere ilişkilidir (Abdollahi vd. 2012). Biberiye uçucu yağı güçlü antioksidan özellikleriyle bilinir ve birçok çalışma biberiye uçucu yağının gıda ürünlerinin oksidasyonunu kontrol ettiğini göstermiştir. Aynı zamanda kanatlı etlerinde bozulmaya neden olan baskın bakterilerden biri olan *Pseudomonas spp.* 'ye karşı da güçlü antimikrobiyel etkiye sahiptir (Fiore vd. 2021).

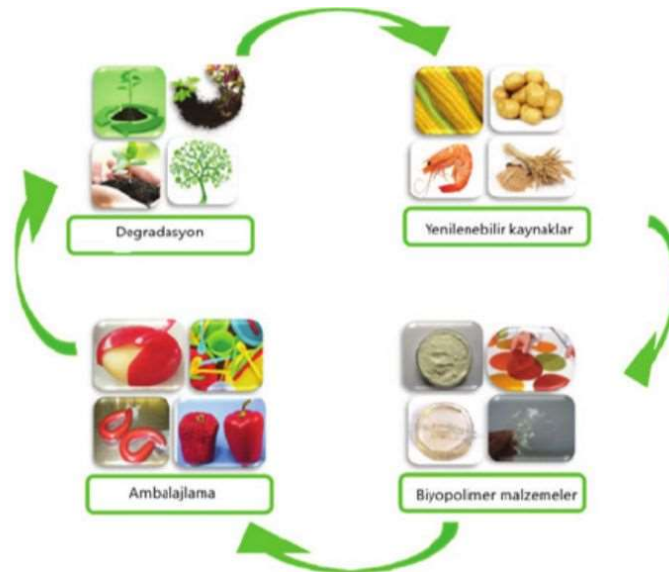
İnorganik nanoparçacıklar (NP'ler) yüksek ısı stabilitesi, yüksek yüzey hacim oranı ve yüksek reaktivitesi gibi özellikleri nedeniyle aktif ambalajlarda kullanılmaya uygundur (Amna vd. 2013). Çinko oksit nanoparçacıkları (ZnONP) gıda ve tıbbi alanlarda ilgi gören antibakteriyel ajanlardır ve yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler (Amjadi vd. 2019). Nanoparçacıklar Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır ve kullanımını GRAS statüsünde güvenli kabul edilmektedir (Noshirvani vd. 2017).

Bu bilgiler ışığında bu tez kapsamında piliç göğüs etinde biyobozunur ambalaj materyali olarak kullanım amacıyla antioksidan ve antimikrobiyel özelliğe sahip biberiye uçucu yağı ve ZnO nanopartikülleri içeren jelatin/karboksimetil selüloz/kitosan bazlı filmin tasarlanması, bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi ve soğuk depolama (4°C) süresince piliç etinin biyokimyasal ve mikrobiyolojik kalite parametreleri üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

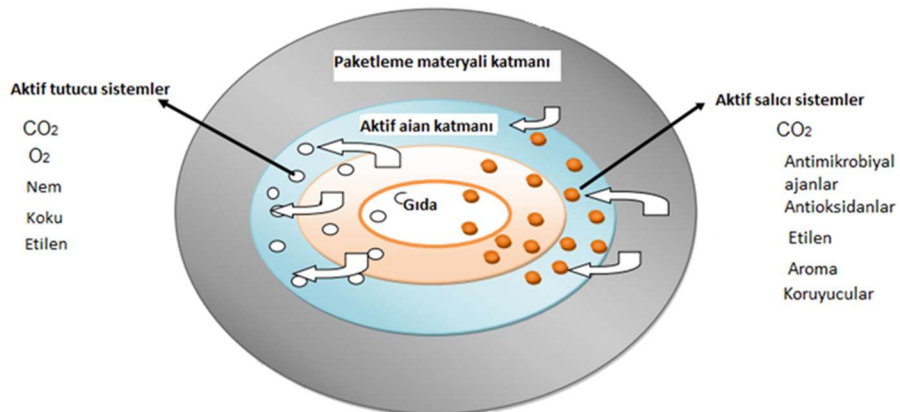
2.1 Biyobozunur Ambalajlama ve Hazırlama Teknikleri

Gıda ambalaj endüstrisinde petrol türevli malzemelerden üretilen plastiklerin çevre kirliliğine sebep olduğu bilinmektedir (Davis ve Song 2006). Plastikler kullanışlı olmasına rağmen, çevreye, su kaynaklarına ve tüm ekosisteme zarar vermektedir. Çevrede plastik birikimi, ekilebilir alanların azalması, petrol kuyularının aşınması, yakma sırasında açığa çıkan gazlar nedeniyle son zamanlarda yapılan çalışmalar biyolojik olarak parçalanabilen ambalaj materyallerinin geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Ivankovic vd. 2017). Çevre dostu ambalaj materyali olarak bilinen, geliştirilebilir/iyileştirilebilir mekanik ve bariyer özelliklere sahip olan biyobozunur ambalaj materyalinin gelecekte plastik ürünlerin yerini alması beklenmektedir (Shankar ve Rhim 2018). Biyobozunur ambalaj materyali yenilenebilir kaynaklardan elde edilir ve bu materyallerin üretildiği hammaddeler biyopolimer olarak adlandırılır (Bajpai 2019). Biyobozunur ambalaj materyalleri bakteri, mantar ve alg gibi mikroorganizmaların enzimatik aktiviteleri sonucu doğada kısa sürede bozunabilen özelliklere sahiptirler (Gross ve Kalra 2002). Şekil 2.1’de biyopolimerlerin yaşam döngüsü kısaca özetlenmiş olup bu bağlamda döngü yenilenebilir doğal kaynaklardan biyopolimerin eldesi, ambalaj materyaline dönüştürülmesi, sektörel alanda kullanımı ve doğada bozunması olmak üzere 4 temel aşamayı içermektedir (Popović 2018).



Şekil 2.1 Biyopolimer ambalaj malzemelerinin yaşam döngüsü (Popović 2018)

Biyobozunur ambalaj filmleri yapılan çalışmalarda tek başlarına kullanılabildiği gibi konvansiyonel ambalajlama teknikleri, yenilebilir film/kaplama veya aktif ambalajlama yöntemleri ile kombine kullanılarak da gıdalara uygulanabilmektedir (Shaikh vd. 2021). Aktif ambalajlama, gıda, ambalaj materyali ve gıda ile ambalaj arasındaki boşluğu içine alan ve bu 3 bileşenin gıdanın kalitesini ve güvenliğini koruyarak raf ömrünü uzatmak amacıyla birbiri ile ilişkili olduğu sistem olarak tanımlanır (Ahmed vd. 2017; McMillin 2017; Özdemir ve Floros, 2004). Aktif ambalajlama sistemlerinde aktif ajan ya ambalaj içerisine yerleştirilir ya da ambalaj filminin yapısına dahil edilir. Şekil 2.1’de de şematize edildiği gibi ambalaj sisteminin tasarımına bağlı olarak değişmekle birlikte aktif ajanın yakalama aktivitesi ya da salınım aktivitesi olmak üzere iki farklı fonksiyonu vardır. Yakalama aktivitesi gıdadan ambalaj içerisine salınan ve istenmeyen kalite değişikliklerine neden olan CO₂, O₂, su buharı, etilen ve kötü koku bileşiklerinin aktif ajanlar tarafından tutularak gıda kalitesinin korunmasını amaçlar. Salınım aktivitesi ise aynı amaçla, istenmeyen kalite değişikliklerini engellemek ya da geciktirmek için aktif ajanlardan CO₂, O₂, antioksidan madde, antimikrobiyel madde, etilen, tat ve koku verici maddeler ile koruyucuların gıda üzerine ya da ambalaj boşluğuna salınımı olarak tanımlanır (Ahmed vd. 2017). Nem tutucular, antimikrobiyel film, antioksidan film, CO₂ tutucular/salıcılar ile oksijen tutucular özellikle meyve sebze endüstrisi ile et ve ürünlerinde kullanım alanı bulan aktif ambalajlama yöntemleridir (McMillin 2017). Aktif ambalajlamaya konu olan ajanların biyopolimer ambalaj malzemeleri ile kullanımı sonucu biyoaktif ambalaj kavramı ortaya çıkmıştır.



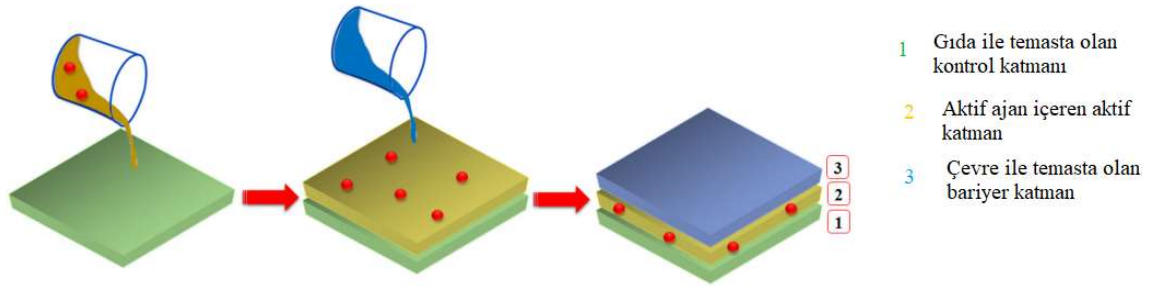
Şekil 2.2 Aktif ambalajlamanın yakalama ve salınım fonksiyonlarına ilişkin görsel (Ahmed vd. 2017).

Yapılan alışmalar biyobozunur ambalaj (film) materyallerinin karakteristik özelliklerini ve gıda endüstrisinde uygulama başarısını belirleyen faktörlerin materyal bileşiminde kullanılan polimer veya polimerlerin karakteristik özelliğinin, film üretim tekniklerinin, biyoaktif sistemlerde aktif ajanın konsantrasyonunun ve salınım düzeyinin, film kalınlığının, katman sayısının, çok katmanlı filmlerde ise, i katmanın difüzyon özelliklerinin ve katmanların birbirlerine bağlanma şekillerinin olduğunu ortaya koymuştur (Dominguez vd. 2019).

Literatür verileri incelendiğinde tek ya da çok katmanlı film üretiminde farklı tekniklerin kullanıldığı görölmektedir. Dökme (casting) yöntemi laboratuvar koşullarında en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Yöntemin temelini polimerin uygun çözücü içerisinden çözündükten sonra plastikleştiricinin ilavesi ve filmin belirlenen koşullarda kurutulması oluşturur. Zaman isteyen bir teknik olup, çok katmanlı film üretiminde kullanıldığında farklı polimerler ve katmanlar arasındaki temas yüzeyinde moleküller arası interaksasyonu yöntemin başarısını belirler. LbL-dökme (Layer-by-layer casting) yöntemi ise düşük maliyetli, farklı polimerlerin bir arada kullanımına olanak veren, kolay uygulanabilir ancak uzun zaman alan bir teknik olup özellikle çok katmanlı film üretiminde kullanılmaktadır. Bu tekniğin başarısında zıt elektrostatik yüklere sahip polimerlerin kullanımı önemlidir. Çünkü bu teknikte katmanlar birbirlerine negatif ve pozitif yüklerin elektrostatik olarak birbirini çekmesi sonucu hidrojen bağları ve geişimli aę yapısı kurarak tutunmaktadır. Basınçlı kalıplama (compression moulding) bir diğer teknik olup uygulama kolaylığı, düşük maliyeti, kısa proses süresi ve boyutsal olarak tek tipte film üretimi yöntemin avantajlarıdır. Bu yöntemde, yalnızca basınç ya da basınç ve ısı bir arada kullanılarak kullanılan kalıbın boyut ve şekline uygun ince film üretimi mümkündür. Ekstrüzyon birçok polimerin işlenmesine olanak veren bir tekniktir. Polimer solüsyonu, ekstrüder kullanılarak yüksek sıcaklık ve yüksek basınç altında ekstrüderin çıkış noktasına gönderilir. Bu teknik özellikle iki ya da daha fazla polimerin aynı anda işlenmesine olanak vermekte olup polimerler güçlü arayüzey adhezyonu ile birbirlerine tutunurlar. Bu zellik ekstrüzyon tekniğinin çok katmanlı fim üretiminde başarılı bir şekilde kullanımına olanak sağlar. Film üretiminde kullanım alanı bulan bir diğer popüler teknik ise elektro-eğirme (electrospinning) olup uygulama kolaylığı, düşük maliyetli oluşu ve birçok faktörün proses sırasında kontrol edilebilmesi yöntemin avantajlarıdır.

Bu tekniğin prensibi, bir enjektör içerisine polimer solüsyonunun doldurulması, yüksek akım altında elektrostatik itme gücü kullanılarak solüsyonun nano boyutlara dönüştürülerek iplik formunda toplayıcı yüzey üzerine püskürtülmesi ve filmin bu yüzeyde nanolif yapısında oluşturulmasıdır (La Fuente Arias vd., 2021). Bu yöntemlere ek olarak çok katmanlı film üretiminde ya da aktif ajanın polimer yüzeyine immobilizasyonunda alt katmanı oluşturan polimerin yüzeyinin farklı yöntemlerle (kimyasal uygulama, corona uygulaması, iyonlaştırma, soğuk plazma vb.) modifikasyonuna dayanan ve böylece bir sonraki katman/aktif bileşiğin adhezyonunu kolaylaştıran yöntemlerde mevcuttur (Dominguez vd. 2018).

Ambalaj materyallerinin karakteristik özelliğini etkileyen bir diğer parametre ise filmin tek ya da çok katmanlı oluşudur. Tek katmanlı filmlerin en büyük dezavantajı, film bileşiminde bulunan antioksidan ya da antimikrobiyel özellik gösteren aktif ajanın ambalaj dışına salınımından dolayı etkinlik kaybıdır (Dominguez vd. 2018). Çok katmanlı filmlerde ise farklı özellik gösteren iki ya da daha fazla polimer kullanılır ve bu filmler 3 ila 7 aralığında değişen sayıda katman içerirler (Alias vd. 2022). Dış katman bariyer olarak görev yaparken, matriks (orta) katmanı aktif ajanı taşıyan katman olup iç katman ise bu aktif ajanın kontrollü salınımından sorumludur. Çok katmanlı filmlerdeki bu yapı aktif ajanın ambalaj dışına salınımını azaltabilmektedir (Karagöz ve Candoğan, 2007). Çok katmanlı film üretiminde Şekil 2.3'te görüldüğü üzere LbL-dökme yöntemi hem tekniğin kolaylığı hem düşük maliyetli oluşu hem de ince film üretimine olanak vermesi açısından avantajlı bir uygulamadır (Almasi vd. 2020). Ayrıca, çok katmanlı film üretiminde farklı polimerlerin kombine kullanımı filmin mekaniksel ve bariyer özelliklerinin geliştirilmesini sağlamaktadır (Dominguez vd. 2018). Yapılan çalışmalar çok katmanlı filmlerin tek katmanlı filmlere kıyasla daha iyi mekanik özellik, yapışma kabiliyeti, düşük sıcaklık dayanımı ile oksijen, karbondioksit ve aroma bileşikleri gibi gazlara ve su buharına karşı daha iyi bariyer özelliği gösterdiğini ortaya koymuştur (Alias vd. 2022). Çok katmanlı film üretiminde dikkate edilmesi gereken en önemli unsur ise film hazırlama metoduna göre değişmekle birlikte farklı katmanların difüzyonla, elektrostatik bağlarla veya adsorpsiyon ile birbirlerine tutunmasıdır (La Fuente Arias vd. 2021).



Şekil 2.3 Biyoaktif film Üretiminde Çok Katmanlı Film hazırlama Metodu (Almasi 2020)

2.2 Biyobozunur Ambalajlamada Kullanılan Biyopolimerler ve Aktif Ajanlar

Biyopolimer bazlı ambalaj materyallerinin hazırlanmasında üç farklı yöntemle doğal kaynaklardan elde edilen biyolojik polimerler kullanılmaktadır (Cha 2004). Bu polimerler;

- [1] Nişasta, selüloz, protein, lipit ve deniz prokaryotları gibi doğal hammaddelerden doğrudan ekstrakte edilen polimerler
- [2] Biyolojik olarak doğal hammaddelerden sentezlenmiş monomerlerden kimyasal sentezle üretilen polimerler
- [3] Hidroksi-bütirat ve hidroksi-valerat gibi mikroorganizmalar tarafından üretilen polimerler

Literatür taramaları sonucu farklı çalışmalarda kullanılan farklı kaynaklardan elde edilen doğal ve sentetik polimerler çizelge 2.1’de sınıflandırılmıştır. Protein yapısındaki jelatin, gluten, zein, keratin, süt, et veya soya proteini; polisakkaritlerden nişasta, selüloz, kitosan, pektin, aljinat, karragenan ve lipitler biyobozunur film üretiminde kullanılan polimerlerden bazılarıdır. Biyoçözünür, çevre dostu, sürdürülebilir, düşük toksisiteli, geri dönüşüme ve tekrar kullanıma uygun olmaları; O₂, CO₂ ve aroma bileşiklerine karşı bariyer özellik göstermeleri, dayanıklı ve esnek olmaları biyopolimerlerin önemli avantajlarıdır (Ahmed vd. 2017, Dominguez vd. 2018, Wang vd. 2019). Ancak sert ve kırılgan yapıları ile proteinlerin ve polisakkaritlerin su buharına karşı düşük bariyer özelliği göstermeleri biyopolimerlerin ambalaj filmi olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak amacıyla film üretiminde plastikleştirici kullanımı ve

farklı biyopolimerlerin birbiriyle veya sentetik polimerler ile kombine kullanımı sıklıkla başvurulan yöntemlerdir (Dominguez vd. 2018).

Çizelge 2.1 Biyopolimerlerin sınıflandırılması ve kaynağı

Biyopolimer	Kaynağı	Polimerlerin Sınıflandırılması	Referans
Selüloz	Polisakkarit	Doğal Polimer	Coma (2013)
Aljinat	Polisakkarit	Doğal Polimer	Altenhofen da Silva vd. (2013)
Kitin	Polisakkarit	Doğal Polimer	Nair ve Laurencin (2007)
Niştasta	Polisakkarit	Doğal Polimer	Abreu vd. (2015)
Gellan	Polisakkarit	Doğal Polimer	Prajapati vd. (2013)
Karragenan	Polisakkarit	Doğal Polimer	Cha vd. (2002) Kanmani and Rhim (2014)
Kolajen	Protein	Doğal Polimer	Nair ve Laurencin (2007)
Jelatin	Protein	Doğal Polimer	Ahmad vd. (2012) Min ve Oh (2009)
Peynir altı suyu proteini	Protein	Doğal Polimer	Chandra ve Rustgi (1998)
Soya proteini	Protein	Doğal Polimer	Monedero vd (2010)
Zein	Protein	Doğal Polimer	Jiangvd. (2022) Liu vd. (2014)
Kazein	Protein	Doğal Polimer	Folegatti vd. (1998) ve Ghosh vd. (2009)
Gluten	Protein	Doğal Polimer	Wang vd. (2009), Jansens vd. (2013).
Polihidroksibütirat (PHB)	Mikroorganizma Kaynaklı	Doğal Polimer	Xavier vd. (2015)
Polihidroksi Alkanoatlar (PHA)	Mikroorganizma Kaynaklı	Doğal Polimer	Lin vd. (2018)
Polilaktik asit (PLA)	Alifatik polyesterler	Doğal Polimer	Auras vd. (2004)
Polilaktik asit (PLA)	Biyoteknoloji	Sentetik Polimer	Lunt (1998)
Polibütlen süksinat (PBS)	Biyoteknoloji	Sentetik Polimer	Niaounakis (2013)

Biyobozunur ambalaj materyali üretiminde kullanılan her bir polimerin kendine özgü karakteristik özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Hazırlanan materyal gıda endüstrisinde kullanılacak ise bu noktada önemli olan, kullanılacak polimerin gıda ile temasa uygun olması, filmin mekaniksel ve bariyer özelliklerinin kullanılacak gıdanın özelliklerini

karşılması ve biyoaktif filmlerde aktif ajanın salınım düzeyinin amaca uygun olmasıdır (Dominguez vd. 2018). Yapılan bu tez çalışması kapsamında amaç piliç göğüs etinde kullanılmak üzere çok katmanlı biyoaktif özellik gösteren bir ambalaj materyalinin geliştirilmesidir. Yapılan çalışmalarda, özellikle et ve ürünlerinde ambalaj materyali olarak kullanılacak biyoaktif filmlerin taze ya da donuk olarak depolanan etlerde su kaybını minimize etmesi, lipit ve pigment oksidasyonunu yavaşlatması, dış ortamdan ambalaj içerisine O₂ ve CO₂ geçişini engellemesi, aroma ve koku bileşiklerinin kaybına karşı iyi bir bariyer özelliği göstermesi ve yüzeysel mikrobiyel gelişimi inhibe etmesi beklenmektedir (Ahmed vd. 2017). Bu bilgiler ışığında, planlanan tez kapsamında biyoaktif filmin jelatin, karboksimetil selüloz (CMC) ve kitosan bazlı olmasına dikkat edilmiştir. Bu polimerler seçilirken karakteristik özellikleri dikkate alınmış ve tezin ilgili başlığı altında da sadece bu polimerlerin karakteristik özelliklerinin açıklamasına yer verilmiştir.

Jelatin, kollajenin kısmi veya tam hidrolizinden elde edilen, düşük maliyetli ve yüksek kullanılabilirliğe sahip, tatsız, renksiz, suda çözünür bir protein olup güçlü mekanik ve bariyer özelliklere sahiptir. Jelatin proteininin üçlü sarmal yapısı filme mekanik güç sağlar ve jelatin yapısında bulunan farklı amino asitler UV radyasyonunu kolayca emerek gıdaları oksidatif hasardan korur. Tüm bu özellikleri jelatini ambalaj filmleri için uygun bir polimer olarak karşımıza çıkarmaktadır. Ancak jelatinin hidrofilik yapısı nedeniyle yüksek nem içeriğine sahip gıda maddelerinin yüzeyi ile temas ettiğinde şişme veya çözünme eğilimi vardır. Jelatinin bu özelliğini iyileştirmek için jelatin bazlı filmlere çapraz bağlayıcılar, güçlendirici maddeler, plastikleştiriciler ya da antimikrobiyel veya antioksidan özelliklere sahip aktif ajanların ilavesi yönünde literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur (Ramos vd. 2016). Bu olumsuz özelliğine rağmen, şeffaf yapısı, gaz bariyer kabiliyeti, film oluşturma kapasitesi sayesinde antimikrobiyel ve antioksidan ajanlar için taşıyıcı ortam oluşturmada jelatini gıda endüstrisinde ambalaj materyali olarak kullanılabilmesi için umut verici bir aday haline getirmiştir (Luo vd. 2022 Ahmadi vd. 2020, Nur Hanani vd. 2014 ve Tang vd. 2012).

