

TÜRKİYE CUNHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZIR KÖFTELERDE
YENİLEBİLİR FİLM AMBALAJLAMANIN
***Escherichia coli* O157: H7 ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL**
ETKİSİ

(DOKTORA TEZİ)

Gıda Yüksek Müh Enes KAVRUT

Danışman
Prof. Dr. Çiğdem SEZER

GIDA HİJYENİ VE ÜRETİMİ ANABİLİM DALI

KARS- 2022

TÜRKİYE CUNHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HAZIR KÖFTELERDE
YENİLEBİLİR FİLM AMBALAJLAMANIN
***Escherichia coli* O157: H7 ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL**
ETKİSİ

Gıda Yüksek Müh Enes KAVRUT
Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı
DOKTORA TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Çiğdem SEZER

Bu tez KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021-TS-49 proje numarası ile desteklenmiştir.

2022-KARS

ÖNSÖZ

Biyolojik değeri, içerdği temel bileşenlerden kaynaklanan besleyiciliği, gıda teknolojisinde sıkça tercih edilebilirliği, insan sağlığı için olumlu etkileri sayesinde peynir altı suyu oldukça kıymetli bir besindir. Böylesine değerli bir gıdanın atık olarak kullanılmadan insanoğlunun faydasına sunulması oldukça önemlidir.

Peynirciliğin bu kadar yaygın olduğu bölgelerde, sütçülük artışı olarak doğaya-kanalizasyona dökülen peynir altı suyunun ekonomiye kazandırılması için birçok çalışma yapılmakta olup günden güne de sayısı giderek artmaktadır. Bu çalışmada ise hem doğayı korumak hem gıda güvenliğine katkı sağlamak amacıyla temini kolay ve ucuz olan peynir altı suyu kullanılarak elde edilen antimikrobiyal etkili yenilebilir film materyallerinin plastik filmlere alternatif olarak tercih edilebilirliği araştırılmıştır.

Tezimin her aşamasında desteğini bir an bile esirgemeyen engin bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim, yol gösterici, yardımsever, bilimsel çalışma stilini öğreten akademik alanda rol model olan başta çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Çiğdem SEZER'e, çalışmalarım boyunca eksik malzemelerin giderilmesi noktasında sürekli yardım elini uzatan Sayın Prof. Dr. Özgür ÇELEBİ hocama, öğrenciliğim boyunca kendimi geliştirmem hususunda bana yardımcı olan Prof. Dr. Ufuk KAMBER, Prof. Dr. Nebahat BİLGE, Prof. Dr. Leyla VATANSEVER, Prof. Dr. Ömer ÇOBAN, Doç. Dr. Aksem AKSOY, Dr. Öğr. Üyesi Güven GÜLBAZ, Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ASLAN hocalarıma, yorucu iş temposu içerisinde bana değerli vaktini ayırarak yorulmadan sıkılmadan problemlerime çözüm arayarak laboratuvar aşamasında katkı sunan Arş. Gör. Gönül Damla ALTUNTAŞ ve Arş. Gör. Mesut Erdi IŞIK'a, tez çalışmam boyunca sürekli moral aşılayan Arş. Gör. Eray BÜYÜK'e, stresli ve zorlu tez aşamasında omuzlarımdaki yükü hafifleterek maddi-manevi destek veren, sürekli fedakarlık gösteren sevgili eşim Tuba KAVRUT'a, yanlarımda olmadığım için anlayış gösteren değerli anne ve babam İbrahim-Torun KAVRUT ve Nesim-Muazzez KORKMAZ'a, mesleki deneyimlerinden istifade ettiğim meslektaşlarım Uğur EKİNCİ, Serdar KARAKURT ve İsmail BOLAT'a, mesai arkadaşlarım Öğr. Gör. Hakan GÜNGÖR, Öğr. Gör. Deniz ALKAN, Öğr. Gör. Muharrem AĞAR, Öğr. Gör. Fatih ARSLAN, Öğr. Gör. Uğur PARLAK'a her dönem imkanlarından faydalandığım Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı ve