Selüloz bitkilerde ve bazı alglerde, şeker kamışında, pamuk fibrillerinde bulunan kompleks karbonhidratlardan oluşan yapısal bir bileşendir. Düşük yoğunluk, toksik

olmama, biyoyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik, iyi film oluşturma kabiliyeti selülozu ambalaj materyalleri için iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkarmaktadır (Thulasisingh vd. 2022). Karboksimetil selüloz (CMC) ise selülozun önemli türevlerinden biridir. Bu polimer mekanik mukavemeti, viskoz yapısı, düşük maliyetli sentez prosesi, kokusuz, tatsız oluşu, esnekliği, şeffaf yapısı, nem ve oksijene karşı bariyer özelliği göstermesi sayesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Coma 2013, Saberi Riseh vd. 2023). CMC'nin benzersiz kimyasal yapısı, selüloz birimlerinin bazı hidroksil gruplarına bağlı -CH₂-COOH gruplarının varlığıdır. Selüloz molekülüne eklenen sodyum karboksimetil grubu (CH₂COONa), selülozdan farklı olarak CMC'yi suda çözünür hale getirir. (Saberi Riseh vd. 2023). CMC'nin en önemli dezavantajı ise hidroksil grubuna sahip olması nedeniyle hidrofilik yapısıdır (Coma 2013, Bajpai 2019).

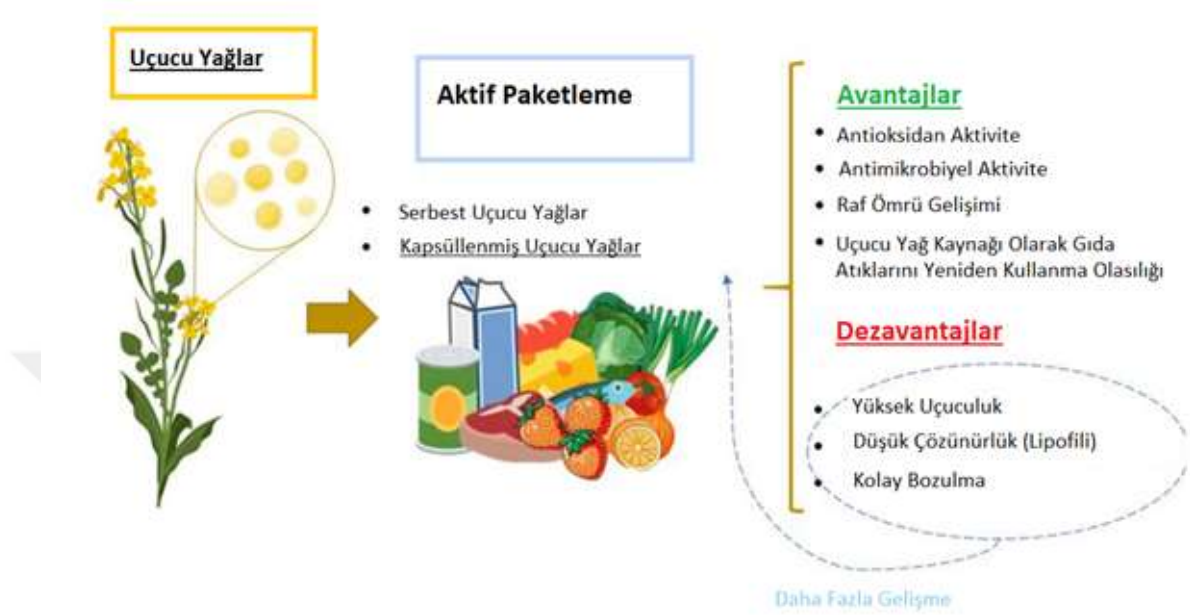
Dünya'da en çok bulunan ikinci biyopolimer olan kitinin deasetilasyonu ile üretilen kitosan, D glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin içeren lineer bir amino polisakkarittir (Hemalatha vd. 2017, Jimenez Gomez ve Cecillia 2020). Kitosan suda ve alkali ortamlarda çözünmez bunun nedeni kristal yapısı ve güçlü molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağıdır. Kitosan seyreltik asit çözeltilerinde çözülebilir ve film oluşturma kabiliyetine sayesinde ambalaj filmleri, yenilebilir film gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Qian ve Ding 2018 Vroman ve Tighzert 2009). Kitosanın çözünürlüğü, deasetilasyon derecesine, asetil gruplarının ana zincir boyunca dağılımına, moleküler ağırlığa ve protonasyon için kullanılan asidin doğasına bağlıdır (Mitelut vd. 2015). Moleküler ağırlık çözünürlüğün yanı sıra filmin elastikiyet veya kırılgenlik gibi mekanik özelliklerini de etkileyen bir parametredir (Mitelut vd. 2015). Gıda ambalaj materyalinin bir bileşeni olarak antimikrobiyel ve antifungal özellikler gösteren kitosan, yalnızca gıdalardaki mikrobiyel gelişimi geciktirmek için değil, aynı zamanda gıdaların raf ömrünü uzatmak ve kalitesini iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Antimikrobiyel ve antifungal özelliğinin yanı sıra kitosanın toksik olmadığı, biyolojik olarak parçalanabildiği, biyofonksiyonel ve biyoyumlu olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Kitosanın antimikrobiyel özelliği kitosan türü, deasetilasyon derecesi, polimerizasyon, molekül ağırlığı, hedef organizma, sıcaklık ve özellikle pH, iyonik kuvvet ile önemli ölçüde değişmektedir. Kitosanın antimikrobiyel aktivitesi uzun pozitif yüklü kitosan moleküllerinin, negatif yüklü bakteri hücre duvarı zarı ile etkileşime

girmesiyle açıklanmaktadır. Kitosan filmlerinin düşük mekanik ve gaz bariyer özellikleri ile neme karşı zayıf bariyer oluşturmaları kullanımını sınırlandırmaktadır (Aider 2010, Abdollahi vd. 2012, Mitelut vd. 2015).

Biyopolimer filmler aktif ajanların taşınması için mükemmel bir matriks olmakla birlikte yapılan çalışmalarda biyobozunur ambalaj materyallerine metal oksitler, antimikrobiyel, antioksidan ve antifungal özellik gösteren aktif ajanlar ilave edilerek filmin etkinliğinin artırılması amaçlanmaktadır. Çeşitli bitki ve baharatlardan elde edilen, bileşimindeki etken madde sayesinde antioksidan, antimikrobiyel, antifungal özellik gösteren uçucu yağlar veya ekstraktlar gerek film bileşiminde kullanılarak veya direkt gıdaya uygulanarak ürünlerin raf ömrünü uzatmak, kalitesini ve duyu özelliklerini korumak amacıyla kullanım alanı bulmuştur (Botsoglou vd. 2003).

Uçucu yağlar çeşitli bitkilerden ekstrakte edilen ikincil metabolitler olup, bitkilerin savunma sisteminde önemli bir rol oynarlar. Uçucu yağlar antioksidan ve antimikrobiyel özelliklere sahip olan biyoaktif bileşiklerin kaynağıdır. Uçucu yağlar; yapraklar, ağaç kabukları, çiçek tomurcukları, tohumlar vb. gibi bitkilerin farklı kısımlarından çeşitli destilasyon yöntemleriyle ekstrakte edilebilirler (Chouliara vd. 2007). Uçucu yağların ambalaj filmlerinde kullanımı önemli avantajlar getirmektedir (Şekil 1.4). Bu avantajlar, antioksidan ve antimikrobiyel/fungal özellik gösteren bileşenlerin gıdalara büyük oranda nüfuz edebilmeleri, salınımlarının kontrol edilebilmesi ve dolayısıyla etkisini uzun süre gösterebilmeleri, polimer ile gıdanın doğrudan temasını gerektirmemesi (Abreu vd. 2012), antioksidan ve antimikrobiyel özellik göstererek gıdanın raf ömrünü uzatması ve kalitesini iyileştirmesi ile gıda atıklarından ekstrakte edilen biyoaktif bileşenlerin film yapısında kullanılarak yeniden sektöre kazandırılması (Carpena vd. 2021) şeklinde sıralanabilir. Ancak lipofilik yapıları nedeni ile hidrofilik karakterdeki polimer içerisinde homojen dağılım göstermemesi, yüksek uçuculuk ve kolay bozulabilme ise uçucu yağların biyoaktif filmlerde kullanımı noktasında dezavantajlar olarak bilinmektedir (Carpena vd. 2021).

Zencefil, karanfil, biberiye, fesleğen ve kekik (Konuk Takma ve Korel 2019) ile tarçından (Fратиanni vd. 2010, Yıldırım vd. 2017) ekstrakte edilen uçucu yağlar yapılan çalışmalarda biyobozunur filmlerin bileşiminde kullanım alanı bulmuştur.



Şekil 2.4 Biyoaktif filmlerde uçucu yağ kullanımının avantaj ve dezavantajları (Carpene 2021)

Son zamanlarda nanoteknoloji biyobozunur filmlerin kusurlarının üstesinden gelmek, bazı olumsuz özelliklerini iyileştirmek için kullanılan en son tekniklerden biridir. Biyonanokompozitler genellikle nanoparçacıklarla güçlendirilmiş biyopolimer ağdan oluşur. Nanopartiküller, filmlerin nem ve gazlara karşı bariyer özelliklerini, mekanik mukavemetini, ısı direncini ve yüzey özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılmaktadır (Mostafavi ve Zaeim 2020). Titanyum oksit (TiO_2), çinko oksit (ZnO) ve bakır oksit gibi (CuO) gibi metal oksit nanoparçacıklarının, aktif biyopolimer ambalaj üretimi için termal olarak kararlı antimikrobiyel ajanlar olarak kullanılması, gıda kaynaklı hastalıkları önlemenin ve böylece gıda güvenliğini artırmanın yollarından biridir (Ahmadi vd. 2020).

Metal oksitler arasında çinko oksit (ZnO) olağanüstü antimikrobiyel ve fotokatalitik özellikleri nedeniyle biyoaktif film çalışmasında yaygın kullanıma sahiptir (Al-Naamani vd. 2016). FDA (Bölüm 182.8991) tarafından gıdalarda kullanımı güvenli (GRAS) olarak

kabul edilen beş çinko öncüsünden biridir (Shahmohammadi ve Almasi 2016). Çinko oksit nanoparçacıkları, kristal yapıya, geniş yüzey alanına, düşük sitotoksisiteye, yarı iletken davranışa ve mükemmel mekanik, antimikrobiyel, termal ve UV ışık bariyeri özelliklerine sahiptir (Ahmadi vd. 2020).

Elde edilen literatür bilgileri ışığında, bu çalışma kapsamında piliç göğüs etinde raf ömrünü uzatmak ve 4°C’de depolama süresince kalite parametrelerindeki değişimi minimize etmek amacıyla biyoaktif film hazırlanması amaçlanmıştır. Bu kapsamda çalışmanın ilk aşamasında LbL-dökme tekniği kullanılarak jelatin, CMC ve kitosan polimerlerinden oluşan bir film hazırlanması ve bu filmin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca filme antioksidan ve antimikrobiyel özellik kazandırmak amacıyla CMC katmanına biberiye uçucu yağı, UV bariyer özelliğini iyileştirmek için ZnO nanopartiküllerinin jelatin katmanına ilave edilmesi planlanmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise geliştirilen bu filmin model sistemde piliç göğüs etine uygulanarak 4°C’de 13 gün boyunca depolama süresince mikrobiyel ve fizikokimyasal kalite parametrelerindeki değişimin analizlerle incelenmesi hedeflenmiştir.

2.3 Et ve Ürünlerinde Biyobozunur Film Uygulamalarına İlişkin Yapılan Çalışmalar

Yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyonda selüloz nanolifi (%2.5, %5 ve %7.5) ve ZnO nanoparçacıkları içeren jelatin bazlı nanokompozit film dökme yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan aktif film ile kaplanan piliç fileto 4°C’ de 12 gün süreyle depolanarak mikrobiyel değişim incelenmiştir. Yapılan karakterizasyon analizleri sonucunda jelatin bazlı filme %5 selüloz nanolif ilavesinin film sertliğini ve mukavvetini önemli derecede artırdığı, ancak filmin esnekliğini, su buharı geçirgenliğini ve nem emilimini azalttığı belirlenmiştir. Disk difüzyon testi ve mikrobiyel sayım sonuçları dikkate alındığında, ZnO içeren filmlerin özellikle Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyel etki gösterdiği rapor edilmiştir (Ahmadi vd. 2020)

Panea vd. (2014) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Ag ve ZnO nanopartikülleri ile zenginleştirilmiş düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) filmi ile ambalajlanan piliç göğüs

etleri 4°C’ de 21 gün süreyle depolanmış ve bu süreçteki mikrobiyel, oksidatif ve renk değişimleri incelenmiştir. Depolama süresince mikrobiyel sayılarda ve lipit oksidasyonunun göstergesi olan TBARM değerinde artış olmakla birlikte, Ag ve ZnO kullanımı mikrobiyel gelişimi ve lipit oksidasyonunu geciktirmiştir. a^* , b^* ve renk yoğunluğu değerleri depolamanın 7.gününe kadar artış göstermiştir. Ayrıca yapılan duyusal panelde depolama süresince piliç etlerinin görünüş puanlarında da düşüş tespit edilmiştir.

Canbaz (2021) tarafından yapılan çalışmada, %2.5, %5 ve %10 oranında gilaburu ekstraktı ilave edilen jelatin/sodyum aljinat bazlı filmin piliç but etinin 4°C’de depolama süresince kalite parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Aktif film uygulanan gruplar kıyaslandığında gilaburu ekstraktı içeren grupların TBARM değerlerinin daha düşük olduğu, a^* ve b^* renk değerleri açısından daha yüksek sonuçlar verdiği ve toplam mezofilik aerobik bakteri gelişimini inhibe ettiği sonucuna varılmıştır.

Bir diğer çalışmada, CMC bazlı filmler zerdeçal (%0.5 ve %1.0) ve %1 oranında ZnO ilave edilerek dökme yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. %0.5 oranında zerdeçal ve ZnO ilavesinin, mekanik özellikleri, UV ışık bariyerini ve su buharı geçirgenliğini iyileştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca %1 oranında zerdeçal ZnO kullanımının *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes*’ e karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği de tespit edilmiştir (Roy ve Rhim 2020).

Nanoselüloz (NC-%2) ve üzüm çekirdeği ekstraktı (GSE-%15) içeren kitosan (CH) ve polikaprolakton (PCL) bazlı filmler tek ya da çift katmanlı olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs filetoları 4°C’de 15 gün süreyle depolanmış ve belirli periyotlarda fizikokimyasal (pH, renk ve TBARM) ve mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve toplam koliform bakteri (TCB) kalite parametrelerindeki değişim incelenmiştir. Tek katmanlı film uygulanan gruplarda, çift katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerle kıyasla daha düşük pH değerleri ve daha yüksek TBARM değerleri tespit edilmiştir. Film bileşiminde GSE kullanımı antioksidan etki sonucu TBARM değerinde düşüş sağlamıştır. Piliç etlerinin renk değerlerinin, farklı ambalaj filmlerinden ve depolama sürelerinden önemli ölçüde

etkilendiği belirlenmiş, GSE ve NC içeren film uygulanan gruplarda daha düşük TMAB ve TCB sayıları rapor edilmiştir. Özetle araştırmacılar, yüksek miktarda fenolik bileşik içeren GSE'nin antioksidan özelliği ile CH'nin antimikrobiyel özelliğinin sinerjistik etki sonucu piliç etinde oksidasyon reaksiyonlarını ve mikrobiyel bozulmayı geciktirebileceğini ortaya koymuşlardır (Söğüt ve Seydim 2018).

Bir diğer çalışmada, farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ve Zataria multiflora uçucu yağı (Z) ilaveli kitosan (CH) filmi ile kaplanan piliç göğüs etleri 4°C’ de 16 gün süreyle depolanarak kimyasal, mikrobiyel ve duyusal kalitedeki değişim incelenmiştir. Toplam canlı, laktik asit bakteri, psikrotrofik bakteri ve Pseudomonas spp. sayısı, CH-%1 PE-%0.5 Z ve CH-%1 PE-%1 Z bileşimine sahip aktif filmler ile kaplanan piliç göğüs etlerinde depolamanın son gününde oldukça düşük bulunmuştur. Geliştirilen aktif filmin kontrol örneklerine kıyasla TBARS ve toplam uçucu bazik azot miktarını azaltma yönünde etkili olduğu belirlenmiştir. Duyusal panel sonuçlarına göre, %1 PE-%0.5 Z ve %1 PE-%1 Z bileşimine sahip filmler ile kaplanan göğüs etleri en yüksek puanı alan gruplar olmuştur (Mehdizade and Langroodi vd. 2019).

Başka bir çalışmada, hazır plaka formundaki polilaktik asit film yüzeyi %1 ve %2 konsantrasyonlarında biberiye uçucu yağı ile zenginleştirilmiş kitosan veya kitosan/kazeinat karışımı ile kaplanmıştır. Yaklaşık 10 g piliç kıyma petri kabına yerleştirilmiş, petri üzeri hazırlanan filmler ile kapatılarak petriler %80 CO₂ ve %20 N₂ atmosfer koşulunda MAP ambalajlanmış ve 4°C’de 21 gün süreyle depolanarak biyopolimer filmin lipit oksidasyonunu geciktirme yeteneği ölçülmüştür. Sonuçlar, kaplamanın varlığı ile su buharı iletim hızının azaldığını ve %2 biberiye uçucu yağı ile zenginleştirilmiş film ile en düşük değere ulaşıldığını göstermiştir. Aktif filmin anaerobik modifiye atmosfer koşullarında depolama sırasında piliç etinde oksidasyonu azaltabileceği tespit edilmiştir. Aktif film ile kaplanan numuneler 14 güne kadar renk ve malondialdehit (MDA) oluşumu açısından stabilite göstermiştir (Fiore vd. 2021).

Yapılan başka bir çalışmada soya proteini yenilebilir filmlere kekik ve mercan köşk uçucu yağları farklı konsantrasyonlarda ilave edilmiş ve filmin *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Lactobacillus*

plantaruma karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar kekik ve mercan köşk uçucu yağı içeren yenilebilir filmlerin, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* inhibe ederken, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Lactobacillus plantarumun* söz konusu film kompozisyonuna karşı daha dirençli bakteriler olduğu tespit edilmiştir (Candoğan vd. 2010).

Kamkar vd. (2021) yapmış olduğu çalışmada nano-lipozomal sarımsak uçucu yağı (NLGEO) ile formüle edilmiş biyoyumlu kitosan (CS) filmlerini karakterize ederek 4°C'de depolama süresi boyunca tavuk filetolarında fiziko-mekanik, morfolojik özellikleri ile mikrobiyel ve kimyasal değişiklikleri değerlendirmiştir. Yüksek NLGEO içeriğine sahip filmler yüksek inhibitör etki göstermiştir. NLGEO ilavesi aktif filmin mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirmiştir. Depolamanın 7. gününde en düşük psikrotrofik mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir. Aerobik bakteri popülasyonunda en düşük artış %2 NLGEO içeren film ile muamale edilen numunelerde belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada kitosan bazlı aktif ambalaj filmi, limon otu uçucu yağı ile zenginleştirilmiş ve aktif film ile tavuk köfteleri kaplanarak 4°C'de 14 gün süreyle depolanarak, lipit oksidasyonu ve mikrobiyel değişim gözlenmiştir. Limon otu yağı içeren filmlerin filmin gerilme mukavemetini ve sertliğini azalttığı, esnekliğini artırdığı tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan kapasitenin %1.0 kitosan ve %2.5 limon otu yağı içeren filmde belirlenmiştir. Limon otu yağı antioksidan ve antimikrobiyel özellikleri ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine inhibe edici etki göstermiş, depolama süresince lipit oksidasyonunu azaltarak tavuk köftelerinin raf ömrünü uzatmıştır. Ancak kitosan filmlere dahil edilen limon otu yağı duyu özellikleri olumsuz yönde etkilediği için kullanım oranı maksimum %70 ile sınırlandırılmıştır (Contini vd. 2022).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

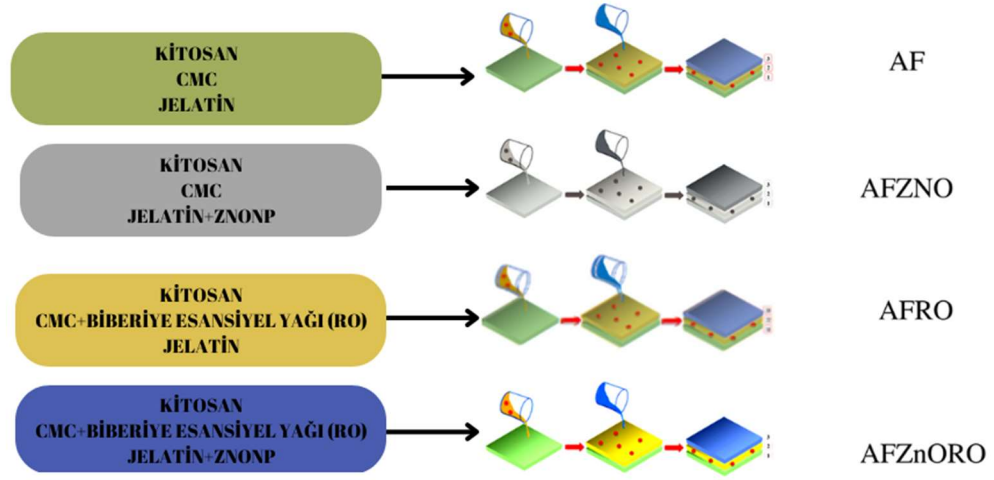
Çalışmada materyal olarak kullanılan piliç göğüs bonfile Bolu’da ticari üretim yapan bir entegre tesisten temin edilmiş, kesime takiben ertesi gün soğuk zincir kırılmadan Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et Teknolojisi Laboratuvarına getirilmiştir.

Biyoaktif film üretiminde jelatin (AppliChem GmbH), karboksimetil selüloz (CMC-sodyum tuzu, düşük viskoziteli, Sigma Aldrich) ve kitosan (düşük molekül ağırlıklı, deasetilasyon derecesi %75-85, Sigma Aldrich) olmak üzere 3 farklı materyal kullanılmış, filme aktif özellik kazandırmak amacıyla Biberiye uçucu yağı (*Rosmarinus Officinalis* Leaf Oil, su buharı destilasyonu ile üretilen) Talya Bitkisel Ürünler Tic. ve San. A.Ş.’ den satın alınmıştır. Ayrıca film bileşiminde kullanılan çinko oksit nanopartiküllerini (ZnO-NP) hazırlamak üzere çinko oksit ve diğer analizlerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck KGaA (Darmstadt, Germany) ya da Sigma Aldrich firmalarından temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Film üretim yöntemi

Çalışmada kullanılacak biyoaktif film 3 farklı materyal kullanılarak 3 katmanlı olacak şekilde çok tabakalı dökme (LbL-casting) tekniği kullanılarak hazırlanmıştır (Wang vd. 2019). Bu bağlamda, filmin bariyer katmanı kitosan (%1 w/v), matriks katmanı karboksimetil selüloz (%2 w/v) ve salınım katmanı jelatin (%2.5 w/v) olarak belirlenmiştir. Ayrıca filme aktif özellik kazandırmak amacıyla matriks katmanına %1 (v/v) oranında biberiye uçucu yağı (RO: Rosemary oil) ve bariyer katmanına ZnO-NP ilave edilmiştir. Film üretim yöntemi Şekil 3.1’de görselleştirilmiş olup, çalışma kapsamında filme RO ve ZnO-NP aktif ajanlarının ilavesinin hem tekli hem de kombine etkisini gözlemlemek için aşağıda detayları verildiği üzere 4 farklı bileşimde film hazırlanmıştır.



Şekil 3.1 Farklı bileşime sahip biyoaktif filmlerin hazırlanışı

- 1. Biyoaktif film (AF):** Bu film bariyer katmanında %2.5 (w/v) jelatin, matriks katmanında %2 CMC ve salınım katmanında %1 kitosan içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu amaçla, ilk aşamada jelatin çözeltisi ılık distile su içerisinde hazırlanmıştır. Bu amaçla, ilk aşamada jelatin çözeltisi ılık distile su içerisinde hazırlanmış, homojen karışım sağlandıktan sonra plastikleştirici olarak %1 (v/v) oranında gliserol ilave edilerek 15 dakika manyetik karıştırıcıda homojenize edildikten sonra ultrasonik su banyosunda 15 dakika 30°C’de bekletilmiştir. 9 cm çapındaki petri kutularına 10 ml jelatin dökülerek petriler 48 saat süreyle laboratuvar tezgahında doğal konveksiyonla kurumaya bırakılmıştır. İkinci aşamada matriks katmanı için ılık distile su içerisine %2 (w/v) oranında karboksimetil selüloz eklenmiş ve yaklaşık 16 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözünme sonrası %1 oranında gliserol ilave edilmiş, homojen karışım sağlandıktan sonra CMC solüsyonu ultrasonik su banyosunda 15 dakika 30°C’de bekletilmiştir. 10 ml CMC 48 saat sonunda kuruyan jelatin katmanı üzerine dökülerek tekrar aynı koşullarda kurumaya bırakılmıştır. Üçüncü aşama yani salınım katmanı için %1 kitosan çözeltisi (%1 (v/v) asetik asit içeren) hazırlanarak çözünmenin sağlanması için 24 saat süreyle karışmaya bırakılmıştır. Süre sonunda çözelti 6 kat tülbent bezinden süzöldükten sonra %1 oranında gliserol ilave edilerek homojen karışım sağlanmış ve ultrasonik su banyosunda 15 dakika 30°C’de bekletilmiştir. 10 ml kitosan çözeltisi, kuruyan CMC

katmanı üzerine dökülerek filmler 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır (Azarifar vd. 2019)

2. Biyoaktif film-ZnO-NP içeren (AFZnO): Bu film bariyer katmanında ZnO-NP içeren %2.5 (w/v) jelatin, matriks katmanında %2 CMC ve salınım katmanında %1 kitosan içerecek şekilde hazırlanmıştır. ZnO-NP içeren jelatin solüsyonu için ilk önce ZnO-NP'ler hidrotermal yöntemle çöktürülerek hazırlanmıştır. Bu amaçla, 1000 ml 2.5 Mm çinko asetat dihidrat 80°C'de sıcak su kullanılarak hazırlanmıştır. Homojen bir çözelti elde edildikten sonra çinko oksit'ten ZnO nanopartiküllerini oluşturmak ve çöktürmek için çözelti içerisinde damla damla 17 ml 1 M NaOH çözeltisi ilave edilerek 20 dakika süreyle karıştırmaya devam edilmiştir. Reaksiyon 80°C'de sürdürülmüş ve bu süre içerisinde beyaz renk oluşumu ZnO-NP'nin oluşumunun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Shankar vd. 2015). Çözelti soğutulduktan sonra içerisine %2.5 oranında jelatin ve sonrasında %1 oranında gliserol ilave edilmiş, homojen karışım sağlandıktan sonra solüsyon ultrasonik su banyosunda 15 dakika 30°C'de bekletilmiştir. Film üretiminin ilk aşamasında 10 ml ZnO-NP içeren jelatin petri kutularına dökülerek 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. CMC ve kitosan katmanları için ise bir önceki başlıkta AF filminde olduğu gibi solüsyonlar hazırlanarak film dökme işlemi gerçekleştirilmiştir.

3. Biyoaktif film-RO içeren (AFRO): Film bariyer katmanında %2.5 (w/v) jelatin, matriks katmanında %1 oranında RO içeren %2 CMC ve salınım katmanında %1 kitosan içermektedir. Jelatin ve kitosan solüsyonları daha önceki film gruplarında anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Matriks katmanı ise, ılık su içerisinde %2 (w/v) oranında hazırlanan CMC yaklaşık 16 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra içerisine %1 RO ilave edilmiştir. RO ile CMC solüsyonun homojen bir karışım sağlaması için Tween 20 emülsifiye edici ajan olarak kullanılmış, RO solüsyona eklenmeden önce %0.5 (w/v) oranında Tween 20 içerisinde çözünmüştür. CMC-RO homojen solüsyonu elde edildikten sonra %1 gliserol ilave edilerek çözelti hazırlığı tamamlanmıştır.

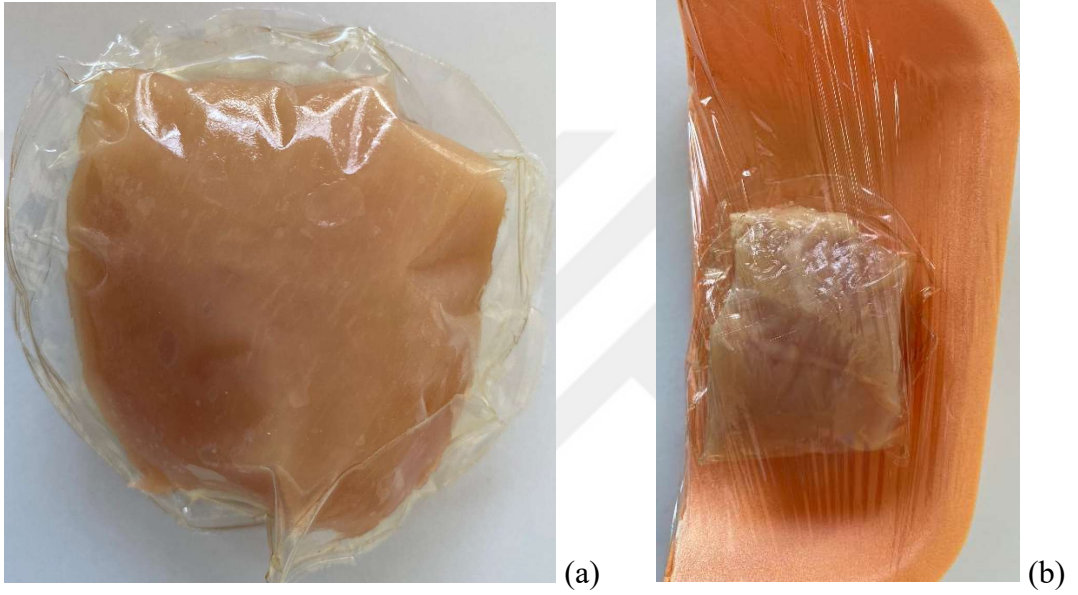
4. Biyoaktif film-ZnO-NP ve RO içeren (AFZnORO): Bu filmin bileşimini bariyer katmanında ZnO-NP içeren %2.5 (w/v) jelatin çözeltisi, matriks katmanında %1 oranında RO içeren %2 CMC çözeltisi ve salınım katmanında %1 kitosan çözeltisi oluşturmuştur. Film çözeltileri daha önceki film gruplarında anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Filmler doğal konveksiyon ile kurumaya bırakılmış ve toplam kuruma süresi 144 saat olarak hesaplanmıştır. Kuruma süreci tamamlanan filmler petrilerden soyularak 15 cm çaplı cam petriler içerisinde muhafaza edilmiş ve petrinin kapağı parafilm ile sarılmıştır. Filmler ertesi gün fiziksel ve bariyer özelliklerini belirlemek amacıyla analize alınmıştır. Filmin fiziksel özelliği kalınlık ve renk ölçümü, su içeriği, suda çözünürlük düzeyi ve şişme kapasitesi analizleri yapılarak, bariyer özelliği de opaklık ve transmittans (ışık geçirgenliği) ölçümü ile su buharı geçirgenliği (WVP) belirlenerek incelenmiştir. Ayrıca filmlerin antioksidan aktivite düzeyi de ABTS metodu kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.2 Biyoaktif filmlerin piliç göğüs eti üzerine uygulanması

Dört farklı formülasyonda hazırlanan biyoaktif filmlerin piliç göğüs etinin raf ömrü üzerine etkisini belirlemek amacıyla bir model deneme yapılmıştır. Bu bağlamda, denemenin kurulacağı günden bir gün önce biyoaktif filmler ve polistiren (PS) köpük tabaklar 15 dakika süreyle UV lamba altında kabin (Biowizard Silver Line KR-130) içerisinde sterilize edilmiştir. Piliç göğüs etinin *Pectoralis major* kasının caudal kısmından steril koşullarda yaklaşık 70 g'lık kesitler çıkarılmış, etin alt ve üst tarafına biyoaktif filmler yerleştirilerek (Şekil 3.2 a) hazırlanan et-film sandviçi PS köpük tabak üzerine yerleştirilmiş ve PVC film ile atmosferik koşullarda sarılmıştır (Şekil 3.2 b). Et-film sandviçi hazırlanırken filmin salınım katmanı olan kitosanın et ile temas etmesine dikkat edilmiştir. Kontrol grubu oluşturulurken film kullanılmamış, 70 g'lık et kesiti direkt PS köpük tabak üzerine yerleştirilerek PVC film ile paketlenmiştir. Hazırlanan 4 farklı film dikkate alındığında bu model çalışmada 1-kontrol; 2-AF grubu; 3-AFZnO grubu; 4-AFRO grubu ve 5-AFZnORO grubu olmak üzere 5 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. Paketler tüketim özelliğini yitirene kadar 4°C'de buzdolabında depolanmış ve 2 günlük periyotlarda (0., 1., 3., 5., ... günler) kalite parametrelerindeki

değişimi belirlemek için analize alınmıştır. Piliç etinde analiz günlerinde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı belirlenmiş, pH ve renk ölçümü, ağırlık kaybı, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARM) sayısı ve sülfidril analizi yapılmıştır. Ayrıca piliç etlerinin genel bileşimi depolamanın başlangıcında ve sonunda yapılmıştır. Hem film karakterizasyonu hem de model et çalışması için deneme farklı zamanlarda 2 tekerrür olarak hazırlanmış ve analizler ilgili yöntem başlığı altında açıklandığı üzere en az 2 paralel olacak şekilde yürütülmüştür.



Şekil 3.2 Hazırlanan biyoaktif filmin piliç göğüs etine uygulanması

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Film karakterizasyonuna ilişkin analiz metotları

3.3.1.1 Film kalınlığının ölçülmesi

Her bir gruba ait 10 farklı filmin en az 5 farklı noktasından olmak üzere kalınlıkları mikrometre kullanılarak ölçülmüş ve ortalama hesaplanmıştır (Kanatt, 2020).

3.3.1.2 Filmin su içeriğinin belirlenmesi

Filmlerin su içeriğini belirlemek üzere her bir film grubunu temsilen 2x2 cm ölçülerinde toplam 10 kesit 10 farklı film kullanılarak çıkarılmıştır. Filmlerin başlangıç ağırlığı ve 105°C’de 24 saat süreyle kurutma sonrası alınan ağırlık ölçümleri kullanılarak ortalama nem değeri % olarak hesaplanmıştır. Bu analiz sonrası elde edilen kuru filmler suda çözünürlük ve şişme kapasitesi analizlerinde kullanılmıştır (Kanatt, 2020).

3.3.1.3 Filmin suda çözünürlük düzeyi

Her bir film grubunu temsilen kuru ağırlığı belirlenmiş (M1) 2x2 cm ölçülerindeki toplam 5 kesit 20 ml su içerisinde 25°C’de 24 saat süreyle bekletildikten sonra tekrar 110°C’de kurutulmuştur. Başlangıç kuru ağırlık (M1) ve ikinci kurutma sonrası ölçülen kuru ağırlık (M2) değerleri arasındaki farktan yararlanılarak %suda çözünürlük aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Kanatt, 2020).

$$\text{Suda çözünürlük (\%)} = \left(\frac{M1 - M2}{M1} \right) * 100$$

3.3.1.4 Filmin şişme kapasitesi

Her bir film grubunu temsilen kuru ağırlığı belirlenmiş (M1) 2x2 cm ölçülerindeki toplam 5 kesit 20 ml su içerisinde 6 saat süreyle bekletildikten sonra filmler filtre kâğıdı yardımı ile kurulanmış ve ağırlıkları (M2) belirlenmiştir. Şişme kapasitesi iki ağırlık ölçümü kullanılarak yüzde olarak aşağıda formüle göre hesaplanmıştır (Kanatt, 2020).

$$\text{Şişme kapasitesi (\%)} = \left(\frac{M2 - M1}{M1} \right) * 100$$

3.3.1.5 L^* , a^* , b^* renk ölçümü

Her bir film grubunu temsilen 5 farklı filmin 5 farklı noktasından Minolta Kalorimetre cihazı kullanılarak beyaz zemin üzerinde ölçüm alınmıştır. Analiz öncesi cihaz beyaz kalibrasyon plakası kullanılarak kalibre edilmiştir (Sarıcaoglu ve Turhan, 2020). ΔE değeri hesaplanırken AF film grubu referans olarak kabul edilmiştir.

3.3.1.6 Opaklık ölçümü

Her bir film grubunu temsilen 4x1 cm ölçülerinde toplam 10 kesit farklı filmler kullanılarak çıkarılmış, bu kesitler 1 cm ışık yoluna sahip quartz spektrofotometre kuvvetlerine yerleştirilerek 600 nm’de ölçüm alınmıştır. Şahit olarak boş kuvet kullanılmıştır. Filmlerin opaklık düzeyi absorbansın ortalama film kalınlığına (mm) bölünmesi ile hesaplanmıştır (Saricaoglu ve Turhan, 2020).

3.3.1.7 Işık geçirgenliğinin belirlenmesi

Her bir film grubunu temsilen 4x1 cm ölçülerinde toplam 3 kesit farklı filmler kullanılarak çıkarılmış, 1 cm ışık yoluna sahip quartz spektrofotometre kuvvetlerine yerleştirilerek 200-800 nm dalga boyu aralığında tarama yapılarak %transmittans değerleri belirlenmiştir (Baek ve Song, 2018).

3.3.1.8 Su buharı geçirgenliğinin (WVP) belirlenmesi

Filmlerin su buharı geçirgenliği ASTM Standard test metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla her bir farklı film grubu için 3 adet vezin kabı içerisine 1 g silika jel tartılmış ve 105°C’de 48 saat süreyle kurutulmuştur (%0 RH). Film, vezin kaplarının üzerine Şekil 3.3’teki gibi yerleştirilerek parafilm ile sıkıca sarılmış, kap+film sisteminin ağırlığı (M1) belirlendikten sonra içi su dolu desikatör (%100 RH) içerisine yerleştirilmiş ve desikatör 25°C’de ağzı kapalı bir şekilde bekletilmiştir. Sekiz saat boyunca her bir vezin kabı+film sisteminin ağırlığı (M2) saat başı belirlenmiş ve iki ağırlık arasındaki fark (M2-M1) kullanılarak ağırlık artışına karşı zaman grafiği çizilmiştir. Elde edilen grafik denklemi kullanılarak filmlerin su buharı geçirgenliği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Saricaoglu ve Turhan, 2020).

$$WVP = (w/t) \times (X / \Delta P \times A)$$

w/t: Ağırlık artışı-zaman grafiğine ait denklemin eğimi

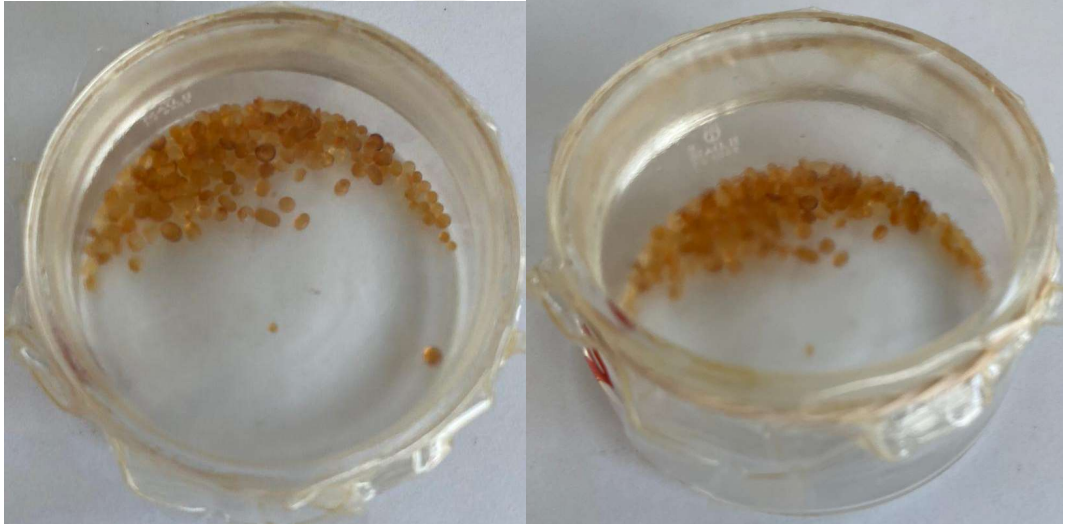
X: Ortalama film kalınlığı (mm)

ΔP : 25°C'deki su buharı basıncı (kPa)

A: Nem transferinin sağlandığı film alanı (m²)

3.3.1.9 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Her bir film grubunu temsilen yaklaşık 250 µg 10 farklı film kesiti 10 ml etil alkol (%95) içerisinde 600 rpm'de 3 saat boyunca çalkalanmış ve ekstrakt elde edilmiştir. Önceden hazırlanarak aktifleştirilmiş 7.4 Mm ABTS çözeltisinin absorbansı etil alkol ile seyreltilerek 734 nm'de 0.700'e ayarlanmış, 20 µL ekstrakt 1980 µL seyreltik ABTS üzerine ilave edilmiş ve çözeltinin absorbansı 0. ve 6. dakika okunarak kaydedilmiştir. Filmlerin antioksidan aktivite düzeyleri %inhibisyon olarak hesaplanmıştır (Konuk Takma ve Korel, 2019).



Şekil 3.3 Su buharı geçirgenliği testi için hazırlanan filmler

3.3.2 Model et çalışmasına ilişkin analiz yöntemleri

3.3.2.1 Genel bileşim analizleri

Et örneklerinin kuru madde (Metot no:950.46) ve kül (Metot no: 920.153) içerikleri AOAC (2010) metoduna göre gravimetrik olarak, yağ miktarı soxhelet yöntemi (Metot

no: 991.36) kullanılarak ve protein içeriği de Kjeldahl yöntemine (Metot no: 955.04) göre belirlenmiştir.

3.3.2.2 Ağırlık kaybının belirlenmesi

Et-film sandiviçi hazırlanırken et örneklerinin başlangıç ağırlığı ile her bir analiz gününde tartılan et örneklerinin ağırlıkları arasındaki fark kullanılarak hesaplanmıştır.

3.3.2.3 L^* , a^* , b^* renk değerlerinin ölçümü

Et örneklerinin 5 farklı noktasından Minolta Kalorimetresi (Konica, CR-400) kullanılarak ölçülmüş olup analiz öncesi cihaz beyaz kalibrasyon plakası ile kalibre edilmiştir. Bu analiz kapsamında 0-100 aralığında değişim gösteren L^* değeri açıklık koyuluk, $+a^*$ değeri kırmızılık, $-a^*$ değeri mavilik, $+b^*$ değeri sarılık ve $-b^*$ değeri yeşil rengin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

3.3.2.4 pH değerinin ölçümü

Örneklerin pH değerini belirlemek amacıyla, piliç etlerinden 10 gram tartılıp üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş, örnekler ultratüraks (Micra D9) ile 1 dakika boyunca homojenize edildikten sonra pH 4.0 ve pH 7.0 tampon çözeltileri ile kalibre edilen pH metrede okuma yapılmıştır.

3.3.2.5 Tiobarbitürik asit reaktif madde (TBARM) sayısı

Depolama sürecinde lipid oksidasyon düzeyini belirlemek amacıyla Mielnik vd. (2006) tarafından bildirilen yöntemle göre 10 g homojen örnek 30 mL triklor asetik asit içerisinde homojenize edildikten sonra 10000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatant Whatman No:40 filtre kağıdından süzölmüş ve akabinde 5 mL süzöntü, 5 mL TBA ayırıcı ile 100°C'deki su banyosunda 35 dakika bekletilerek oluşan rengin yoğunluğu spektrofotometrede 532 nm'de okunmuştur. 1,1,3,3-tetra etoksi propan standardı

kullanılarak çizilen kurve ve elde edilen absorbans değerleri kullanılarak TBARM değeri mg malondialdehid (MDA)/kg olarak hesaplanmıştır.

3.3.2.6 Sülfidril analizi

Depolama periyodu boyunca et örneklerindeki protein oksidasyon düzeyini belirlemek için 1 g örnek 20 ml 0.05 M fosfat buffer (pH=7.2 ve 4°C) içerisinde 1 dakika süreyle homojenize edilmiş, 1 ml homojenat üzerine 9 ml 0.05 M fosfat buffer (pH=7.2, 0.6 M HCl, 6 Mm EDTA ve 8 M üre içeren) eklenmiş ve vortekslendikten sonra 14000 rcf'de 20 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatanttan 1.5 ml 2 farklı spektrofotometre küvetine aktarılmış, referans olarak kullanılacak küvete 0.02 ml 0.05 M sodyum asetat, örnek küvetine ise -SH grup miktarını belirlemek amacıyla 0.02 ml 0.01 M DTNB ayırıcı ilave edilerek 40°C'de 15 dakika süreyle su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Küvetlerin absorbansı şahide karşı 420 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 35) okunmuş ve sülfidril miktarı (-SH grup miktarı) µmol/g et olarak hesaplanmıştır (Smaoui vd. 2017).

3.3.2.7 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı

Steril koşullarda 10 g et örneği steril stomacher poşetine tartılmış ve 90 ml seyreltme çözeltilisi (Maximum Recovery Diluent-MRD) kullanılarak homojeniz edilmiştir. Dilüsyonlar hazırlandıktan sonra uygun seyreltiler kullanılarak dökme yöntemine göre Plate Count Agar besiyerine ekim yapılmış ve petripler 28°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda petride görülen tipik koloniler sayılarak bakteri sayıları log KOB/g olarak hesaplanmıştır (Anonim, 2005).