birimlerine, projemin yürütülmesinde sağladığı maddi destekten dolayı KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, laboratuvar çalışmam boyunca konaklama sorununun giderilmesinde yardımcı olan Uğurcan KARANFİL'e ve tezimde faydalandığım eser sahiplerine ayrı ayrı teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	III
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	IX
GRAFİKLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
ÖZET.....	XII
SUMMARY	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Yenilebilir Ambalajların Özellikleri	4
1.2. Yenilebilir Ambalajlamada Kullanılan Bariyerler.....	6
1.3. Yenilebilir Ambalaj Yapımında Kullanılan Katkı Maddeleri	8
1.4. Yenilebilir Ambalaj Üretim Metotları	18
1.5. Yenilebilir Ambalajların Gıdalara Uygulama Metotları	19
1.6. Protein Bazlı Film ve Kaplamalar.....	21
1.7. Yenilebilir Ambalajlarda Bitkisel Protein olarak Zein Kullanımı	22
1.8. Yenilebilir Ambalajlarda Hayvansal Protein olarak Peynir Altı Suyu Kullanımı	26
1.9. Yenilebilir Ambalajlama Teknolojisinde Karşılaşılan Sorunlar	33
2. MATERYAL ve METOT.....	37
2.1. MATERYAL.....	37
2.1.1. Kullanılan Bitkiler	37
2.1.2. Kıyma Örnekleri.....	37

2.1.3.	Yenilebilir Film Bileşenleri.....	37
2.1.4.	Referans Suş (<i>E. coli</i> O157: H7).....	37
2.1.5.	Laboratuvar Malzemeleri- Alet ve Ekipmanlar	37
2.2.	METOT.....	38
2.2.1.	Bitki Ekstraktı, Uçucu Yağı ve Çayının Hazırlanması.....	38
2.2.2.	Yenilebilir Film Solüsyonları Kombinasyonlarının Belirlenmesi ..	38
2.2.3.	Antimikrobiyal Etki Denemelerinde Kullanılan Filmlerin Hazırlanması	40
2.2.4.	Bakteri Aktif Kültürünün Hazırlanması	45
2.2.5.	Yenilebilir Film ve Katkıların (hibiskus/zein/kekik uçucu yağı) Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi	45
2.2.6.	Köfte Gruplarının Hazırlanması ve Film ile Paketleme.....	47
2.2.7.	Analizler	49
2.2.7.1.	Mikrobiyolojik Analizler	49
2.2.7.1.1.	Toplam Mezofil ve Psikrofil Aerob Canlı Sayısı.....	49
2.2.7.1.2.	Koliform ve Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı	49
2.2.7.1.3.	<i>Escherichia coli</i> O157: H7 Bakteri Sayımı	49
2.2.7.2.	Kimyasal Analizler	50
2.2.7.2.1.	Yağ tayini	50
2.2.7.2.2.	Tuz tayini.....	50
2.2.7.2.3.	pH değeri	50
2.2.7.2.4.	Kokuşma Testi (Eber).....	51
2.2.7.3.	Duyusal Analizler	51
2.2.7.4.	İstatistiksel Analizler	52
3.	BULGULAR	53
3.1.	Yenilebilir Film Deneme Sonuçlarına Ait Bulgular	53

3.2.	Yenilebilir Film ve Katkılarının Antimikrobiyal Etki Test Bulguları ..	57
3.3.	Raf Ömrü Denemeleri Analiz Bulguları	59
3.4.	Yağ ve Tuz Miktarına Ait Bulgular	67
3.5.	pH Değerine Ait Bulgular	68
3.6.	Kokuşma Test Sonuçlarına Ait Bulgular	70
3.7.	Duyusal Analiz Bulguları	71
4.	TARTIŞMA ve SONUÇ	72
5.	KAYNAKLAR.....	86
6.	ÖZGEÇMİŞ.....	103

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a/h	: Ağırlık/hacim
AMG	: Asetillenmiş monogliserit
a_w	: Su aktivitesi
cm	: Santimetre
cm²	: Santimetrekare
CO₂	: Karbondioksit
dk	: Dakika
g	: Gram
HÇ	: Hibiskus çayı
HE	: Hibiskus ekstraktı
HYF	: Hibiskus çayı ilaveli film
kg	: Kilogram
KN	: Kontrol negatif
kob	: Koloni oluşturan birim
KP	: Kontrol pozitif
KUY	: Kekik uçucu yağı
KYF	: Kekik uçucu yağı ilaveli film
log	: Logaritma
lt	: Litre
MAP	: Modifiye atmosfer paketlenme
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
N	: Normalite
nm	: Nanometre
O₂	: Oksijen
PAS	: Peynir altı suyu
PD	: Peroksit değeri
PSI	: Peynir altı suyu protein izolatu
PSK	: Peynir altı suyu konsantresi