3.3.2.8 İstatistik analiz

Filmlerin karakterizasyonu amacıyla yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar tesadüf blokları faktöriyel deneme desenine göre Minitab-16 istatistik paket programında tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA), model et kalite çalışmasından elde edilen sonuçlar ise aynı deneme desenine göre çift yönlü varyans analizi (two-way ANOVA)

kullanılarak değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki farklılığın önemlilik düzeyi Tukey's çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Bu deneme tasarımında tekerrrlr blok, karakterizasyon çalışmasında 4 farklı film grubu, model et çalışmasında da 5 farklı grup ve depolama günleri bağımlı değişkenler üzerine etkili faktörler (yani bağımsız değişkenler) olarak ele alınmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Film Karakterizasyonuna İlişkin Analiz Sonuçları

Farklı kombinasyonlarda 3 farklı polimer ve 2 farklı aktif ajan kullanılarak hazırlanan biyoaktif filmlerin karakteristik özelliklerine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Her bir parametreye ilişkin açıklamalar ile ilgili başlıklar altında özetlenmiştir.

4.1.1 Biyoaktif filmlerin kalınlığı

Farklı bileşimde hazırlanan 4 farklı biyoaktif filmin kalınlıkları AF, AFZnO, AFRO ve AFZnORO için sırasıyla 111, 117, 111, 118 μm olarak belirlenmiş olup gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). Bununla birlikte ZnO-NP içeren biyoaktif film gruplarında film kalınlığında artış gözlemlenmiştir. AFRO ile AF kıyaslandığında ise biberiye uçucu yağı ilavesinin kalınlık üzerine etkili olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, sodyum kazeinat/çinko oksit/biberiye uçucu yağı bazlı filmlerin kalınlık değerleri 0.101 ve 0.103 mm arasında (Alizadeh-Sani vd. 2020), aljinat/aljinat siyah kimyon uçucu yağı/ kitosan ile hazırlanan filmlerin kalınlık değeri 0.108 mm (Konuk Takma ve Korel 2019), jelatin/dekstran propil gallat/gelatin ile hazırlanan filmin kalınlık değeri ise 0.112 mm (Wang vd. 2020) olarak bulunmuştur. Literatürde bulunan film kalınlık değerleri ile yapılan çalışma sonucu elde edilen film kalınlık değerlerinin uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.1.2 Biyoaktif filmlerin L^* , a^* ve b^* renk değerleri

Çalışma kapsamında hazırlanan 4 farklı biyoaktif filmin enstrümental renk (L^* , a^* , b^*) renk değerleri çizelge 4.1’de verilmiştir. Açıklık-koyuluk özelliğini gösteren L^* değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistik olarak bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). En düşük a^* değeri AFZnORO grubunda, en yüksek a^* değeri ise AFZnO grubunda belirlenmiştir. Sarılığın bir simgesi olan b^* değeri açısından gruplar kıyaslandığında ise en düşük değer AFZnO grubunda ölçülmüştür. Biberiye uçucu yağı ilavesi AF ile kıyaslandığında b^* değerini 2.76’dan 2.82’ye artırırken, biberiye uçucu yağı ZnO ile

kombine kullanıldığında bu değer 2.76'dan 3.82'ye yükselmiş olup bu artış istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). AF grubuna kıyasla ZnO, RO ya da bu iki aktif bileşeni birlikte içeren filmlerin ΔE değerlerine bakıldığında, en yüksek değer AFZnORO'da görülmüştür. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada da jelatin/sodyum aljinat bazlı filme gilaburu ekstraktı ilavesi filmin ΔE değerini artırmıştır (Canbaz, 2021).

Çizelge 4.1 Film karakterizasyonuna ilişkin analiz sonuçları

Karakteristik parametreler	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO
<i>Kalınlık (μm)</i>	111.00 $\pm$ 0.003	117.00 $\pm$ 0.001	111.00 $\pm$ 0.006	118.00 $\pm$ 0.001
<i>L* değeri</i>	87.93 $\pm$ 0.06	87.40 $\pm$ 0.03	88.07 $\pm$ 0.45	87.41 $\pm$ 0.04
<i>a* değeri</i>	-1.45 $\pm$ 0.06 ^{ab}	-1.28 $\pm$ 0.01 ^a	-1.42 $\pm$ 0.03 ^{ab}	-1.56 $\pm$ 0.01 ^b
<i>b* değeri</i>	2.76 $\pm$ 0.14 ^{ab}	2.59 $\pm$ 0.05 ^b	2.82 $\pm$ 0.35 ^{ab}	3.82 $\pm$ 0.11 ^a
<i>ΔE değeri</i>	-	0.61 $\pm$ 0.09	0.56 $\pm$ 0.11	1.19 $\pm$ 0.02
<i>Opaklık (mm^{-1})</i>	1.16 $\pm$ 0.01 ^b	0.61 $\pm$ 0.08 ^c	1.94 $\pm$ 0.02 ^a	1.47 $\pm$ 0.01 ^b
<i>Su içeriği (%)</i>	32.24 $\pm$ 0.90	32.79 $\pm$ 6.40	32.18 $\pm$ 1.90	31.49 $\pm$ 5.70
<i>Şişme kapasitesi (%)</i>	373.70 $\pm$ 61.30 ^b	683.00 $\pm$ 120.00 ^b	285.40 $\pm$ 84.10 ^b	741.00 $\pm$ 144.00 ^a
<i>Suda çözünürlük (%)</i>	48.23 $\pm$ 8.70	76.96 $\pm$ 0.90	51.80 $\pm$ 9.60	81.70 $\pm$ 1.50
<i>WTP (g.mm/m².h.kPa)</i>	0.37 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.04	0.38 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.02
<i>ABTS (%)</i>	2.08 $\pm$ 0.27	1.97 $\pm$ 0.20	3.28 $\pm$ 0.66	2.29 $\pm$ 0.63

a,b,c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

Yapılan bir çalışmada, karboksimetil selüloz içeren filmin L^* değeri 90.70, a^* değeri, -0.52 ve b^* değeri 5.40 olarak belirlenirken, karboksimetil selüloz ve çinko oksit kullanılarak hazırlanan filmin L^* değeri 91.60, a^* değeri 3.10, b^* değeri 6.20 olarak belirlenmiştir (Roy ve Rhim 2020). Yapılan bir çalışmada, kitosan bazlı %1 biberiye uçucu yağı içeren filmin L^* değeri 82.12, a^* değeri -1.22 ve b^* değeri 9.17 olarak ölçülürken sadece kitosan kullanılarak hazırlanan filmin L^* değeri 82.51, a^* değeri -0.17 ve b^* 7.54 olarak rapor edilmiştir (Abdollahi vd. 2012). Gellan gum ve kitosan bazlı filmin incelendiği bir çalışmada, kekik uçucu yağı ilavesinin b^* değerini 0.89'dan 1.83'e

artırdığı gözlenmiştir (Guo vd. 2021). Farklı uçucu yağlar kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise kitosan ve jelatin içeren aktif filmin L^* değeri 98.32, a^* değeri -0.52, b^* değeri 2.16 olarak ölçülmüş, bu filme ırmık kökü uçucu yağı ilave edildiğinde L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 97.00, 0.86 ve 4.53; kekik uçucu yağı kullanıldığında 97.84, -0.59 ve 4.63; hindistan cevizi yağı ilave edildiğinde ise 97.55, -0.83 ve 4.74 olarak tespit edilmiştir (Haghihi vd. 2019). Yapılan çalışmalar incelendiğinde, film bileşimine uçucu yağ ilavesinin sarılığın bir göstergesi olan b^* değerini arttırdığı orataya konmuştur. Bu bağlamda, literatür verileri ile uyumlu olarak çalışmamızda da biberiye uçucu yağı ilavesi kullanılan filmlerde b^* değeri daha yüksek bulunmuştur.

4.1.3 Biyoaktif filmlerin opaklık düzeyi ve ışık geçirgenliği

Ambalaj endüstrisinde genellikle ürünün net görünebilmesi ve tüketiciyi etkilemek amacıyla opak filmlere göre şeffaflığı yüksek filmler tercih edilmektedir. Ancak bu noktada da, gıdanın güneş ışığı, floresan ve akkor ışık gibi kaynaklara maruz kalması durumunda foto degradasyon sonucu meydana gelen reaksiyonlar sebebi ile kalite parametrelerinde düşüş gözlemlendiği için ışık geçirgenliği düşük opak filmlerin kullanımı tercih edilmektedir (Han Lyn ve Nur Hanani 2020).

Çalışma kapsamında hazırlanan farklı film gruplarının görselleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Fotoğraflardan da görüleceği üzere AF ve AFZnO filmleri daha şeffaf bir yapı gösterirken, biberiye uçucu yağı içeren AFRO ve AFZnORO gruplarında daha opak ve heterojen bir görünüm tespit edilmiştir. Bu görseller, opaklık ve ışık geçirgenliği analizleri ile enstrümental sonuçlarla desteklenmiştir. Çizelge 4.1’de verildiği üzere en yüksek opaklık düzeyi 1.94 mm^{-1} ile AFRO grubunda, sonrasında da sırasıyla AFZnORO (1.47 mm^{-1}), AF (1.16 mm^{-1}) ve AFZnO (0.61 mm^{-1}) gruplarında belirlenmiştir. Özellikle AFRO filminin AF ve AFZnO filmlerine kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde opak olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$).

Şekil 4.1’de verilen farklı film gruplarının ışık geçirgenlik ölçümlerine ilişkin grafikler incelendiğinde de opaklık sonuçları ile benzer veriler elde edilmiş olup AF ve AFZnO

filmlerinin biberiye uçucu yağı içeren gruplara kıyasla ışık geçirgenliklerinin daha yüksek olduğu yani daha şeffaf yapı sergiledikleri sonucuna varılmıştır.



AF



AFZnO



AFRO

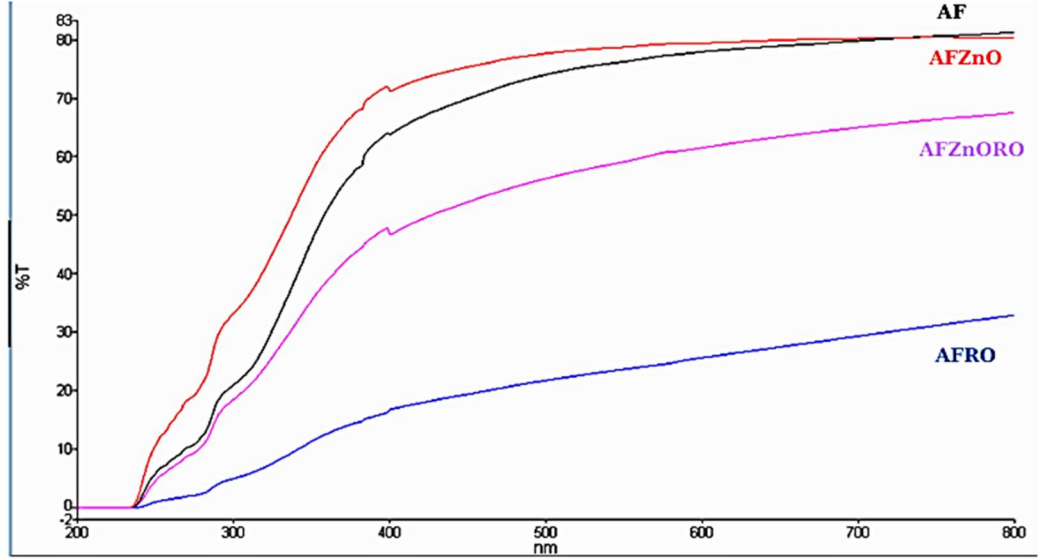


AFZnORO

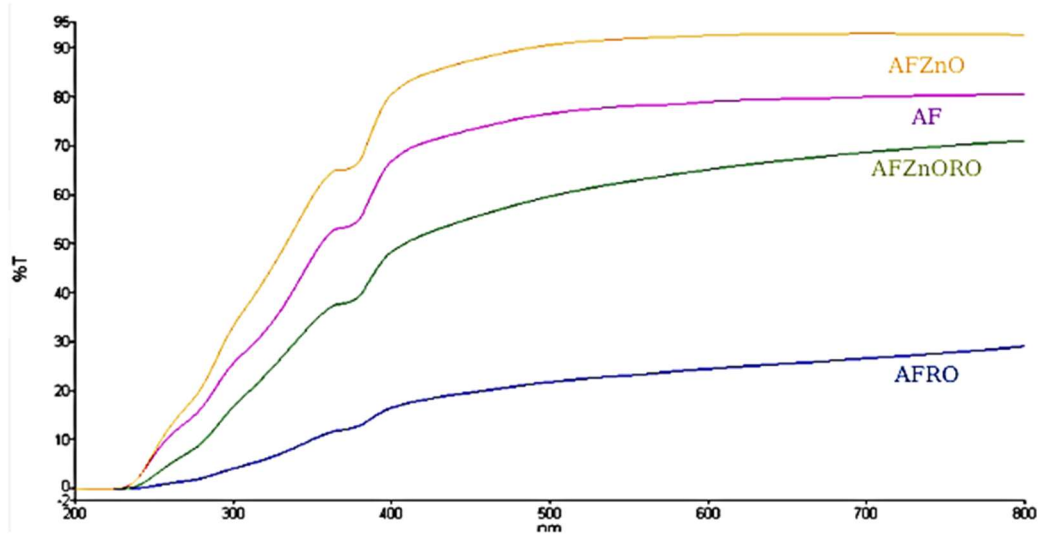
Şekil 4.1 Biyoaktif filmlere ait görseller

Yapılan bir çalışmada kitosan ve tarçın uçucu yağı kullanılarak hazırlanan aktif filmin opaklık değeri 2.59 mm^{-1} bulunurken, sodyum aljinat/kitosan-tarçın uçucu yağı kullanılarak hazırlanan aktif filmin opaklık değeri 2.90 mm^{-1} , sodyum aljinat/kitosan tarçın uçucu yağı/sodyum aljinat şeklinde 3 farklı katman içerecek şekilde hazırlanan filmlerin opaklık değeri 2.78 mm^{-1} bulunmuştur. Uçucu yağın ilavesi filmin opaklığını önemli ölçüde arttırmıştır (Jiang vd. 2019). Bu çalışmada görüldüğü üzere, kitosan eklenen filmin opaklık değeri artarken, sodyum aljinat opaklık değerini düşürmektedir. Bir başka çalışmada ise kolajen ve kitosan bazlı filmin opaklık değeri 1.70 mm^{-1} olarak ölçülürken, bu filme ZnO ya da ZnO+karadut ekstraktı ilave edildiğinde opaklık değeri

sırasıyla 1.65 ve 7.82 mm^{-1} olarak belirlenmiştir (Li vd. 2019). Diğer bir çalışmada ise polilaktik asit ile hazırlanan filmin opaklık değeri 1.19 mm^{-1} iken, bu filmin bileşimine ZnO ilave edildiğinde opaklık düzeyi 1.40 mm^{-1} , film bileşiminde Zatarya uçucu yağı ya da yabani İran kekiği kullanıldığında ise opaklık düzeyi sırasıyla 5.38 ve 3.36 mm^{-1} olarak ölçülmüştür (Majd vd. 2022).



(a)



(b)

Şekil 4.2 Farklı film gruplarının 1. (a) ve 2. (b) tekerrür ışık geçirgenlik düzeyine ilişkin tarama grafikleri

Yapılan başka bir çalışmada ise farklı uçucu yağların 0.7 ve 1.2 ikame derecesine sahip CMC ile hazırlanan tek katmanlı aktif filmlerde opaklık üzerine etkisi incelenmiştir. 0.7 ikame dereceli CMC ile hazırlanan ve biberiye yağı içeren aktif filmlerin opaklık değeri 1.267, hindistan cevizi uçucu yağı içeren aktif filmin opaklık değeri 1.452, uçucu yağ içermeyen kontrol film örneğinin opaklık değeri ise 1.196 olarak bulunmuştur. 1.2 ikame derecesine sahip CMC ile hazırlanan aktif film örneklerinde ise, kontrol film örneği 1.290, biberiye uçucu yağı içeren aktif film örneği 1.269, hindistan cevizi uçucu yağı içeren aktif filmin opaklık değeri ise 1.272 olarak ölçülmüştür. Araştırmacılar gruplar arasındaki opaklık farkını uçucu yağların film bileşiminde küçük damlacıklar halinde dağılarak opaklığın artmasına neden olabileceği şeklinde açıklamışlardır (Biswas vd. 2018).

Yapılan bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar biyoaktif filmlerde ZnO kullanımının opaklık özelliğini çok etkilemediğini, ancak film bileşimini farklı kaynaklardan elde edilen uçucu yağ ilavesinin opaklık düzeyini artırdığını göstermiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyumlu olup biberiye uçucu yağı ilavesinin filmin opaklığını %67 oranında artırdığı tespit edilmiştir. Film bileşiminde ZnO kullanımı ise opaklığı %47 oranında düşürmüştür.

4.1.4 Biyoaktif filmlerin su içeriği, şişme kapasitesi ve suda çözünürlük

Ambalaj materyali olarak hazırlanacak olan filmlerin su içeriği, şişme kapasitesi ve suda çözünürlüğü ambalaj-gıda etkileşimleri açısından önemli parametreler olup temel olarak hem polisakkaritlerden hem de proteinlerden elde edilen filmler hidrofildir ve bu da onları neme duyarlı hale getirir (Alias vd. 2022). Yapılan analiz sonucunda elde edilen biyoaktif filmlerin su içeriği değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Farklı bileşime sahip filmlerin su içeriği değerleri %31.49-32.79 arasında değişmekle birlikte gruplar kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$). Bu sonuç biyoaktif film bileşimine ZnO-NP ya da %1 oranında biberiye uçucu yağı ilavesinin filmlerin su içeriğini etkilemediğini göstermektedir.

Elde edilen sonucun aksine yapılan bir çalışmada sadece kitosan bazlı hazırlanan filmin su içeriği %42.35 olarak belirlenirken kitosan filmine tarçın uçucu yağı ilavesi su içeriğini istatistik olarak önemli düzeyde artırmış ve %30.24 olarak belirlenmiştir. (Zhang vd. 2019) Çalışmamızla benzer sonuçlar içeren bir çalışmada ise CMC bazlı filmin su içeriği %27.75 olarak tespit edilirken, bu filme %1 veya %2 oranında ZnO ilavesi filmin su içeriğini artırmış ve sırasıyla %30.47 ve %30.31 olarak ölçülmüştür. Ancak bu artış istatistik olarak önemli değildir ($P < 0.05$) (Zahedi vd. 2018). Zhang vd. (2019) yapmış olduğu çalışmada, sodyum aljinat (SA) kitosan (CS)-tarçın uçucu yağı (CEO) kullanarak film hazırlamış, sadece kitosan içeren aktif filmin su içeriğini 42.35, SA/CS-CEO/SA içeren çok katmanlı aktif filmin su içeriğini 25.73 olarak tespit etmiştir. SA/CS-CEO içeren aktif filmin su içeriği ise 27.75 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar bu durumun tarçın uçucu yağının hidrofobik yapısından ve sodyum aljinatın hidrofilik yapısından kaynaklandığını belirtmişlerdir ($p < 0.05$).

Biyoaktif filmlerin şişme kapasitesine ilişkin sonuçlar incelendiğinde sadece jelatin, CMC ve kitosan içeren filmin %373.70 oranında bir kapasiteye sahip olduğu hesaplanmakla birlikte bu sonuç film bileşiminde kullanılan her 3 polimerinde bileşiminde bulunan karboksil ve hidroksil grupları nedeniyle hidrofilik oluşu ile ilişkilendirilmiştir (Azarifar vd. 2019). Bu filmin bileşimine ZnO-NP ilave edildiğinde şişme kapasitesi %683.00'e yükselirken ($p < 0.05$), biberiye uçucu yağı ilave edildiğinde %285.40'a düşmüştür. Biberiye uçucu yağı hidrofobik yapı göstermekte ve film hazırlanırken hidrofilik özellik gösteren CMC içerisinde çözünmesi için Tween 20 kullanılarak emülsiyeye bir yapı oluşturulmaktadır. Filmin kuruma aşamasında biberiye uçucu yağı arayüzey etkileşimi ile selüloz ağını doyurmakta ve dolayısıyla su moleküllerinin difüzyonunu engelleyerek filmin şişme kapasitesini azaltmaktadır (Azarifar vd. 2019) Filme ZnO-NP ilave edildiğinde ise şişme kapasitesindeki artış ozmotik iyon basıncı ile açıklanmaktadır. Yüklü ZnO nanopartiküllerinin neden olduğu iyon ozmotik basıncındaki dengesizlik nedeniyle şişme kapasitesi artmaktadır (Yadollahi vd. 2016).

Gıdalarda kullanılacak olan ambalaj materyallerinin suya dayanıklı olması gerekmekte ve bu noktada da suda çözünürlük düzeyinin düşük olması önem taşımaktadır. Çizelge

4.1 incelendiğinde, farklı bileşime sahip biyoaktif filmlerin suda çözünürlük düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). AF filminin suda çözünürlüğü %48.23 iken bu değer ZnO ve RO ilavesi ile artış göstermiş ve AFZnO, AFRO ve AFZnORO filmlerinde sırasıyla %76.96, %51.80 ve %81.70 olarak hesaplanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, sodyum aljinat/kitosan-tarçın uçucu yağı içeren çift katmanlı filmin suda çözünürlüğü %33.71 olarak belirlenirken, sodyum aljinat/kitosan-tarçın uçucu yağı/sodyum aljinat olmak üzere film 3 katmanlı hazırlandığında hidrofilik karakterli aljinatın 3. bir katman olarak kullanımı nedeniyle filmin suda çözünürlüğü artarak %41.81 değerine ulaşmıştır (Zhang vd. 2019).

4.1.5 Biyoaktif filmlerin su buharı geçirgenliği

Biyobozunur filmlerde su buharı transferi, çözünürlük ve su molekülü geçirgenliği olmak üzere iki faktöre bağlıdır (Liu 2016). Su buharı geçirgenliği gıda ve onu çevreleyen atmosfer arasında minimum nem iletimi yoluyla kalitenin korunması için gıdaların ambalajlanmasında kullanılan materyallerin en önemli fonksiyonel özelliklerinden biridir. Özellikle protein bazlı filmlerde hidrofobik faz oranının hidrofilik faza kıyasla arttıkça su buharı transferinin sınırlı hale geldiği bilinmektedir (Alizadeh-Sani vd. 2020).