PST	: Peynir altı suyu protein tozu
s	: Saniye
SYF	: Sade yenilebilir film
TBA	: Tiyobarbitürik asit
ZP	: Zein proteini
ZYF	: Zein ilaveli film



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1: Yenilebilir Film ve Kaplama Materyallerinin Uygulama Şeması.....	20
Şekil 2: Yenilebilir Film ve Kaplamaların Protein Orijinine Göre Sınıflandırılması	22
Şekil 3: Sade Film Solüsyonu	40
Şekil 4: Kekik Uçucu Yağı İlaveli Film Solüsyonu	41
Şekil 5: Hibiskus Çayı ve Hibiskus Alkol Ekstraktı İlaveli Film Solüsyonu	43
Şekil 6: Zein İlaveli Film Solüsyonu.....	44



RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 1: Sade Yenilebilir Film (SYF)	53
Resim 2: Kekik Uçucu Yağı İlaveli Filmler (KYF)	54
Resim 3: Hibiskus Çayı ve Ekstraktı İlaveli Filmler (a,b)	56
Resim 4: ZYF Kuruma Sürecinde Meydana Gelen Çatlamalar	57



GRAFİKLER DİZİNİ**Sayfa No**

Grafik 1: Köftelerde Depolama Süresince Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g)	61
Grafik 2: Köftelerde Depolama Süresince Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g)	62
Grafik 3: Köftelerde Depolama Süresince <i>E. coli</i> O157: H7 Sayısı (log kob/g)	64
Grafik 4: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Mezofilik Bakteri Sayısı (log kob/g)	65
Grafik 5: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Psikrofil Bakterileri Sayısı (log kob/g)	67
Grafik 6: Köftelerde Depolama Süresince pH Değerleri.....	70

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Türkiye’de Peynir Altı Suyu Tozu Üretim Miktarları	27
Tablo 2: Kars’ta Üretilen Peynir Altı Suyunun Mevsimsel Dağılımı.....	28
Tablo 3: Deneme Konsantrasyonlarının Belirlenmesinde Kullanılan Gruplar ve Özellikleri.....	46
Tablo 4: Çalışmada Kullanılan Kontrol ve Deneme Grupları.....	48
Tablo 5: Duyusal Analiz Değerlendirme Kriterleri	52
Tablo 6: Yenilebilir Film Gruplarına Ait Parametreler	57
Tablo 7: Yenilebilir Filmlere Ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri...	58
Tablo 8: Köftelerde Depolama Süresince Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss).....	60
Tablo 9: Köftelerde Depolama Süresince Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)	61
Tablo 10: Köftelerde Depolama Süresince <i>E. coli</i> O157: H7 Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)63	63
Tablo 11: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss).....	65
Tablo 12: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Psikrofil Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)	66
Tablo 13: Köfte Hamurunu Yağ ve Tuz Analiz Sonuçları.....	67
Tablo 14: Köftelerde Depolama Süresince pH Değerleri	68
Tablo 15: Yenilebilir Film ve Kontrol Gruplarına Ait Kokuşma test (Eber) sonuçları	70
Tablo 16: Duyusal Analizlere Göre Gruplarda Kokuşma Test Sonuçları.....	71

ÖZET**Hazır Köftelerde Yenilebilir Film Ambalajlamanın *Escherichia coli* O157: H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi**

Bu çalışmada piyasada sıkça kullanılan plastik filmlere alternatif olarak kullanılabilecek hem antimikrobiyal etkili hem de yenilebilir özellikte film üretimi amaçlanmıştır. Film yapımında sütçülük alanında önemli bir yan ürün olan peynir altı suyu protein izolatının, ilave bileşenler ile (zein, gliserol, kekik uçucu yağı, hibiskus çayı ve hibiskus ekstraktı) formülize edilerek yenilebilir doğal ambalaj materyali (film) yapımında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Filmlerin *Escherichia coli* O157: H7 üzerine antimikrobiyal etkileri test edilmiş ve plastik filmler ile yenilebilir filmlerin köfte raf ömrü üzerine etkisi incelenmiştir. Hazırlanan hamburger köftelerin depolamanın 0., 3., 5., 7., 10. ve 12. günlerinde duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Hazırlanan tüm yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, kekik gruplarının kontrol grubuna göre köfte raf ömrünü 7 gün uzattığı, diğer film gruplarının ise yine kontrol grubuna göre 5 gün daha uzun raf ömrü sağladığı tespit edilmiştir. Özellikle kekik ilaveli grupların *Escherichia coli* O157: H7'ye karşı 2 logaritma (10^2), diğer grupların ise 1 logaritma oranında yıkımlama yaptığı görülmüştür. Bütün doğal filmlerin (zein %1 suda hariç) depolama günleri boyunca fiziksel yapısını bozulmadan koruduğu, köfteye istenmeyen özellik katmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Escherichia coli* O157: H7, hibiskus, kekik, köfte, peynir altı suyu, yenilebilir film.

SUMMARY

The Antimicrobial Effect of Edible Film Packaging on *Escherichia coli* O157: H7 in Instant Meatballs

In this study, it is aimed to produce both antimicrobial and edible films that can be used as an alternative to plastic films that are frequently used in the market. The usability of whey protein isolate, which is an important side product in the field of dairying, in the production of edible natural packaging material (film) by formulating with additional components (zein, glycerol, thyme essential oil, hibiscus tea and hibiscus extract) was investigated. The antimicrobial effects of the films on *Escherichia coli* O157: H7 were tested, and the effects of plastic films and edible films on the shelf life of meatballs were investigated. Sensory, chemical and microbiological analyzes of the prepared hamburger meatballs were performed on the 0th, 3rd, 5th, 7th, 10th and 12th days of storage. It was determined that all the edible films prepared had an antimicrobial effect, the thyme groups extended the shelf life of meatballs by 7 days compared to the control group, and the other film groups provided a 5 days longer shelf life, again, compared to the control group. It was observed that especially the thyme-added groups degraded *Escherichia coli* O157: H7 at a rate of 2 logarithms (10^2) and the other groups at a rate of 1 logarithm. It has been determined that all natural films (except for zein 1% water) preserve their physical structure during the storage days and do not add any undesirable quality to the meatballs.

Key Words: *Escherichia coli* O157: H7, hibiscus, thyme, meatballs, whey, edible film

1. GİRİŞ

Gıdalar, bulundukları ortamdan kimyasal, fiziksel veya mikrobiyolojik olarak hızla etkileşime girerek insan sağlığı için risk oluşturabilmektedir. Güvenli gıda üretimi ve muhafazasında gıdaların ambalajlanmaları büyük önem teşkil etmektedir. Gıdayı dış etkenlere karşı muhafaza eden, pazarlama ve tüketmede kolaylık sağlayan plastik, kâğıt, cam gibi materyallerden üretilen kılıf, sargı veya kaplar gıda ambalajı olarak tanımlanır. Ambalajlama, insan sağlığını korumanın dışında, ürünlerin bulundukları yerden başka bir yere taşınması, depolarda uzun süre muhafaza edilmesi, pazarlanması ve tüketilmesi için de gereklidir. Ambalaj materyali ile çevre arasında önemli derecede bir ilişki söz konusudur. Çünkü ambalajlama sebebiyle doğal kaynaklar bilinçsizce tüketilmekte, ambalaj atıkları çevreye saçılarak doğaya zarar vermekte, insanlara fazladan iş yükü getirmekte, bununla birlikte bol miktarda enerji israf edilmektedir (Keleş 2002).

Endüstriyel ürünlerin uzun raf ömrüne sahip, lezzetli, taze ve kaliteli olabilmesi ayrıca tüketicilerin isteklerine cevap verebilmesi için yeni gıda paketleme teknolojileri geliştirilmektedir. Bunun yanında toptan-perakendecilik anlayışının değişmesi (daha geniş dağıtım ağı), insanların yaşam biçiminin farklılaşması (az vakit harcayarak taze gıda ve pişmiş gıda tüketme) gibi sebepler gıda ambalajlama sanayini büyük değişikliğe sürüklemiştir (Dainelli ve ark. 2008). Bu teknolojiler; akıllı, aktif, interaktif, fonksiyonel vb. gibi değişik şekillerde tanımlanmıştır (Dainelli ve ark. 2008, Kerry ve Butler 2008).

Son dönemde sağlık, gıda güvenliği ve çevresel problemler gibi konulara önem veren tüketicilerin, yenilebilir ambalaja olan ilgisi artmaktadır. Çevresel atıkların yok edilmesi gelecek dönemlerde büyük maddi sorunlar oluşturabileceğinden yenilebilir ambalajların sentetiklere göre geri dönüşümde kullanılabilirliği oldukça ilgi çekicidir (Kayaardı ve Akkara 2010).