Çizelge 4.1’de verildiği üzere biyoaktif filmlerin su buharı geçirgenliği AF grubu için $0.37 \text{ g.mm/m}^2\text{.h. kPa}$ olarak belirlenirken, bu değer özellikle ZnO-NP içeren gruplarda artış göstermiş ve AFZnO ile AFZnORO grupları için sırasıyla 0.44 ve $0.43 \text{ g.mm/m}^2\text{.h. kPa}$ olarak hesaplanmıştır. Sadece biberiye uçucu yağı içeren AFRO grubunda ise su buharı geçirgenliği $0.38 \text{ g.mm/m}^2\text{.h. kPa}$ ’dır. ZnO-NP ilavesi su buharı geçirgenliğini artırmış gibi görünse de gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemsizdir ($p<0.05$). Biberiye uçucu yağı ilavesi çalışmamızda su buharı geçirgenliğini değiştirmez iken Yedes vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada jelatin/kitosan/pektin içeren aktif filmlere biberiye uçucu yağı ilavesinin su buharı geçirgenliğini düşürdüğünü belirlenmiştir. Uçucu yağ ilavesinin biyobozunur filmlerde su buharı geçirgenliğini düşürmesi yapılan çalışmalarda uçucu yağın hidrofobik yapısı ile ilişkilendirilmiş, yağ ile polimer arasında

hidrojen bağları tarafından indüklenen çapraz bağ ağı oluşumunun filmin hidrofobikliğini artırdığı öne sürülmüştür (Sarıoğlu ve Turhan 2020).

Biswas vd. (2018) suda çözünür polimerlerin uçucu yağ ilavesi ile gözlenen su buharı geçirgenliği düşüşünü iki temel faktörle açıklamaktadır. Birincisi, EO ve gliserol ilavesi, moleküler hareketliliği arttırabilir ve su buharı moleküllerinin göçünü kolaylaştırarak WVP'yi arttırabilir. İkincisi hidrofobik EO'nun varlığı ile hidrofilik polimer fazında süreksizliklere neden olarak kütle transferi için kıvrımlılığı artırır ve WVP'yi azaltır. Gözlenen WVP düzeyinin, kullanılan polimere, gliserol seviyesine ve EO'nun doğal yapısına ve miktarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

4.1.6 Biyoaktif filmlerin antioksidan aktivite düzeyi

Yapılan çalışmada ZnO-NP ve biberiye uçucu yağı içeren aktif filmlerin antioksidan aktivite düzeyi ABTS metodu kullanılarak % inhibisyon cinsinden hesaplanmıştır. Veriler incelendiğinde AF grubunda antioksidan aktivite düzeyi %2.08 olarak hesaplanırken bu değer biberiye uçucu yağı kullanımı ile artmış ve AFRO grubunda %3.28, AFZnORO grubunda ise %2.29 olarak belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda genel olarak bitkilerin antioksidan aktivitesinin fenolik bileşiklerden kaynaklandığı ortaya konulmuştur. Fenolik bileşiklerin yağ molekülleri üzerine etkisi, fenolik hidroksil veya metoksil gruplarının sayısı, flavon hidroksil, keto grupları, serbest karboksilik gruplar ve diğer yapısal faktörlere bağlı olabilmektedir (Abdollahi vd. 2012). Biberiye yağının antioksidan aktivitesinin içerdiği, epirosmanol, karnosol, rosmanol, karnosik asit, rosmaridifenol rosmadial, rosmarinik asit, izorosmanol ve rosmarikinon içeriği ile yüksek oranda ilişkili olduğu belirtilmiştir (Sarıcaoğlu ve Turhan 2020). Karnosik asit, antioksidan aktiviteden sorumlu en önemli bileşiklerden biridir (Sanchez-Silva vd. 2014) Biberiye uçucu yağı çok sayıda terpenoid bileşen içermekte olup bunların başlıcaları (%10'dan fazla) kafur, α -pinen ve 1,8-sineoldür (Biswas vd. 2018). Giannakas vd. (2019) biberiye uçucu yağının LDPE/kitosan filmlere etkisini araştırdıkları çalışmalarında LDPE kitosan biberiye yağı içeren filmlerin antioksidan aktivite değerinin, LDPE/kitosan filmlerinin antioksidan aktivite değerinden yaklaşık %10 daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Eskandarabadi vd. (2019) çalışmalarında

montmorilonit (MMT), antosiyanin ve biberiye uçucu yağı içeren etilen vinil asetat bazlı filmlerin antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Antosiyanin ve biberiye uçucu yağının diğer katkıları ile birlikte kullanıldığında antioksidan aktiviteyi azalttığını tespit etmişlerdir. En yüksek antioksidan aktiviteyi MMT/ZnO biberiye yağı içeren filmlerin gösterdiğini bu durumun ZnO ve biberiye uçucu yağının sinerjistik etkisinden kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Canbaz (2021) tarafından yapılan çalışmada da jelatin/sodyum aljinat bazlı filme gilaburu ekstraktı ilavesi filmin antioksidan kapasitesini artırmıştır.

4.2 Model Et Çalışmasına İlişkin Analiz Sonuçları

4.2.1 Piliç etlerinin genel bileşim analiz sonuçları

Tez kapsamında farklı bileşimlerde hazırlanan biyoaktif filmler piliç göğüs etine uygulanmış ve 4°C’de atmosferik depolama koşulunda tüketim özelliğini yitirene dek 13 gün süreyle depolanmıştır. Her bir grupta TMAB sayısı 10^6 ’nın üzerine ulaştığında piliç etlerinin tüketim özelliğini yitirdiği kabul edilmiş ve mikrobiyel analize devam edilmemiştir. Ancak fizikokimyasal analizler 13 gün süreyle (tüm gruplarda TMAB sayısının 10^6 ’ya ulaştığı gün) yapılmıştır.

Biyoaktif film uygulanan piliç etlerinin depolama başlangıcında ve sonunda belirlenen su, protein, yağ ve kül sonuçlarına ilişkin veriler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Başlangıçta tüm gruplarda %73.73-75.24 aralığında bulunan su miktarı depolamanın 13.gününde kontrol grubu için %73.74 olarak hesaplanırken, biyoaktif film uygulanan gruplarda %68.97-69.71 aralığında belirlenmiştir ($p<0.05$). Biyoaktif film uygulanan grupların su içeriğindeki bu azalış filmi oluşturan polimerlerin higroskopik özellik göstermesi nedeni ile etin yüzeyindeki suyu çekerek şişmesi ile açıklanmaktadır.

Piliç etlerinin protein ve kül içeriklerindeki azalış istatistik olarak önemsizdir. Yağ içeriği ise 0.günde tüm gruplarda %1.06-1.47 aralığında değişim gösterirken 13.günde kontrol grubunda %0.57, biyoaktif film uygulanan gruplarda ise %2.50-3.68 aralığında

belirlenmiştir. Yağ miktarındaki bu artışın su içeriğindeki azalışa bağlı olarak kütleli bir artış olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.2 Piliç göğüs etlerinin su, protein, yağ ve kül içerikleri

	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO
<i>Su içeriği (%)</i>					
0.gün	74.81±1.01 ^A	74.85±0.09 ^A	73.83±0.03 ^A	75.24±0.11 ^A	74.74±0.11 ^A
13.gün	73.74±0.29 ^A	68.98±0.03 ^B	69.71±0.79 ^B	69.70±0.81 ^B	68.97±0.15 ^B
<i>Protein içeriği (%)</i>					
0.gün	19.86±1.55	20.30±0.15	21.98±0.28	21.95±4.05	21.14±0.37
13.gün	20.42±0.01	22.27±0.79	22.73±0.19	22.46±0.20	22.75±0.54
<i>Yağ içeriği (%)</i>					
0.gün	1.20±0.20 ^A	1.47±0.06 ^B	1.15±0.15 ^B	1.06±0.07 ^B	1.32±0.02 ^B
13.gün	0.57±0.15 ^A	2.50±0.10 ^A	3.41±0.05 ^A	3.68±0.05 ^A	3.34±0.05 ^A
<i>Kül içeriği (%)</i>					
0.gün	1.78±0.55	1.75±0.58	1.80±0.53	1.71±0.61	1.78±0.55
13.gün	1.78±0.36	2.13±0.24	1.76±0.53	1.75±0.37	1.72±0.55

^{A,B}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05)

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

4.2.2 Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim

TMAB sayısı hem literatür verileri hem de Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre çiğ etlerin tüketim özelliğini yitirdiğini işaret eden ve mikrobiyal kalite açısından bozulmuşluğun bir göstergesi olarak kabul edilen önemli kriterlerdendir. Biyoaktif film uygulanan piliç etlerinin TMAB sayılarına ilişkin sonuçlar çizelge 4.3'te verilmiş ve şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Depolamanın başlangıcında piliç etinin TMAB sayısı 3.98-4.35 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Kitosan ve polikaprolakton bazlı çift katmanlı filmin piliç göğüs etine uygulandığı bir çalışmada başlangıç TMAB yükü 3.83 log KOB/g (Söğüt ve Seydim

2019), karragenan bazlı yenilebilir filmlerin kullanımının araştırıldığı bir başka çalışmada ise çiğ piliç but etinde başlangıç TMAB sayısı 4.07 log KOB/g (Farhan ve Hani 2020) olarak belirlenmiş olup çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyum göstermektedir.

Çizelge 4.3 Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim

Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO
0	4.11±0.18 ^{Bx}	4.23±0.16 ^{Bx}	4.15±0.12 ^{Bx}	3.98±0.33 ^{Bx}	4.35±0.01 ^{Bx}
1	4.30±0.02 ^{Bx}	3.73±0.01 ^{Bx}	4.08±0.05 ^{Bx}	3.99±0.36 ^{Bx}	4.14±0.07 ^{Bx}
3	5.52±0.72 ^{Ax}	3.90±0.34 ^{By}	3.97±0.09 ^{By}	4.17±0.76 ^{By}	3.67±0.14 ^{By}
5	6.13±0.01 ^{Ax}	3.77±0.12 ^{By}	4.56±0.13 ^{By}	3.83±0.25 ^{By}	4.31±0.54 ^{By}
7	8.30±0.01 ^{Ax}	5.45±0.08 ^{Ay}	3.97±0.16 ^{Bz}	4.77±0.66 ^{By}	4.58±0.83 ^{By}
9	-	7.41±0.07 ^{Ax}	6.01±0.81 ^{Ay}	5.62±0.01 ^{Ay}	4.05±4.05 ^{Bz}
11	-	8.31±1.38 ^{Ax}	6.46±0.39 ^{Ay}	6.70±1.57 ^{Ay}	5.64±0.01 ^{Ay}
13	-	-	-	6.58±0.01 ^{Ay}	8.02±0.01 ^{Ax}

^{A,B}: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

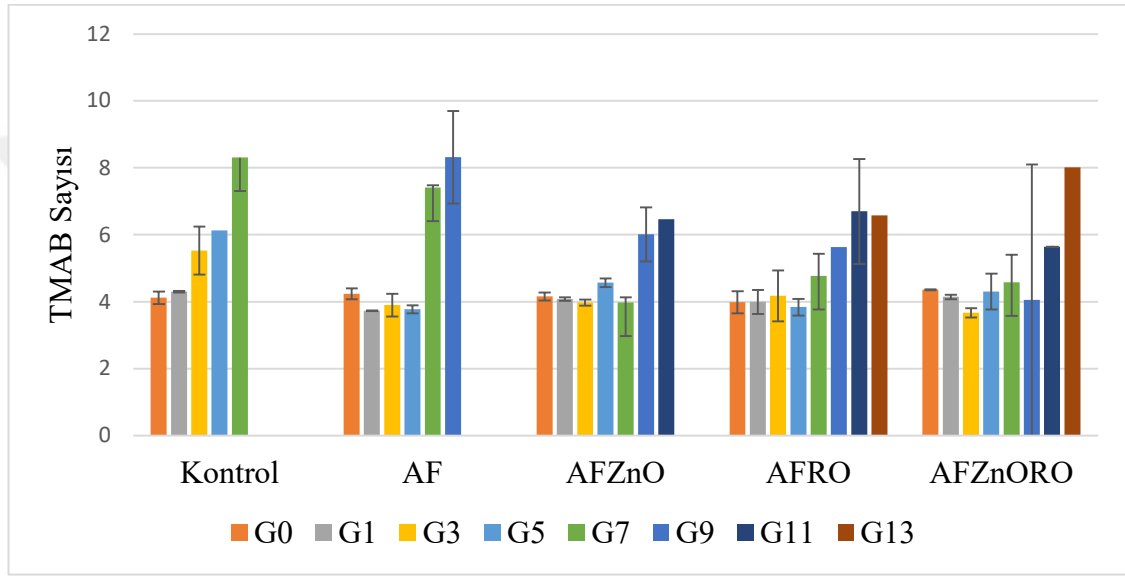
^{x,y,z}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

Çizelge 4.3 incelendiğinde TMAB sayısında kontrol grubu için istatistik olarak önemli bulunan artış 5.günde belirlenirken, AF grubu için 7.günde, AFZnO ile AFRO grupları için 9.günde ve AFZnORO grubunda ise 11.günde tespit edilmiştir (p<0.05). Aynı depolama gününde farklı uygulama grupları kıyaslandığında ise biyoaktif film uygulanan piliç etlerinin TMAB sayısı kontrol grubuna kıyasla 3, 5 ve 7. günlerde istatistik olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p<0.05).

TMAB sayısı açısından çiğ piliç etinde kabul edilebilir limit 6 log KOB/g olarak belirlenmiştir (Canbaz 2021, ICMSF 2011). Bu kapsamda elde edilen sonuçlar incelendiğinde biyoaktif film uygulanmayan kontrol grubu için depolama süresi 5 gün (6.13 log KOB/g) olarak belirlenmiştir. Biyoaktif film uygulanan gruplar kıyaslandığında ise AF ve AFZnO grupları için depolama 9.günde (sırasıyla 7.41 ve 6.01

log KOB/g), AFRO grubu için 11. günde (6.70 log KOB/g), AFZnORO (8.02 log KOB/g) için ise 13.günde sonlanmıştır. Depolamanın 13. gününde en düşük TMAB sayısı AFRO grubunda (6.58 log KOB/g) belirlenmiştir. Tüm depolama periyotları boyunca veriler incelendiğinde ise mikrobiyal gelişimin inhibisyonu açısından en iyi sonuçların AFRO ve AFZnO gruplarından alındığı kanaatine varılmış ve bu biyoaktif filmlerin piliç göğüs etinde kullanımı ile mikrobiyal kalite açısından raf ömrünün kontrol grubuna kıyasla 8 güne kadar uzatılabileceği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.3 Depolama süresince piliç etlerinde TMAB sayısındaki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

Materyal metot başlığında da ifade edildiği üzere piliç etleri ticari bir işletmeden temin edilmiş olup bu etler için etiket bilgisi doğrultusunda verilen raf ömrü toplam 7 gündür. Ancak yapılan çalışmada piliç etinin raf ömrünün kontrol grubunda 5.günde tamamlandığı tespit edilmiştir. AFRO ve AFZnORO gruplarında ise garanti payı da dikkate alınarak düşünüldüğünde depolamanın sırasıyla 9. ve 11.günlerde sonlandırılabilceği kanısına varılmıştır. Bu bağlamda, antimikrobiyal özellik gösteren biberiye uçucu yağı tek başına film bileşiminde kullanıldığında piliç göğüs etinin raf ömrü 4 gün (1.8 kat) daha uzatılabilirken, biberiye uçucu yağı bir başka antimikrobiyal

bileşen olan ZnO-NP ile kombine kullanıldığında sinerjistik etki sonucu raf ömrünün 6 gün (2.2 kat) daha uzatılabileceği sonucuna varılmıştır.

Biberiye uçucu yağının antibakteriyel aktivitesi içerdiği rosemanol, epirosmanol ve rosmamik asit bileşenlerinden kaynaklanmaktadır. Antibakteriyel etki için henüz net bir mekanizma açıklanamamasına rağmen, uçucu yağların bu etkisi biyoaktif bileşenlerin hücre zarına zarar vererek mikroorganizmaların ölümüne neden olması şeklinde açıklanmaktadır (Roy ve Rhim 2022). Öte yandan hazırlanan biyoaktif filmlerin antimikrobiyel etkisine katkı sağlayan bir diğer bileşenin ise kitosan olduğu düşünülmektedir. Nitekim herhangi bir aktif ajan içermeyen AF grubunda kontrole kıyasla 4 gün sonra 6 log KOB/g limitine ulaşılmıştır. Kitosanın antibakteriyel aktivitesi ise kitosan ve bakteri hücre zarlarında bulunan polikasyonlar arasındaki etkileşim ile açıklanmaktadır (Roy ve Rhim 2022). Canbaz (2021) tarafından yapılan çalışmada da jelatin/sodyum aljinat bazlı filme gilaburu ekstraktı ilavesinin piliç but etinde soğuk depolama sürecinde TMAB gelişimini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Canbaz 2021).

4.2.3 Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi

Piliç eti gibi gıdalarda depolama süresi boyunca ağırlık kaybı ürünlerin karlılığını ve kalitesini ifade etmek için kullanılan önemli bir parametredir (Amjadi vd. 2019). Ancak bu çalışmada ilgili parametre, hidrofilik özellik gösteren polimerler kullanılarak hazırlanan biyoaktif filmlerin piliç eti ile olan etkileşimini incelemek amacıyla kullanılmıştır. Hazırlanan biyoaktif filmler ile kaplanan piliç göğüs etlerinin soğuk depolama süresince (4°C) belirlenen ağırlık değişimi Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te verilmiştir. Depolamanın ilk gününden itibaren biyoaktif film uygulanan gruptaki ağırlık değişimi kontrol grubuna kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunda 1.günde 0.48 g olarak hesaplanan ağırlık değişimi 13.günde 3.59 g'a ulaşmıştır ve bu artış etten suyun zaman içerisinde sızması ile ilişkilendirilmiştir. Biyoaktif film uygulanan gruplara bakıldığında ise 1.günde belirlenen ağırlık değişimi depolama süresince artış eğilimi göstermiştir. En yüksek artış 3.82 g ile AFRO grubunda, en düşük artış ise 2.40 ile AFZnORO grubunda hesaplanmıştır.

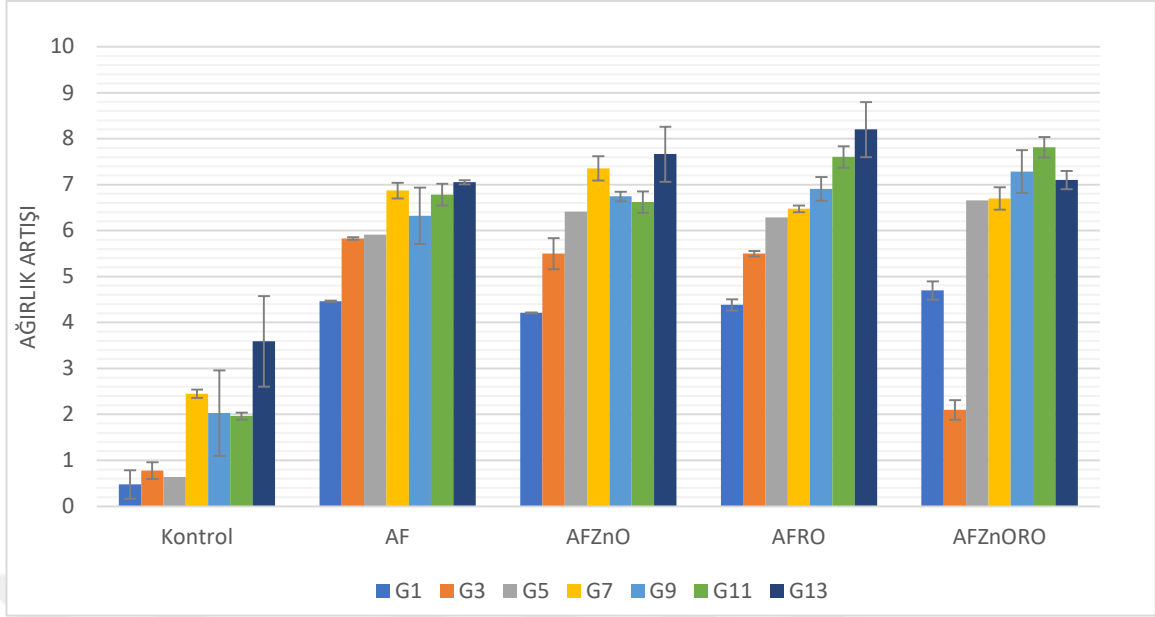
Yapılan bir çalışmada, Bajpai (2019), filmin nem çekme oranının CMC içeriği ile ilişkili olduğunu, CMC içeren filmin güçlü nem geçirgenliğine sahip olduğunu belirtmiştir. Bu özellik esas olarak, CMC'nin yüzey hidroksil grubuna sahip olması ve su molekülleri ile kolayca reaksiyona girmesi ve CMC kompozit filmini higroskopik hale getirmesi ile açıklanmıştır (Bajpai 2019). Yapılan bir çalışmada jelatin/kitosan nanofiber içeren filmler ile kaplanan piliç göğüs etlerinde 12 günlük depolama süresinde en yüksek ağırlık kaybı %38.03 olarak kitosan nanofiber/jelatin film örneklerinde tespit edilirken, jelatin/kitosan nanofiber ve çinko oksit nanopartikülleri içeren film ile kaplanan piliç etinde ağırlık kaybı %18.91 ile daha düşük ve kontrol grubunda ise %8.63 olarak belirlenmiştir (Amjadi vd. 2019). Bajpai (2019), çalışmasında film bileşiminde ZnO-NP kullanımının polimer zincirleri arasındaki etkileşimleri arttırarak, jelatin matrisindeki boş alanları doldurarak zincirlerin hareketliliğini azalttığını ve bu nedenle ZnO-NP içeren filmlerde uçucu yağ içeren filmlere kıyasla daha düşük ağırlık kaybı tespit edildiğini rapor etmiştir. Literatür bilgilerinin aksine, tarafımızca yapılan çalışmada ZnO-NP ya da biberiye uçucu yağı kullanılan gruplar AF ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamış tüm gruplarda ağırlık değişimi benzer bulunmuştur.