Gıda ambalajlama materyali olarak kullanılan, gıdanın kendisiyle birlikte tüketilebilen bunun yanında nem, yağ ve buhar geçirgenliğinde bir bariyer görevi görerek ürün raf ömrünün uzamasına yardımcı olan materyallerin kullanıldığı ambalajlama metodu “**Yenilebilir Ambalaj**” olarak tanımlanmaktadır (Yang 1994, Pavlath ve Orts 2009).

Yenilebilir ambalajlar, gıda ile ortam (çevre) arasında bulunan ince katmanlar olup, günümüzün modern popüler gıda koruma sistemleri arasında yer almaktadır (Debeaufort ve ark. 1998, Siracusa ve ark. 2008). Doğal biyobozunur kaynaklardan elde edilen yenilebilir ambalajlar (film + kaplamalar) hem tüketici dostu hem de çevre dostu niteliklerinden dolayı son zamanlarda yoğun ilgi görmekte ve sıkça tercih edilmektedir (Tharanathan 2003).

Yenilebilir ambalajlar; gıda ambalajlama materyali olarak kullanılan, gıdanın kendisiyle birlikte yenilebilmesinin, nem, yağ ve buhar geçirgenliğinde bariyer görevi üstlenmesinin ve gıda kalite kusurlarının (fiziksel, kimyasal, duyuşsal) giderilmesinin yanı sıra (Yang 1994, Pavlath ve Orts 2009), antioksidan ve antimikrobiyal bileşenlerle birlikte kullanılarak gıdalarda istenmeyen renk değişimlerini, mikrobiyal orjinli kontaminasyonları da engelleyebilmektedir (Umaraw ve Verma 2017).

Yenilebilir ambalaj materyali dört farklı başlık altında değerlendirilebilir. Bunlar: filmler, kaplamalar, tabakalar ve torbalardır (Krochta ve De Mulder-Johnston 1997). Ayrıca yumuşak ve sert jel kapsüller, mikro kapsüller ve tablet kaplamalar da yenilebilir ambalaj materyalleri arasında değerlendirilmektedir (Janjarasskul ve Krochta 2010).

Tüm gıda ürünlerinin bir parçası olarak yenilebilen ince malzeme katmanları “**Yenilebilir film**” olarak tanımlanmaktadır (Gontard ve Guilbert 1994). Filmler, gıda üzerinde kendiliğinden duran bir malzeme olarak kullanılan ve uygulanan kurutulmuş film oluşturma çözeltisidir (Robertson 2012). Yenilebilir filmler, yenilebilir kaplamalara göre daha kısa bir geçmişe sahiptir. Örneğin; yuba (soya sütü), on beşinci yüzyıldan beri geleneksel olarak Asya ülkelerinde etlerde ve sebzelerde gıdaların görünüşünü ve muhafazasını geliştirmek için film malzemesi olarak kullanılmıştır (Wu ve Bates 1972).

Yenilebilir gıda kaplamaları doğrudan gıdanın yüzeyini saran ince bir örtüdür (Krochta ve De Mulder-Johnston 1997). Kaplama, film oluşturma çözeltisinin doğrudan gıdaya (daldırma, püskürtme, dökme vb.) uygulanması ve istenen işlevi gerçekleştirmek için ince bir film oluşturarak gıda yüzeyinde kurumasıyla oluşabilmektedir (Robertson 2012). Meyve sebze yüzeyinde bulunan doğal mumlar, aşırı terlemeye (su kaybı) karşı koruma görevi görmektedir (Woods 1990). Taze

narenciye meyvelerinin temizlenmesinde, yıkamayla bu nem bariyeri görevini kaybeder. Aşırı nem kaybını önlemek için kaplama ilk olarak bu üründe denenmiştir. (Baldwin 1994). Daha sonra çilekli çikolatalar, şekerler, kekler kaplanmıştır. Kaplamayla ürünlerdeki su kaybı minimize edilmiş, ürünlerin oksijen (O₂) ile teması kesilmiştir. Böylece ransidite engellenerek tat ve lezzet artırılmıştır (Cosler 1957).