Çizelge 4.4 Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi

Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO	Ortalama
1	0.48±0.31 ^B	4.46±0.01 ^A	4.21±0.01 ^A	4.38±0.12 ^A	4.70±0.20 ^A	3.64±0.11
3	0.78±0.18 ^B	5.83±0.03 ^A	5.50±0.34 ^A	5.50±0.06 ^A	4.20±0.21 ^A	3.94±0.15
5	0.64±0.09 ^B	5.91±0.17 ^A	6.41±0.26 ^A	6.29±0.07 ^A	6.65±0.24 ^A	5.18±0.16
7	2.45±1.49 ^B	6.87±0.80 ^A	7.35±0.64 ^A	6.47±0.61 ^A	6.70±0.11 ^A	5.97±0.73
9	2.03±0.93 ^B	6.32±0.61 ^A	6.74±0.10 ^A	6.91±0.26 ^A	7.28±0.46 ^A	5.85±0.47
11	1.96±0.07 ^B	6.78±0.23 ^A	6.62±0.23 ^A	7.60±0.23 ^A	7.81±0.22 ^A	6.15±0.20
13	3.59±0.98 ^B	7.05±0.04 ^{AB}	7.66±0.60 ^{AB}	8.20±0.60 ^A	7.10±0.20 ^{AB}	6.72±0.55
Ortalama	1.70±0.58	6.17±0.27	6.38±0.31	6.48±0.28	6.05±0.26	

^{A,B}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



Şekil 4.4 Depolama süresince piliç etlerindeki ağırlık değişimi

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

4.2.4 Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişim

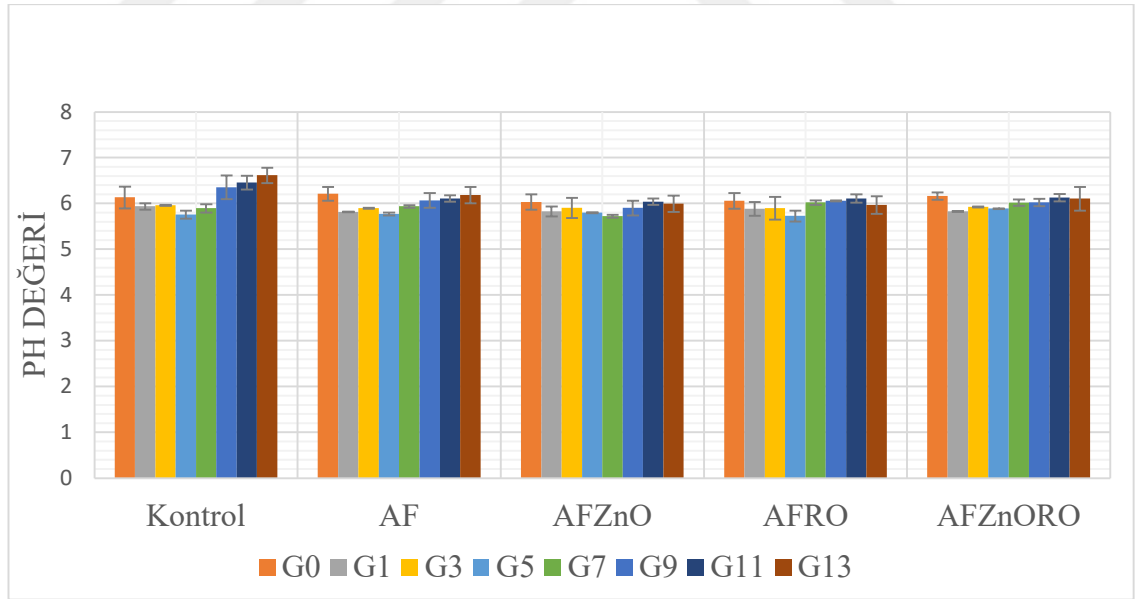
Çalışma kapsamında biyoaktif filmler ile kaplanan piliç göğüs etlerinin soğuk depolama süresince (4°C) ölçülen pH değerleri çizelge 4.5 ve şekil 4.5'te verilmiştir. Çalışmada hammadde olarak kullanılan piliç göğüs etinin başlangıç pH değeri 0. günde 6.03-6.21 aralığında bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda çiğ piliç etinin başlangıç değerleri 6.17 (Kamkar vd. 2021), 6.81 (Söğüt ve Seydim 2019) ve 5.7-6 (Mehdizadeh ve Mojaddar Langroodi 2019) aralığında belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonucun literatür verileri ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Depolamanın ilk gününde tüm gruplarda pH değerinde düşüş tespit edilmiştir. Özellikle kontrol ve AF grupları depolamanın 5-13.günleri arasında doğrusal bir yükseliş eğilimi göstermiştir. AFZnO, AFRO, AFZnORO aktif film gruplarında depolamanın ilk 3 günün düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.5 Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişimi

Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO	Ortalama
0	6.13±0.24	6.21±0.15	6.03±0.17	6.06±0.17	6.16±0.08	6.11±0.06
1	5.93±0.07	5.81±0.01	5.82±0.11	5.88±0.15	5.83±0.01	5.85±0.03
3	5.96±0.01	5.89±0.01	5.90±0.22	5.89±0.25	5.92±0.01	5.91±0.05
5	5.75±0.10	5.77±0.03	5.80±0.01	5.72±0.12	5.88±0.01	5.78±0.02
7	5.89±0.10	5.93±0.03	5.72±0.03	6.02±0.05	6.02±0.07	5.91±0.05
9	6.35±0.26	6.06±0.16	5.90±0.08	6.05±0.01	6.02±0.08	6.08±0.08
11	6.46±0.15	6.11±0.07	6.04±0.14	6.11±0.09	6.12±0.08	6.16±0.06
13	6.61±0.17	6.18±0.18	5.99±0.14	5.96±0.19	6.10±0.26	6.12±0.09
Ortalama	6.10±0.09	5.99±0.04	5.90±0.04	5.96±0.49	6.01±0.04	

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



Şekil 4.5 Depolama süresince piliç etlerinde pH değerindeki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

Şekil 4.5 incelendiğinde ise, depolamanın 7.gününden sonra kontrol grubunda belirlenen artışın diğer gruplara kıyasla daha net bir şekilde tespit edilmiştir. Kontrol grubunda 7.günde TMAB sayısı 8.30 log KOB/g değerine ulaştığı için mikrobiyal analize devam edilmemiş ancak fizikokimyasal analizler 13 gün boyunca sürdürülmüştür. Bu bağlamda, kontrol grubunda pH değerinde 7. günden sonra belirlenen bu net artışın mikrobiyal proteolitik aktivite sonucu bazik karakterli bileşik oluşumu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Gomez ve Lorenzo 2012, Amjadi vd. 2019). Biyoaktif film uygulanan piliç etlerinde pH değerindeki değişimin baskılanması ise antimikrobiyal özellik gösteren bu filmlerin mikrobiyal gelişimi kontrol grubuna kıyasla bir süre daha baskılanması ile açıklanabilmektedir.

Kanatt ve Makwana (2020) Karboksimetil selüloz/polivinil alkol içeren aktif filmlerde *Aloe vera* etkisini araştırdıkları çalışmalarında, CMC/PVA bazlı aktif film uygulanan piliç kıyması örneklerinin başlangıç pH değerini 5.5 olarak belirlerken, depolamanın 13.gününde örneklerin pH değeri 6.0 olarak ölçülmüştür. Aynı çalışmada *Aloe vera* ve sitrik asit eklenen, CMC/PVA bazlı aktif film uygulanan piliç kıyması örneklerinin başlangıç pH değeri 5.8 iken, depolamanın 3.gününde bu değer 6.2'ye ulaşmıştır. Araştırmacılar pH'da tespit edilen hızlı artışın glikojenin hızlı tükenmesinden ve proteinlerin bakteriler tarafından besin kaynağı olarak kullanılmasından kaynaklanıyor olabileceğini belirtmişlerdir.

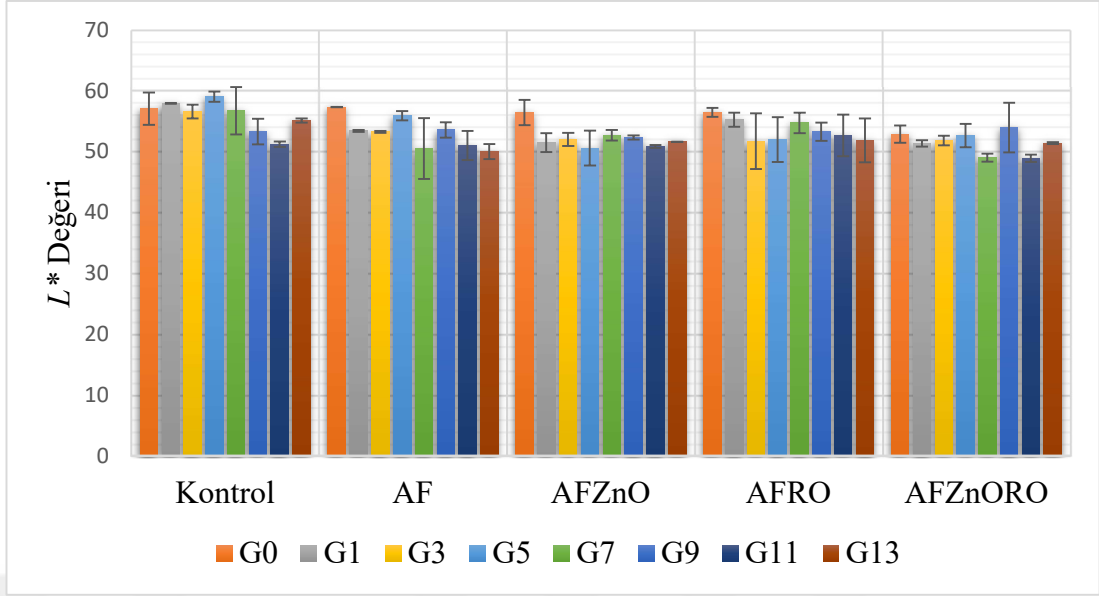
4.2.5 Depolama süresince piliç etlerinin L^* , a^* ve b^* renk değerindeki değişim

Çalışmamızda biyoaktif filmler ile kaplanan piliç göğüs etlerinin soğuk depolama süresince (4°C) ölçülen enstrümental L^* , a^* ve b^* renk değerleri çizelge 4.6'da verilmiştir. Renk gıdaların görünüm özellikleri ve tüketici kabulü açısından önemli bir etkiye sahiptir. L^* değeri et ve ürünlerinde rengin açıklık-koyuluk özelliğini hakkında fikir veren (Amjadi vd. 2019), 0-100 aralığında değişim gösteren ve değer 0'dan 100'e doğru değiştikçe örneğin renginin siyahtan beyaza doğru değiştiğini ifade eden bir parametredir (Pirsa ve Shamusı 2019). Piliç göğüs etleri açısından ise L^* değeri 50'nin üzerinde ise et 'açık' renkli, 50'nin altında ise 'koyu' olarak değerlendirilir (Panea vd. 2014).

Çizelge 4.6 Depolama süresince piliç etlerinin L^* , a^* ve b^* renk değerlerindeki değişim

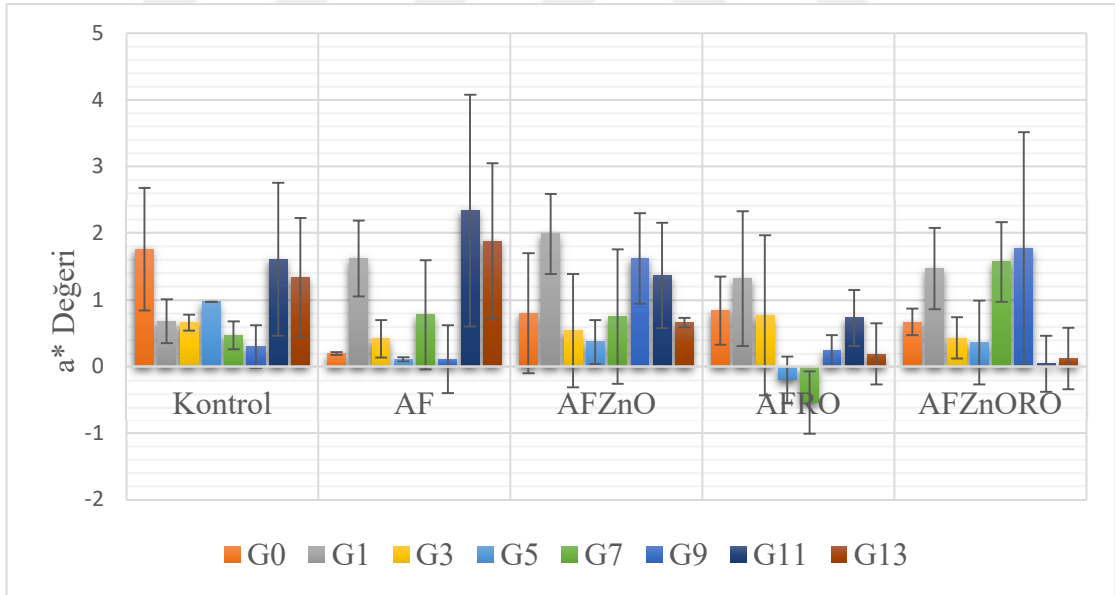
Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO	Ortalama
<i>L^* değeri</i>						
0	57.11±2.67	57.37±0.01	56.49±2.09	56.51±0.73	52.91±1.42	56.08±0.77
1	57.97±0.05	53.43±0.16	51.55±1.54	55.31±1.16	51.39±0.54	53.93±0.87
3	56.65±1.15	53.32±0.16	52.08±1.07	51.77±4.56	51.88±0.80	53.12±0.95
5	59.11±0.84	55.95±0.77	50.63±2.88	52.04±3.67	52.70±1.93	54.09±1.28
7	56.79±3.90	50.56±4.99	52.73±0.87	54.79±1.68	49.06±0.65	52.79±1.36
9	53.36±2.09	53.62±1.24	52.36±0.33	53.31±1.50	54.03±4.08	53.33±0.76
11	51.28±0.44	51.07±2.38	50.90±0.26	52.72±3.40	48.94±0.61	50.98±0.74
13	55.12±0.35	50.08±1.24	51.67±0.01	51.92±3.61	51.46±0.14	51.71±0.80
Ortalama	55.98±0.84	53.17±0.82	52.30±0.58	53.54±0.85	51.55±0.62	
<i>a^* değeri</i>						
0	1.76±0.92	0.19±0.02	0.80±0.90	0.84±0.51	0.67±0.20	0.85±0.27
1	0.68±0.33	1.62±0.57	1.99±0.60	1.32±1.01	1.47±0.61	1.41±0.26
3	0.66±0.12	0.41±0.28	0.54±0.85	0.77±1.20	0.43±0.31	0.56±0.23
5	0.97±0.01	0.11±0.03	0.37±0.33	-0.20±-0.35	0.36±0.63	0.32±0.17
7	0.47±0.21	0.77±0.82	0.75±1.01	-0.54±-0.47	1.57±0.60	0.60±0.32
9	0.30±0.32	0.11±0.51	1.62±0.68	0.24±0.23	1.77±1.75	0.81±0.38
11	1.61±1.15	2.34±1.74	1.36±0.79	0.73±0.42	0.04±0.42	1.21±0.32
13	1.34±0.89	1.88±1.17	0.66±0.07	0.19±0.46	0.12±0.46	0.78±0.32
Ortalama	0.95±0.20	0.93±0.30	1.01±0.23	0.41±0.22	0.80±0.26	
<i>b^* değeri</i>						
0	5.39±0.45	2.94±4.86	3.42±1.53	6.67±0.73	5.91±1.04	4.86±0.92
1	6.43±2.05	7.62±1.79	8.13±1.07	9.88±0.70	11.01±2.06	8.61±0.76
3	8.89±2.79	6.6±1.22	7.09±0.27	9.11±1.29	12.88±1.96	8.91±0.93
5	8.23±1.67	10.91±0.27	8.57±0.89	9.57±2.66	10.17±1.18	9.49±0.61
7	8.56±0.31	6.81±1.68	9.82±1.51	12.08±0.13	9.10±2.53	9.27±0.76
9	11.17±0.76	6.17±4.33	8.82±0.11	8.31±2.65	10.93±3.58	9.09±1.09
11	5.45±2.58	8.95±2.21	6.98±0.33	9.07±2.41	11.39±0.96	8.32±0.92
13	6.13±1.86	6.81±0.87	11.02±0.58	8.85±2.34	11.56±0.34	9.18±0.85
Ortalama	7.62±0.69	7.10±0.87	7.93±0.60	9.19±0.58	10.37±0.72	

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



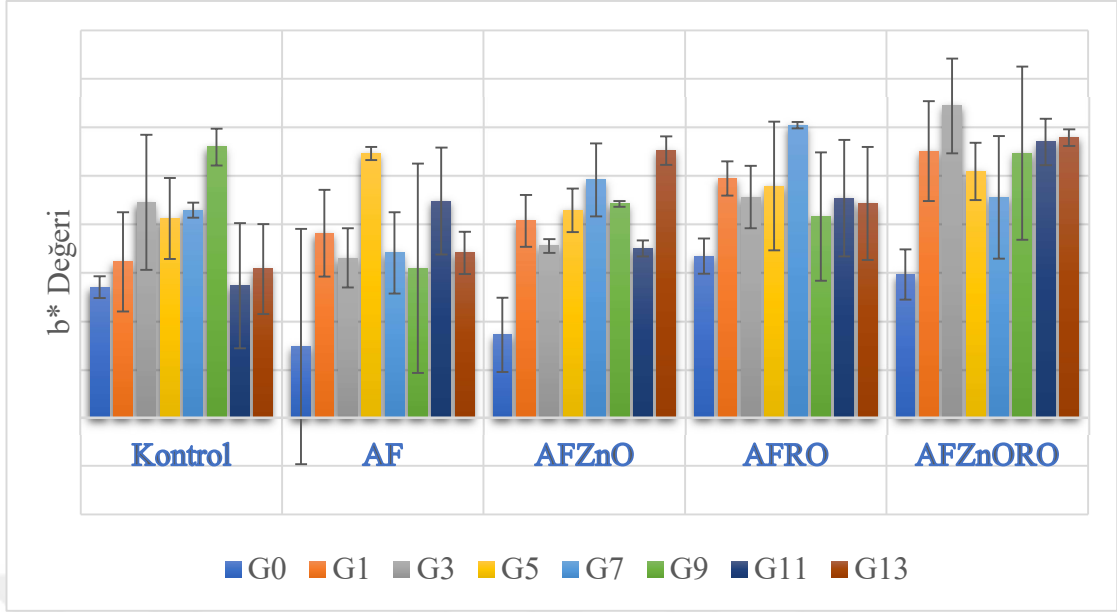
Şekil 4.6 Depolama süresince piliç etlerinde L^* değerindeki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



Şekil 4.7 Depolama süresince piliç etlerinde a^* değerindeki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



Şekil 4.8 Depolama süresince piliç etlerinde b^* değerindeki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

a^* değeri ise ürün renginin yeşillik-kırmızılık özelliklerini ifade etmekte olup negatif değerler yeşil, pozitif değerler kırmızı rengin bir simgesi olarak kabul edilmektedir. b^* değeri ürün renginin mavilik-sarılık düzeyini tanımlamak amacıyla kullanılmakta olup, - b^* değerleri mavi, + b^* değerleri ise sarı rengi ifade etmektedir (Pirsa ve Shamusı, 2019).

Çizelge 4.6 incelendiğinde L^* , a^* ve b^* renk ölçümleri açısından depolama süresince kontrol grubu ile farklı bileşimde hazırlanan biyoaktif film ile kaplanan piliç etleri arasında istatistik olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde, 13 günlük depolama süresince renk değerlerinde artış ve azalışlar kaydedilmiş olsa da bu değişim günler arasında da istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

Depolama süresince L^* , a^* , b^* renk değerlerinde ölçülen bu artış ve azalışların iki farklı nedeni olduğu düşünülmektedir. Deneme planlanırken materyal ve metot başlığı altında da açıklandığı üzere piliç et kesitleri genellikle *Pectoralis major* kasının caudal bölgesinden alınmıştır. Ancak bu planlama kapsamında her bir grup ve her bir depolama günü için farklı piliç etleri kullanımına gerek duyulmuş ve bu bağlamda da kaslar arası renk farklılıklarının Çizelge 4.6'da verilen ölçümlere yansıdığı düşünülmektedir. Bir

diğer gerekçe ise özellikle biyoaktif film uygulanan gruplarda filmin etin yüzeyindeki suyu çekmesi sonucu daha kuru bir yüzey oluşumu ve bunun renk ölçümlerine yansımaları olarak öngörülmektedir. Çünkü yapılan çalışmalarda et matrisindeki su dağılımının L^* değeri üzerine etkili olduğu vurgulanmıştır (Aleson-Carbonell vd. 2004). Bu bağlamda da biyoaktif film uygulanan gruplarda kuru yüzey oluşumuna bağlı olarak L^* değerinin düştüğü ve et yüzeyinde koyu bir renk oluşumunun gözlemlendiği tespit edilmiştir.

4.2.6 Depolama süresince piliç etlerinin TBARM değerindeki değişim

Donmuş depolama süresince lipitlerde meydana gelen değişimler lipoliz ve oksidasyon reaksiyonları olarak tanımlanır. Lipoliz reaksiyonları, trigliseritler ile fosfolipitlerin hidrolizi olarak bilinir ve lipoliz reaksiyonları sonucunda oksidasyon reaksiyonlarının substratı olan serbest yağ asitleri açığa çıkar (Gandemer 2002). Aynı zamanda etin doğal olarak bileşiminde de bulunan serbest yağ asitlerinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu otokatalitik olarak gelişen lipit oksidasyonu üründe karsinogenik bileşiklerin oluşumunun yanı sıra kalite kayıpları ile sonuçlanır. Lipit oksidasyonu etlerin organoleptik, fonksiyonel ve besinsel özellikleri üzerine olumsuz etkilere sahiptir ve ürünlerin raf ömrünü sınırlandırmaktadır. TBARS analizi de, et ve ürünlerinde meydana gelen lipit oksidasyon düzeyini ölçmek amacıyla uzun yıllardan beri kullanılan hassas bir yöntemdir. TBARM analizi ile ikincil oksidasyon ürünü olan malonaldehit miktarı belirlenir. Ayrıca TBARM analizi lipid oksidasyonu sonucu oluşan ransiditenin de bir ölçüsüdür. Lipit oksidasyonu etlerin organoleptik, fonksiyonel ve besinsel özellikleri üzerine olumsuz etkilere sahiptir ve ürünlerin raf ömrünü sınırlandırmaktadır (Cheng vd. 2007, Cheng vd. 2011 ve Langroodi vd. 2021).

Depolama sürecinde mikrobiyel aktivitenin yanı sıra et ve ürünlerinde raf ömrünü sınırlayan bir diğer faktör lipid oksidasyonudur. Bu bağlamda, çalışma kapsamında piliç etinde depolama süresince lipid oksidasyonunu ölçmek için TBARM analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6’da verilmiştir.

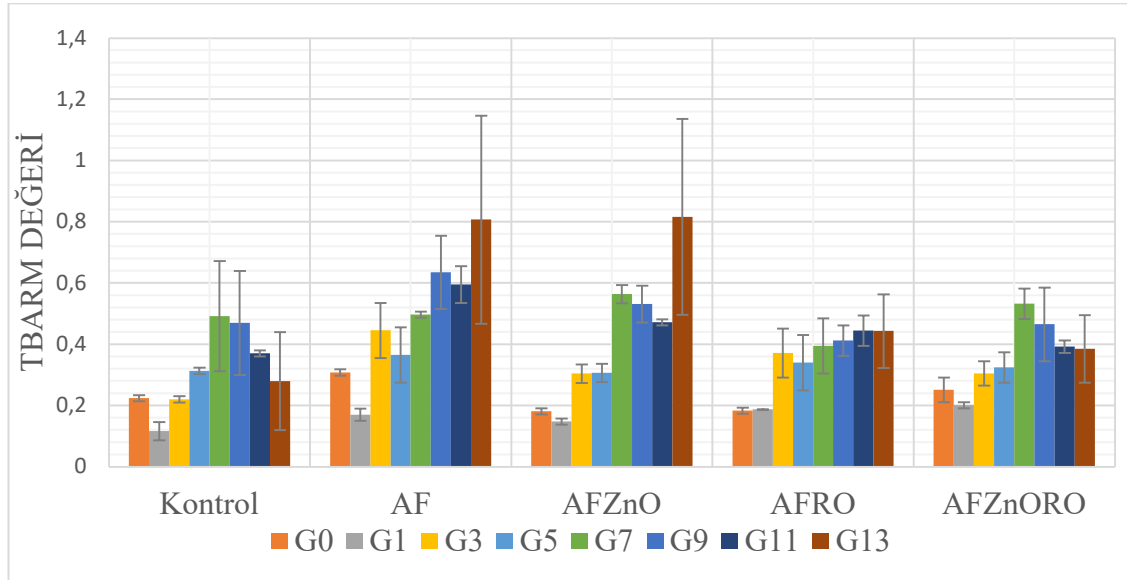
Depolamanın ilk gününde başlangıç TBARM değeri 0.18-0.30 mg MA/kg bulunmuştur. Mehdizadeh ve Mojaddar Langroodi (2019) propolis ekstraktı içeren kitosan bazlı aktif film ile kaplanan çiğ piliç göğüs etlerinin başlangıç TBARM değerini 0.16 mg MA/kg,

Söğüt ve Seydim (2019) kitosan ve polikaprolaktan bazlı çift katmanlı film ile yaptıkları çalışmada piliç göğüs etinde başlangıç TBARM değerini 0.21 mg MA/kg olarak tespit etmişlerdir. Literatür verilerinin çalışmamızda elde edilen başlangıç TBARM değeri ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.7 Depolama süresince piliç etlerinin TBARM değerindeki değişim

Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO	Ortalama
0	0.22±0.01	0.30±0.01	0.18±0.01	0.18±0.01	0.25±0.04	0.22±0.02
1	0.11±0.03	0.16±0.02	0.15±0.01	0.18±0.01	0.20±0.01	0.16±0.01
3	0.22±0.01	0.44±0.09	0.30±0.03	0.37±0.08	0.30±0.04	0.32±0.05
5	0.31±0.09	0.36±0.09	0.30±0.03	0.34±0.09	0.32±0.05	0.32±0.07
7	0.49±0.18	0.49±0.01	0.56±0.03	0.39±0.09	0.53±0.05	0.49±0.10
9	0.47±0.17	0.63±0.12	0.53±0.06	0.41±0.05	0.46±0.12	0.50±0.03
11	0.37±0.01	0.59±0.06	0.47±0.01	0.44±0.05	0.39±0.02	0.45±0.21
13	0.27±0.16	0.80±0.34	0.81±0.32	0.44±0.12	0.38±0.11	0.38±0.21
Ortalama	0.31±0.08	0.47±0.09	0.41±0.06	0.34±0.06	0.35±0.05	

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup



Şekil 4.9 Depolama süresince piliç etlerinde ölçülen TBARM değerindeki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

Çizelge 4.7’de verilen değerler incelendiğinde kontrol grubu ve biyoaktif film uygulanan grupların TBARM değerleri arasında istatistik olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde depolama süresi boyunca her bir grup kendi içinde incelendiğinde TBARM değerinde artış ve azalışlar belirlense de bu değişimler istatistik olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Şekil 4.9 incelendiğinde kontrol ve AFZnORO gruplarında TBARM değerinin ilk 7 gün arttığı sonrasında azaldığı belirlenmiştir. Bu düşüş depolama süresince oluşan malonaldehitin polimerizasyon dahil olmak üzere moleküller arası reaksiyonlara ve ayrıca ette bulunan diğer bileşenlerle, özellikle amino asitler ve proteinlerle reaksiyona girebileceği gerçeğiyle açıklanabilir. Bu nedenle, depolama sırasında malonaldehit tüketim hızı, lipid oksidasyonu yoluyla oluşum hızını aşarak TBARS değerlerinde düşüşe neden olabilir (Stratakos vd. 2015). AF, AFZnO ve AFRO grupları incelendiğinde ise depolamanın son gününde başlangıç değerine kıyasla bir artış tespit edilmiştir. Biyoaktif film uygulanan gruplar birbiri ile kıyaslandığında özellikle AF ve AFZnO gruplarındaki artışın daha yüksek olduğu 0.güne kıyasla 13.günde sırasıyla 2.66 ve 4.5 kat daha yüksek TBARM değeri ölçüldüğü belirlenmiştir. Biberiye uçucu yağı içeren gruplarda ise bu artış AFRO ve AFZnORO grupları için sırasıyla 2.44 ve 1.52 kat olarak bulunmuş olup AF ve AFZnO gruplarına kıyasla daha düşüktür. Bu sonucun elde edilmesinde bileşiminde rosemanol, epirosmanol, rosmarinik asit gibi antioksidan özellik gösteren bileşenleri taşıyan biberiye uçucu yağının film bileşiminde kullanımının etkisi olduğu düşünülmektedir.

Literatür çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiş olup film bileşiminde antioksidan özellik gösteren uçucu yağ kullanımının düşük TBARM değeri ile sonuçlandığı rapor edilmiştir. Kamkar vd. (2021) yapmış olduğu çalışmada nano-lipozomal sarımsak uçucu yağı (NLGEO) ile formüle edilmiş biyouyumlu kitosan (CS) filmlerini piliç göğüs etine kaplayarak 14 günlük depolama sonunda en düşük TBARS değerini %1 ve %2 oranlarında NLGEO içeren gruplarda tespit etmiştir. Başka bir çalışmada %1 ve %2 konsantrasyonlarında biberiye uçucu yağı ile zenginleştirilmiş kitosan veya kitosan/kazeinat karışımı ile kaplanarak hazırlanan polilaktik asit filmi uygulanmış et örneklerinin TBARM değerinde depolamanın 21.gününde %50 azalma olduğu belirlenmiştir (Fiore vd. 2021). Souza vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada da

%0.5, %1 ve %2 olmak üzere 3 farklı oranda biberiye yağı içeren kitosan filmleri ile kaplanan piliç ciğer örneklerinin de depolamanın 15. gününde limit değer olan 0.5 mg MDA/kg ulaşamadığı belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada da jelatin/sodyum aljinat bazlı filme 3 farklı konsantrasyonda gilaburu ekstraktı ilavesi piliç but etinde soğuk koşullarda depolama süresince lipid oksidasyonunu inhibe etmiş ve düşük TBARS değeri ile sonuçlanmıştır (Canbaz 2021).

Çalışmamızda düşük TBARM değeri eldesinde biberiye uçucu yağının yanı sıra film bileşiminde kullanılan polimerlerinde antioksidan karakterlerinin katkısının olduğu düşünülmektedir. Kitosanın yapısında bulunan OH (C6) ve NH₂ (C2) fonksiyonel gruplarının kitosana antioksidan özellik kazandırdığı bilinmektedir. Jelatinin antioksidan aktivitesi ise yapısında bulunan peptit bağlarından kaynaklanmaktadır (Roy ve Rhim 2022). Bu bağlamda, özellikle AFRO ve AFZnORO gruplarında hem biberiye uçucu yağının hem de polimerlerin antioksidan özellikleri sayesinde TBARM değerinin diğer gruplara kıyasla düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

4.2.7 Depolama süresince piliç etlerinin sülfidril miktarındaki değişim

Et ve ürünlerinde depolama süresince meydana gelen ana biyokimyasal reaksiyonlardan biri proteoliz olup, proteolitik değişimler sonucunda polipeptit ve peptitlerden serbest amino asitler, aminler ve protein olmayan nitrojenli bileşikler açığa çıkar (Martin-Sanchez vd. 2011). Ayrıca depolama aşamasında et ve ürünlerinde gözlenen protein oksidasyonu da et, kümes hayvanları ve deniz ürünlerinin duyusal, beslenme ve işleme özelliklerinde olumsuz değişikliklere yol açan proteinlerin kovalent bağlarındaki değişiklikler olarak tanımlanır (Umaraw vd. 2020). Yapılan çalışmalar lipid oksidasyonu ile protein oksidasyonu arasında doğrusal bir ilişki olduğunu, malonaldehit gibi lipid oksidasyon ürünlerinin aminoasit kalıntılarına bağlanarak dolaylı protein oksidasyonuna neden olabileceğini göstermiştir (Smaoui vd. 2017). Depolama süresince proteinleri etkileyen oksidatif reaksiyonların derecesini ölçmek için sülfidril miktarının belirlenmesi sıklıkla kullanılan analitik yöntemlerden biridir (Smaoui, 2017).

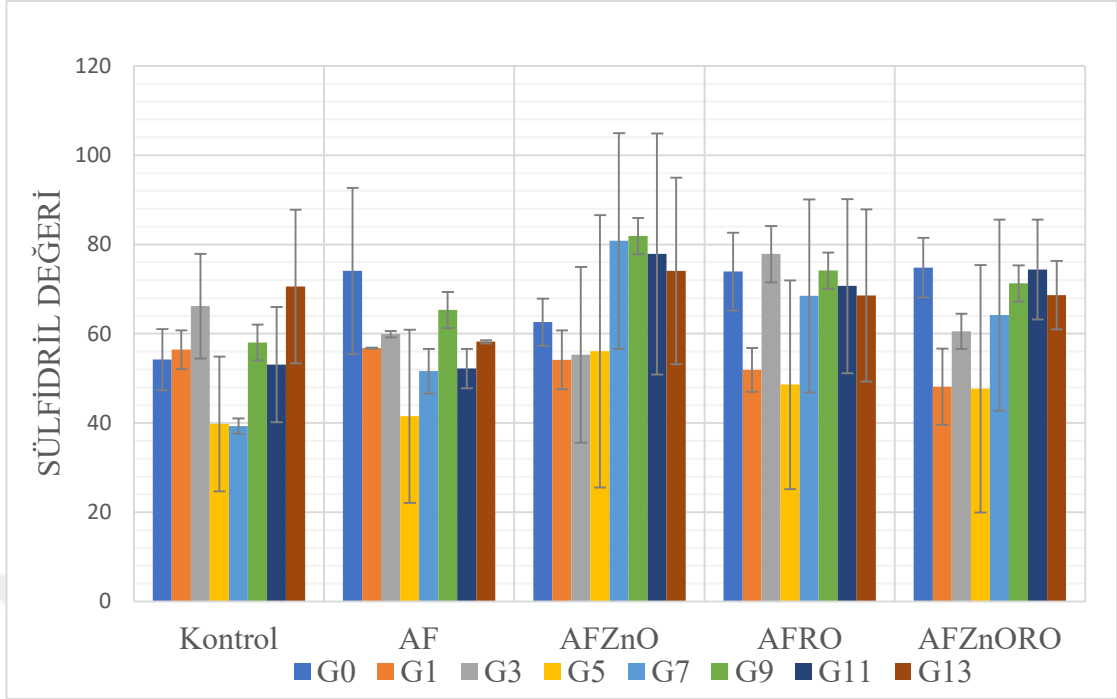
Depolama süresince piliç göğüs etinin sülfidril içeriğindeki değişim çizelge 4.8 ve şekil 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Depolama süresince piliç etlerinin sülfidril miktarındaki değişim

Günler	Kontrol	AF	AFZnO	AFRO	AFZnORO	Ortalama
0	54.23±6.84	74.10±18.6	62.64±5.27	73.96±8.72	74.84±6.70	67.96±4.43
1	56.45±4.32	56.77±0.10	54.17±6.58	51.92±4.92	48.16±8.55	53.5±2.16
3	66.20±11.7	59.92±0.74	55.30±19.70	77.88±6.32	60.55±3.96	63.98±4.43
5	39.80±15.1	41.50±19.4	56.10±30.50	48.60±23.40	47.70±27.70	46.74±8.18
7	39.33±1.71	51.62±5.02	80.80±24.20	68.50±21.60	64.20±21.40	60.89±7.53
9	58.04±3.15	65.35±4.39	81.9±19.40	74.17±2.16	71.30±4.09	70.15±4.09
11	53.09±12.9	52.22±4.42	77.9±27.00	70.70±19.50	74.40±11.20	64.84±6.65
13	70.60±17.20	58.22±0.36	74.1±20.90	68.60±19.30	68.65±7.67	68.02±5.38
Ortalama	54.81±3.83	57.48±3.48	67.86±6.14	66.79±4.75	63.73±4.46	

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

Depolama süresince sülfidril miktarında artış ve azalışlar tespit edilmiş olup bu değişim hem depolama günleri kıyaslandığında hem de aynı depolama gününde farklı uygulama grupları birbiri ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. Film uygulanan gruplarda depolamanın 13. gününde en yüksek değer 74.10 $\mu\text{mol/g}$ et ile AFZnO grubunda, en düşük değer ise 58.22 $\mu\text{mol/g}$ et ile AF grubunda ölçülmüştür. Park vd. (2006) sülfidril miktarındaki düşüşün protein oksidasyonunun göstergesi olduğunu belirtmekle birlikte yapılan çalışmada başlangıç sülfidril miktarına kıyasla depolamanın 13. gününde önemli bir düşüş tespit edilememiştir.



Şekil 4.10 Depolama süresince piliç etlerinde ölçülen sülfidril miktarındaki değişim

Kontrol: Aktif film uygulanmamış grup; **AF:** Jelatin/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFRO:** Jelatin/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup; **AFZnORO:** Jelatin-ZnO-NP/CMC-biberiye uçucu yağı/Kitosan filmi uygulanan grup

5. SONUÇ

Yapılan çalışmada kitosan, karboksimetil selüloz, jelatin içeren filmlere biberiye uçucu yağı ve ZnO nanopartikülleri eklenerek biyoaktif filmler hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlerin karakteristik özellikleri ve soğuk depolama süresince 4°C’de piliç göğüs etinin biyokimyasal ve mikrobiyel kalite parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir.

Gıda ambalajlarının opak olması ışığın indüklediği reaksiyonların engellenmesi için önemlidir. AFRO ve AFZnORO film gruplarında daha opak bir görünüm elde edilmiştir. Bu sonuç, ışığa karşı hassas olan gıdalarda bu filmin ışık geçirgenliğini önlemek amacıyla bariyer olarak kullanılabilirliğini ortaya koymuştur.

Biyoaktif filmlerin şişme kapasitesi ZnO-NP ilavesi ile artış gösterirken, biberiye uçucu yağı ilavesi filmlerin şişme kapasitesini düşürmüştür. Farklı bileşime sahip biyoaktif filmlerin su içeriği %31.49-32.79 arasında belirlenmiş olup, film bileşimine ZnO-NP ya da %1 oranında biberiye uçucu yağı ilavesinin filmlerin su içeriğini etkilemediği saptanmıştır.

Ambalaj materyali olarak kullanılacak filmlerde su buharı geçirgenliğinin gıdanın kalite özelliklerini korumak, çevre ile arasındaki nem transferini önlemek için düşük olması beklenmektedir. ZnO-NP ilavesi aktif filmlerin su buharı geçirgenliğini arttırmış gibi görülsede bu artış istatistik olarak önemsizdir ($p < 0.05$).

Yapılan çalışmada aktif filmlerin antioksidan aktivite düzeyi ABTS metodu kullanılarak AFRO grubunda %3.28, AFZnORO grubunda ise %2.29 olarak belirlenmiş olup AF grubuna kıyasla antioksidan kapasitedeki bu artışın biberiye uçucu yağının bileşiminde bulunan epirosmanol, karnosol, rosmanol, karnosik asit, rosmakinon, rosmaridifenol rosmadial, rosmarinik asit ve izorosmanol bileşiklerinin varlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Et ürünlerinin raf ömrünü sınırlayan etmenlerden biri olan, lipit oksidasyon düzeyi yapılan tez çalışmasında TBARM değeri ile belirlenmiştir. AFRO ve AFZnORO

gruplarında TBARM değerinin diğer gruplara kıyasla dūşük olduğu sonucuna varılmıştır. Dūřük TBARM sayısına biberiye uçucu yağının yanı sıra biyoaktif film bileşiminde kullanılan kitosan, jelatin ve CMC polimerlerinin de katkısı olduğu saptanmıştır.

Depolamanın 5. gūnūne kadar tūm deneme gruplarında et ve ūrūnlerinin raf ōmrūnū belirleyen bir dięer parametre olan TMAB sayısı aęısından kabul edilebilir limit olan 6 log KOB/g'ın ařılmadıęı, depolamanın 5. gūnūnden sonra kontrol grubunda bu deęerin ūzerine çıkıldıęı gűzlenmiřtir. AFRO ve AFZnRO aktif film gruplarının piliç gűęű etinde mikrobiyel geliřmi kontrol altında tuttuęu sonucuna varılmıřtır. AFZnORO aktif filmi ile kaplanan piliç gűęű etinin limit TMAB sayısı deęerine 13.gūn ulařması ve bűylece piliç gűęű etinin raf ōmrūnū 2.2 kat uzatabileceęi tespit edilmiřtir.

Ųzetle, bu tez çalıřması kapsamında hazırlanan AFZnORO aktif filminin yukarıda sıralanan ōzellikleri gűz ōnūnde bulundurularak, ūzerinde bazı iyileřtirmeler yapılarak plastik gıda ambalajlarına antioksidan ve antibakteriyel ōzellikleri ile evre dostu bir alternatif olabileceęi sonucuna varılmıřtır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Rezaei, M. ve Farzi, G. 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 847-853.
- Abreu, A.S. M. Oliveira, A. de Sá. R.M. Rodrigues, M.A. Cerqueira, A.A. V. Machado, A., 2015. Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging, *Carbohydrate Polymer*. 129,127-134.
- Ahmad, M. Benjakul, S. Prodpran, T. Agustini, T.W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*. 28,189–199.
- Ahmadi, A. Ahmadi, P. Ehsani, A. 2020. Development of an active packaging system containing zinc oxide nanoparticles for the extension of chicken fillet shelf life. *Food Sci Nutrition*. 8, 5461– 5473.
- Ahmed, I., Lin, H., Zou, L., Brody, A. L., Li, Z., Qazi, I. M., Pavase, T.R. ve Lv, L. 2017. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. *Food Control*, 82, 163-178.
- Ahmed, J. Mulla, M. Arfat Y.A. Bher, A. Jacob, H.ve Auras, R. 2018. Compression molded LLDPE films loaded with bimetallic (Ag-Cu) nanoparticles and cinnamon essential oil for chicken meat packaging applications. *LWT*. 93, 329-338.
- Aleson-Carbonell, L. Fernández-López, J. Sendra, E. Sayas- Barberá, E. ve Pérez-Alvarez, J. A. 2004. Quality characteristics of a non-fermented dry-cured sausage formulated with lemon albedo. *J. Sci. Food Agr*. 84, 2077-2084.
- Al-Hijazeen, M. Lee, E.J. Mendonca, A. ve Ahn, D.U. 2016. Effect of Oregano Essential Oil (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) on the Storage Stability and Quality Parameters of Ground Chicken Breast Meat. *Antioxidants*, 5(2);18.
- Aider M. 2010. Food Science and Technology, Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review, *LWT*. 43 (6); 837-842.
- Alizadeh-Sani M. Mohammadian, E. ve McClements, D. 2020. Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat. *Food Chemistry*, 322,12678.
- Altenhofen da Silva, M. Thie I., B. Hiromi T. M. Guenter K. T. 2013. Evaluation of the antimicrobial potential of alginate and alginate/chitosan films containing potassium sorbate and natamycin. *Packaging Technology* 26, 479–492.
- Amaral, A. B., Silva, M. V. d., ve Lannes, S. C. d. S. 2018. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Science and Technology*, 38(suppl 1), 1-15.

- Amjadi, S. Emaminia, S. Nazari, M. ve Heyat Davudia S. Hamishehkar H. 2019 Application of Reinforced ZnO Nanoparticle-Incorporated Gelatin Bionanocomposite Film with Chitosan Nanofiber for Packaging of Chicken Fillet and Cheese as Food Models. *Food and Bioprocess Technology* 12; 1205–1219.
- Amna, T. Hassan, M. S. Yousef, A. Mishra, A. Barakat, N. Khil, M.- S. ve Kim, H. Y. 2013. Inactivation of foodborne pathogens by NiO/TiO₂ composite nanofibers: a novel biomaterial system. *Food and Bioprocess Technology*. (4), 988–996.
- Almasi, H. Jahanbakhsh Oskouie M. ve Saleh A. 2021. A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(15); 2601-2621.
- Al-Naamani, L. Dobretsov, S. Dutta, J. Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 38, 231-237.
- Anonymous, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamalar. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 sayfa.
- Auras R, Harte B, Selke S. 2004. An overview of polylactides as packaging materials. *Macromolecular bioscience*. 16(4); 835-64.
- Azlin-hasim, S., Cruz-romero, M. C., Morris, M. A., Padmanabhan, S. C., Cummins, E., ve Kerry, J. P. 2016. The potential application of antimicrobial silver polyvinyl chloride nanocomposite films to extend the shelf-life of chicken breast fillets. *Food and Bioprocess Technology*, 9(10); 1661–1673.
- Bağdatlı, A.B. Kayaardı, S. 2010. Et ve Et Ürünlerinde Kullanılan Paketleme Yöntemleri. *Akademik Gıda*, 8; 24-30.
- Baek, S. Song, K.B. 2018. Development of Gracilaria vermiculophylla extract films containing zinc oxide nanoparticles and their application in smoked salmon packaging, *LWT*, 89, 269-275.
- Bajpai P. 2019. *Biobased Polymers Properties and Applications in Packaging*. Elsevier. 129-138.
- Bermúdez-Oria, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Fernández-Prior, Á., Fernández-Bolaños, J. 2019. Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive antioxidants hydroxytyrosol and 3,4- dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 148; 213–218
- Bermúdez-Oria, A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Vioque, B., Rubio-Senent, F., Fernández-Bolaños, J. 2017. Physical and functional properties of pectin-fish gelatin films containing the olive phenols hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenylglycol. *Carbohydrate Polymers*, 178; 368–377.
- Biswas, A. Roselayne, F. Maria, B. ve Selene, B. Marilia, O. Veera, B. Huai, C. 2018. Preparation and Characterization of Carboxymethyl Cellulose Films with Embedded Essential Oils. *Journal of Materials Science Research*. 7,16.

- Botsoglou, N.A. Grigoropoulou, S.H. Botsoglou, E. Govaris, A. Papageorgiou, G. 2003. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65, 1193-1200.
- Botsoglou et al. 2012. Lipid and protein oxidation of α -linolenic acid-enriched pork during refrigerated storage as influenced by diet supplementation with olive leaves (*Olea europea* L.) or α -tocopheryl acetate. *Meat Science*, 92(4),;525-532.
- Can, Ö. P. Ağaoğlu, S. Alemdar, S. 2016. Biberiye Ekstraktı İlavesinin Piliç Köftesinin Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 1(1);1-6.
- Canbaz, B. 2021. Gilaburu (*viburnum opulus* l.) Ekstraktı İçeren Yenilebilir Jelatin Filmlerinin Piliç Etinin Oksidatif Stabilitesi Üzerine Etkisi.Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Ankara.
- Cando, D. Moreno, H.M., Tovar, C.A. 2014. Effect of high pressure and/or temperature over gelation of isolated hake myofibrils. *Food and Bioprocess Technology*, 7(11); 3197-3207.
- Carpena, M. Nuñez-Estevez, B. Soria-Lopez, A. ve Garcia-Oliveira, P. Prieto, MA. 2021. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. *Resources*, 10(1);7.
- Cha, D. S. Chinnan, M. S. 2004. Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4); 223–237.
- Chandra, R. and Rustgi, R. 1998. Biodegradable Polymers. *Progress in Polymer Science*, 23,1273-1335.
- Chraïbi, M. Farah, A. Elamin, O. Iraqui, H. M. ve Fikri-Benbrahim, K. 2020. Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 11(1), 25–29.
- Cheng J, Wang S, Ockerman HW. 2007. Lipid oxidation and color change of salted pork patties. *Meat Science*, 75: 71-77.
- Cheng JH. Wang ST. Sun YM. Ockerman HW. 2011. Effect of phosphate, ascorbic acid and α -tocopherol injected at one-location with tumbling on quality of roast beef. *Meat Science*, 87: 223-228.
- Chiavaro, E. Zanardi, E. Bottari, B. Ianieri, A. 2008. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. *Journal of Muscle Foods*, 19, 157–174.
- Chouliara, E. A. Karatapanis, I.N. Savvaidis, M. Kontominas, G. 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life

- extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiology*. 24(6);607–617.
- Coma, V., 2013. Polysaccharide-based biomaterials with antimicrobial and antioxidant properties. *Polimeros*. 23(3); 287–297.
- Contini, L. R. F. Zerlotini, T. D. S. Brazolin, I. F. dos Santos, J. W. S. ve Silva, M. F. Lopes, P. S. ve Sampaio, K. A. de Carvalho, R. A. Venturini, A. C. ve Yoshida, C. M. P. 2022. Antioxidant chitosan film containing lemongrass essential oil as active packaging for chicken patties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46,16136.
- Coşkun, B.K., Çalıkoglu, E., Emiroğlu, Z.K. ve Candoğan, K. 2014. Antioxidant active packaging with soy edible films and oregano or thyme essential oils for oxidative stability of ground beef patties. *Journal of Food Quality*, 37, 203-212.
- Çelebi, H. ve Dehmen S., 2013. Synthesis and characterization of starch/polycaprolactone based biodegradable nanocomposites. *Sigma Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*. 31, 53-62.
- Çelebi Sezer, Y., Bozkurt, H. 2021. Et ve et ürünlerinin üretimi ve saklanması antimikrobiyal ambalajlama sistemlerinin kullanımı. *Food and Health*. 7(2);150-163.
- Davis, G. ve Song, J.H., 2006. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 147-161.
- Domínguez, R. Barba, F.J. Gómez, B. Putnik, P. ve Bursać Kovačević, D. Pateiro, M. Santos, E.M. ve Lorenzo, J. 2018. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. *Food Research International*. 113, 93-101.
- Dominguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., ve Lorenzo, J. M. 2019. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants (Basel)*, 8(10).
- Emiroglu, Z. K., Yemis, G. P., Coskun, B. K., ve Candogan, K. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Sci*, 86(2), 283-288.
- Farhan, A. ve Hani, N.M. 2020. Active edible films based on semi-refined κ-carrageenan: Antioxidant and color properties and application in chicken breast packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 24; 100476.
- Fiore, A. Park, S. Volpe, S. Torrieri, E. and Masi, P. 2021. Active packaging based on PLA and chitosan-caseinate enriched rosemary essential oil coating for fresh minced chicken breast application. *Food Packaging and Shelf Life*, 29;100708.

- Folegatti M.I.S. Antunesi A. J. ve Marcondes J. A. 1998. Mechanical and permeability properties of milk protein films. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 41(3).
- Fратиanni, F. De Martino, L. Melone, A. De Feo, V. Coppola, R. ve Nazzaro, F. 2010. Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils. *Journal of Food Science*, 75,528-535
- Gandemer G. 2002. Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.* 62: 309-321.
- Ganiari, S. Choulitoudi, E. ve Oreopoulou, V. 2017. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70-82.
- Gomez, M. ve Lorenzo, J. M. 2012. Effect of packaging conditions on shelf-life of fresh foal meat. *Meat Science*, 91(4), 513-520.
- Guo, M. Zhang, X. Liu, D. Jin, T. ve Z. Chen, W. He, Q. Zou, Z. Zhao, H. Ye, X. 2021. Preparation and characterization of gellan gum-chitosan polyelectrolyte complex films with the incorporation of thyme essential oil nanoemulsion. *Food Hydrocolloids*, 114, 106570.
- Göksen, G., Fabra, M. J., Pérez-Cataluña, A., Ekiz, H. I., Sanchez, G., ve López-Rubio, A. 2021. Biodegradable active food packaging structures based on hybrid cross-linked electrospun polyvinyl alcohol fibers containing essential oils and their application in the preservation of chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 27.
- Gross, R. A. and Kalra, B., 2002. Biodegradable polymers for the environment. *Science*, 297, 803- 807.
- Haghighi, H. Biard, S. Bigi, F. Leo, R. Bedin, E. Pfeifer, F. Siesler, H.W. Licciardello, F. Pulvirenti, A. 2019. Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oil. *Food Hydrocolloids*. 95,33-42.
- Hakeem, M.J. Feng, J. Nilghaz, A. Ve Ma, L. Seah, HC. Konkel, M., ve Lu X. 2020. Active Packaging of Immobilized Zinc Oxide Nanoparticles Controls *Campylobacter jejuni* in Raw Chicken Meat. *Applied Environmental Microbiology*. 28; 86(22).
- Han Lyn, F. ve Nur Hanani, Z.A. 2020. Effect of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Essential Oil on the Properties of Chitosan Films for Active Packaging. *Journal of Packaging Technology and Research*. 1-12.
- Hanif, M.A., Nisar, S., Khan, G.S., Mushtaq, Z., Zubair, M. 2019. *Essential Oils. Essential Oil Research*. Springer.3-7.
- Harmankaya, S. ve Vatansever, L. 2016. The effect of essential oils of rosemary and clove on shelf life chicken meat. *Van Veterinary Journal*. 28(1); 11-19.

- Hecer, C. 2012. Et Teknolojisinde Ambalajlama Yöntemleri. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 31,57-62.
- Herring, J.L. Jonnalongadda, S.C. Narayanan, V.C. ve Coleman, S.M. 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage. Meat Science, 85, 51- 656.
- Hongxia, W. Qian, J. ve Fuyuan, D. 2018. Emerging Chitosan-Based Films for Food Packaging Applications. Journal of Agricultural and Food Chemistry .66 (2); 395-413.
- ICMSF. 2011. Microorganisms in Foods 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. Berlin, Germany: Springer.
- Ivanković, A. Zeljko K. Talić S. Martinović B. A. ve Lasić M. 2017. Biodegradable Packaging In The Food Industry. Archiv für lebensmittelhygiene. 6, 23-52.
- Jansens, K.J.A., Hong, N.V., Telen, L., Brijs, K. and Lagrain, B., Van Vuure, A.W., Van Acker, K., Verpoest, I. and Van Puyvelde, P., Goderis, B., Smet, M. and Delcour, J.A., 2013. Effect of molding conditions and moisture content on the mechanical properties of compression molded glassy, wheat gluten bioplastics. Industrial Crops and Products. 44, 480–487.
- Jiang, Y. Wu, N. Fu, Y.L. Wang, W. Luo, M. Zhao, C.Z. Zu, Y.G. Liu, X.L. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary, Environmental Toxicology and Pharmacology, 32(1), 63-68.
- Jiang, W. Zhang, W. Shu, C. Chen, Q. ve Cao, J. 2019. The multi-layer film system improved the release and retention properties of cinnamon essential oil and its application as coating in inhibition to penicillium expansion of apple fruit, Food Chemistry. 299, 125109.
- Jiang, L. Liun, F. Wang, F. Zhang, H. ve Kang, M. 2022. Development and characterization of zein-based active packaging films containing catechin loaded β -cyclodextrin metal-organic frameworks, Food Packaging and Shelf Life. 31, 214-2894.
- Jimenez C.P. ve Cecilia J. A. 2020. Chitosan: A Natural Biopolymer with a Wide and Varied Range of Applications *Molecules*. 25(17).
- Kamkar, A. Molaei-aghaee, E. Khanjari, A. Akhondzadeh-basti, A. Noudoost, B. Shariatifar, ve Soleimani, M. 2021. Nanocomposite active packaging based on chitosan biopolymer loaded with nano-liposomal essential oil: Its characterizations and effects on microbial, and chemical properties of refrigerated chicken breast fillet. International Journal of Food Microbiology. 342; 109071.
- Kanatt, S. Makwana, S. H. 2020. Development of active, water-resistant carboxymethyl cellulose-poly vinyl alcohol-Aloe vera packaging film. Carbohydrate Polymers. 227, 115303.

- Kanatt, S. R. 2020. Development of active/intelligent food packaging film containing *Amaranthus* leaf extract for shelf life extension of chicken/fish during chilled storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 24.
- Kanmani, P., Rhim, J.W., 2014. Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 68, 258–266.
- Karagöz, Z., ve Candoğan, K. 2007. Et teknolojisinde antimikrobiyel ambalajlama. *GIDA*, 32(3), 113-122.
- Kim, H.J. Kim, H.J. Jeon, J. Nam, KC. Shim, KS. Jung, JH. Kim, KS. Choi, Y. Kim, SH. ve Jang, A. 2020. Comparison of the quality characteristics of chicken breast meat from conventional and animal welfare farms under refrigerated storage. *Poultry Science*. 99(3);1788-1796.
- Kolsarıcı, N., Candoğan, K. 1995. The Effects of Potassium Sorbate and Lactic Acid on the Shelf-Life of Vacuum-Packed Chicken Meats. *Poultry Science*, 74;1884-1893.
- Konuk Takma D. ve Korel, F.2019. Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat, *Food Packaging and Shelf Life*,19, 210-217.
- Krishna, A. Gurumoorthy, S. ve Elayappan, P. ve Sakthivadivel, P. Kumaran, S. ve Pushparaj, P..2022. A Review on the Application of Nanotechnology in Food Industries. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 10. 871-883.
- Langroodi, A.M. Nematollahi, A. ve Sayadi, M. 2021. Chitosan coating incorporated with grape seed extract and *Origanum vulgare* essential oil: an active packaging for turkey meat preservation. *Food Measure* 15, 2790–2804.
- Li, G. Zheng, T. Tang, P. 2023. Development of a pH-sensitive film based on collagen/chitosan/ZnO nanoparticles and mulberry extract for pork freshness monitoring, *Food Chemistry*.402.
- Lin, X. Fan, X. Li, R. Li, Z. Ren, T. X. Ren, Huang, T. S. 2018. Preparation and characterization of PHB/PBAT–based biodegradable antibacterial hydrophobic nanofibrous membranes, *Polymers for Advanced Technologies*. 29, 481-489.
- Liu, H., Li, J., Zhu, D., Wang, Y., Zhao, Y. ve Li, J., 2014. Preparation of soy protein isolate (SPI)-pectin complex film containing cinnamon oil and its effects on microbial growth of dehydrated soybean curd (dry tofu). *Journal of Food Process Preservation*. 38, 1371–1376.
- Lopez-Carballo G., Gomez-Estaca J., Catala R., Hernandez-Munoz P. ve Gavara R., 2012. Active antimicrobial food and beverage packaging. *Emerging Food Packaging Technologies*, 3,27-54.
- Lunt, J. 1998. Polymer Degradation and Stability Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. 59,42-152.

- Luo, Q. Hossen, M, Zeng Y. Dai J. Li, S. Qin W.ve Liu, Y. 2022. Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. *Journal of Food Engineering*. 313,110762.
- Majd, M. Babak, G. Noghabi, S. Abdolshahi, M. Anna A. Dahmardeh, S. ve Mohammadi, M. 2022. Poly (lactic acid)-based bionanocomposites: effects of ZnO nanoparticles and essential oils on physicochemical properties. *Polymer Bulletin*. 79(6).
- Marcinkowska-Lesiak, M. Zdanowska-Sąsiadek, Z. Stelmasiak, A. Damaziak, K. Michalczuk, M. Poławska, E. Wyrwisz, J. ve Wierzbicka A. 2016. Effect of packaging method and cold-storage time on chicken meat quality. *Journal of Food*. 14(1); 41-46.
- Martín-Sánchez, A. M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fenández-López, J., ve Pérez-Álvarez, J. A. 2011. Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Science*, 89(1), 35–44.
- McMillin, K. W. 2017. Advancements in meat packaging. *Meat Sci*, 132, 153-162.
- Mehdizadeh, T. ve Mojaddar Langroodi, A. 2019. Chitosan coatings incorporated with propolis extract and *Zataria multiflora* Boiss oil for active packaging of chicken breast meat. *International journal of biological macromolecules*, 141, 401–409.
- Mielnik, M. B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., ve Skrede, G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. *Food Science and Technology*, 39(3), 191-198.
- Min, B.J., Oh, J.H., 2009. Antimicrobial activity of catfish gelatin coating containing origanum (*Thymus capitatus*) oil against gram-negative pathogenic bacteria. *Journal of Food Science* .74 (4), 143–148.
- Mir, NA. Rafiq, A. Kumar, F. Singh V, and Shukla, V. 2017. Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. *Journal of Food Science Technology*. 54(10); 2997-3009.
- Mitelut A.C. Tanase E.E. Popa V.I. ve Popa M.E. 2015. Sustainable Alternative For Food Packaging: Chitosan Biopolymer- A Review. *Agro Life Scinetific Journal*. 4(2); 52-61.
- Monedero, F.M., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A., 2010. Study of the retention and release of n-hexanal incorporated into soy protein isolate–lipid composite films. *Journal of Food Eng*. 100, 133–138.
- Mostafavi F.S.ve Zaeim D. 2020. Agar-based edible films for food packaging applications- A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 159; (1165-1176).

- Musetti, A., Paderni, K., Fabbri, P., Pulvirenti, A., Al-Moghazy, M., Fava, P., 2014. Poly(vinyl alcohol)-based film potentially suitable for antimicrobial packaging applications. *Journal of Food Science*. 79 (4)577–582.
- Nair, L.S. Laurencin, C.T. 2007. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*. 32,762-798.
- Namazi, H. ve Mosadegh, M., 2011. Preparation and properties of starch/nanosilicate layer/polycaprolactone composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 19(4); 980-987.
- Natrajan, N. Sheldon, B.W. 2000. Efficacy of nisin-coated polymer films to inactivate *Salmonella typhimurium* on fresh broiler skin. *Journal of Food Protection*. 63,1189- 1196.
- Nazzaro, F. Fratianni, F. Coppola, R. ve Feo, V.D. 2017. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
- Niaounakis, M. 2013. Definitions and Assessment of (Bio)degradation. *Biopolymers Reuse, Recycling, and Disposal* 77-94.
- Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., ve Guo, Y. 2018. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680.
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Rezaei Mokarram, R., & Hashemi, M. 2017. Novel active packaging based on carboxymethyl cellulose-chitosan-ZnO NPs nanocomposite for increasing the shelf life of bread. *Food Packaging and Shelf Life*. 11, 106–114.
- Nur Hanani, Z.A., Roos, Y.H., Kerry, J.P., 2014. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal of Biological Macromolecules*. 71, 94–102.
- Orr, I.G. Hadar, Y. ve Sivan, A. 2004. Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology Biotechnology*. 65(1):97-104.
- Panea, B. Ripoll, G. González, J. Fernández-Cuello, Á. ve Albertí, P. 2014. Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. *Journal of Food Engineering*, 123, 104-112.
- Peng, Y. Wu, Y. ve Li, Y. 2013. Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *Int J Biol Macromol*, 59, 282-289.
- Pirsa, S. ve Shamus, T. (2019). Intelligent and active packaging of chicken thigh meat by conducting nano structure cellulose-polypyrrole-ZnO film. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 102, 798-809.

- Prajapati, V. D. Jani, G. J. ve Zala, B. S. Khutliwala, A. T. 2013. An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. *Carbohydrate Polymers*.93(2) 670-678,
- Popović, S. Z., Lazić, V. L., Hromiš, N. M. Šuput, D. Z. ve Bulut, S. N. 2018. Biopolymer Packaging Materials for Food Shelf-Life Prolongation. *Introduction Biopolymers for Food Design* 223–277.
- Ramos M. Valdes A. Beltran A. Garrigos M.C. 2016. Gelatin-Based Films and Coatings for Food Packaging Applications *Coatings* 6(4), 41.
- Rouger, A. Tresse, O. ve Zagorec, M. 2017. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms*. 5(3);50.
- Roy, S. ve Rhim, W. 2020. Carboxymethyl cellulose-based antioxidant and antimicrobial active packaging film incorporated with curcumin and zinc oxide. *International Journal of Biological Macromolecules*. 148,666-676.
- Saberi Riseh, R., Gholizadeh Vazvani, M., Hassanisaadi, M., ve Skorik, Y. A. 2023. Micro-/Nano-Carboxymethyl Cellulose as a Promising Biopolymer with Prospects in the Agriculture Sector: A Review. *Polymers*, 15(2).
- Sarıcaoglu, F. T., ve Turhan, S. 2020. Physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of mechanically deboned chicken meat protein films enriched with various essential oils. *Food Packaging and Shelf Life*, 25.
- Shahmohammadi J. F.ve Almasi H. 2016. Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate Polymers*. 149, (8-19).
- Shankar, S. Teng, X. Li, G. Rhim J.W. 2015. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. *Food Hydrocolloids*. 45, 264-271.
- Shin, J. Harte, B. Ryser, E. ve Selke, S. 2010. Active packaging of fresh chicken breast, with allyl isothiocyanate (AITC) in combination with modified atmosphere packaging (MAP) to control the growth of pathogens. *Journal of food science*, 75(2); 65–71.
- Slim, S. Karim, E. Ahlem, C. M. Ines, K. R. Maher, H. Kameleddine, B. Lotfi, M. 2017. Relationships between textural modifications, lipid and protein oxidation and sensory attributes of refrigerated turkey meat sausage treated with bacteriocin BacTN635. *Food and Bioprocess Technology*. 10(9); 1655-1667.
- Srinivasan, S. ve Hultin, O.H. 1977. Chemical, physical, and functional properties of cod proteins modified by a nonenzymic free-radical-generating system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(2); 310-320.
- Söğüt, E. ve Seydim, A.C. 2019. The effects of chitosan- and polycaprolactone-based bilayer films incorporated with grape seed extract and nanocellulose on the quality of chicken breast fillets. *LWT*. 101; (799-805).

- Söğüt, E. ve Seydim, A.C. 2020. D-Limonen ve Nanoselüloz İçeren Aktif Kitosan/Polikaprolakton İki Katmanlı Filmler. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24 (3), 618-625.
- Souza, V. Pires, J. R.A. Vieira, É. t. Coelho, M.I. Duarte, P. Fernando, A.L. 2019, Activity of chitosan-montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. Food Hydrocolloids, 89,241-252.
- Soyer vd. 2010. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. Meat Science, 120 (4); 1025-1030.
- Sujiwo, J. Kim, D. Jang, A. 2018. Relation among quality traits of chicken breast meat during cold storage: correlations between freshness traits and torrymeter values. Poultry Science. 97, 2887-2894.
- Sung, S.Y. Sin, L.T. Tee, T. T. Bee, S.T. Rahmat, A.R. Rahman, W.A.W.A. Tan, A.C. Vikhrman, M. 2013. Antimicrobial agents for food packaging applications. Trends Food Science Technology. 33(2); 110–123.
- Stratakos, A. C. Delgado-Pando, G. Linton, M. Patterson, M. F. ve Koidis, A. 2015. Synergism between high-pressure processing and active packaging against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat chicken breast. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 27, 41-47.
- Thulasisingh, A. Kumar, K.ve Yamunadevi, B. 2022. Biodegradable packaging materials. Polymer Bulletin 79, 4467–4496.
- Umaraw, P. Munetaka, P.E.S. Verma, A.K. Barba, F. J. Singh, P.V. ve Kumar, P. Lorenzo, J.M. 2020 Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products Trends in Food Science & Technology 98, 10-24.
- Wang, J.S., Wei, Z.Y., Li, L., Bian, K. and Zhao, M.M., 2009. Characteristics of enzymatic hydrolysis of thermal-treated wheat gluten. Journal of Cereal Science 50, 205–209.
- Wang, H., Gong, X., Miao, Y., Guo, X., Liu, C., Fan, Y. Y., Zhang, J., Niu, B. ve Li, W. 2019. Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan, sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles. Food Chemistry, 283, 397-403.
- Wang, W. Zhao, D., Qisen Xiang, Q. Li K. Wang, B. Bai, Y. 2021. Effect of cinnamon essential oil nanoemulsions on microbiological safety and quality properties of chicken breast fillets during refrigerated storage. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. 152.112376
- Vroman, I., ve Tighzert, L. 2009. Biodegradable Polymers. Materials, 2, 307- 344.

- Xavier, J.R. Babusha, S.T. ve George, J. Ramana, K.V., 2015. Material properties and antimicrobial activity of polyhydroxybutyrate (PHB) films incorporated with vanillin, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 176, 1498-1510.
- Xing, C. Qin, C. Li, X. Zhang, F. Linhardt, R. J. ve Sun, P. Zhang, A. 2019. Chemical composition and biological activities of essential oil isolated by HS-SPME and UAHD from fruits of bergamot. *LWT*, 104, 38–44.
- Yadollahi, M. Farhoudian, S. Barkhordari, S. Gholamali, I. Farhadnejad, H. ve Motasadizadeh, H. 2016. Facile synthesis of chitosan/ZnO bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules*. 82, 273-278.
- Yaradoddi, J.S., Banapurmath, N.R., Ganachari, S.V. 2020. Biodegradable carboxymethyl cellulose based material for sustainable packaging application. *Scientific Reports* 10, 21960.
- Yıldırım, Z. Ceylan, Ş. Öncül, N. 2015. Tokat piyasasında satışa sunulan piliç etlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Akademik Gıda Dergisi*. 13(4); 304-316.
- Yoshito, O. Kobayashi, T. Asabe, H.M. Nobunao, M. ve Ono, K. 1995. Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinyl chloride, and urea formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *Journal of Applied Polymer Science*, 56, 1789-1796.
- Zahedi, Y. Fathi-Achachlouei, B. Yousefi, A. R. 2018. Physical and mechanical properties of hybrid montmorillonite/zinc oxide reinforced carboxymethyl cellulose nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 863-873.
- Zhang, W. Shu, C. Chen, Q. Cao, J. ve Jiang, W. 2019. The multi-layer film system improved the release and retention properties of cinnamon essential oil and its application as coating in inhibition to penicillium expansion of apple fruit. *Food Chemistry*. 299, 125109.