Yenilebilir kaplama materyali doğrudan gıda üzerine uygulanırken, filmler ise ayrı ayrı oluşturulduktan sonra uygulanan materyallerdir. Yenilebilir film ve kaplamalar uygulandığı ürünün bölmeleri arasında mükemmel katlı bir yapı oluşturabilirler (Gontard ve Guilbert 1994). Başka bir ifadeyle; yenilebilir kaplamalar daldırma, püskürtme veya dökme yoluyla yiyeceklere sıvı halde uygulanırken, filmler ise sert katı tabakalar halinde önceden hazırlanır daha sonra gıda bileşenleri üzerine ya da arasına uygulanmaktadır (McHugh 2000). Yenilebilir film ve kaplamaların bileşimleri kullanılacak gıdanın özelliklerine uygun olmalıdır (Gontard ve Guilbert 1994). Bu materyaller yiyeceklerden ayrı olarak oluşturulur ve daha sonra gıda bileşenleri üzerine veya arasına yerleştirilir (Krochta ve De Mulder-Johnston 1997).

Yenilebilir ambalajların üretilmesinde protein (peynir altı suyu, kazein, zein, soya, vb.), polisakkarit (selüloz, nişasta, kitosan, gam vb.) ve lipit (vaks, mum, vb.) gibi gıda bileşenlerinden yararlanılmaktadır (Dursun ve Erkan 2009, Kalkan 2014, Bolivar-Monsalve ve ark. 2019). Polisakkarit orjinli yenilebilir ambalajlar; renksiz ve yağsız olup düşük kaloriye sahiptir. Dehidrasyon sonucu, oksidatif acılaşmayı ve kararmayı engelleyerek et, meyve, sebze ve deniz ürünlerinin raf ömrünü uzatmaktadır (Carneiro-da-Cunha ve ark. 2009). Protein orjinli yenilebilir ambalajlar; karbondioksit (CO₂) ve O₂ gibi gazlar için bariyer görevi üstlenir (Park ve ark. 1994a). Bu ambalajlar; üretim tekniğine, modifikasyon işlemlerine ve formülasyona göre yenilir veya parçalanır. Üretim esnasında ortama yenilmeyen maddelerin ilave edilmesi ambalajların yenilebilir özelliklerini yitirmesine neden olmaktadır (Temiz ve Yeşilsu 2006). Lipit orjinli yenilebilir ambalajlar; düşük su buharı geçirgenliği göstermelerinden dolayı sıkça tercih edilebilmektedir (Morillon ve ark. 2002). Bu özelliklerinden dolayı özellikle beyaz ve kırmızı etleri muhafaza etmek için kullanılırlar (Dursun ve Erkan 2009).

Yenilebilir ambalajlar, gıdalarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır, kümes hayvanları, et, deniz ürünleri, tahıllar, dondurulmuş, taze ve işlenmiş gıdalarda sıkça tercih edilmektedir. Ambalaj seçiminde, özellikle gıdanın karakteristik özellikleri (depolama, muhafaza koşulları vb.) dikkate alınmaktadır (Debeaufort ve ark. 1998). Yenilebilir film ve kaplamalar, uzun süre dondurulmuş etlerin taze kalmasını sağlarken; soya ile gluten proteinleri ve karregenandan üretilen yenilebilir film-kaplamalar ise köftelerde nem bariyeri olarak kullanılmıştır (Wu ve ark. 2001). Mumlar; portakal, greyfurt, limon, karpuz, elma, mango, kiraz, muz, üzüm gibi meyveler ile salatalık, domates, biber, bal kabağı, patlıcan, turp, patates gibi sebzelerde kaplama materyali olarak kullanılabilir. Böylece gıdaların O₂ ile teması kesilerek, olgunlaşma süresi kontrol altına alınmış olur (Debeaufort ve ark. 1998).

1.1. Yenilebilir Ambalajların Özellikleri

Yenilebilir ambalajlar oldukça ilgi gören ve hızla gelişen bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Çünkü sentetik film ve kaplamalara göre birçok avantajı vardır. Bunların başında ambalajlanmış ürünün kendisi ile birlikte tüketilmesi gelmektedir. Ayrıca; film ve kaplamalar tüketilmediği durumlarda çevreye zarar vermemektedir. Ürünleri saran bu filmler, yine yenilebilir bileşenlerden üretilir. İçerdikleri renklendiriciler ve tatlandırıcılar ile birlikte yenilebilir ambalajlar gıdaların birçok özelliğine katkıda bulunduğu gibi, tek tek ambalajlanması zor olan küçük porsiyonluk gıdaların (findık vb.) ambalajlanmasına da imkân vermektedir (Bourtoom 2008). Ayrıca; ambalaj materyalinin tüketilmediği durumlarda ise, biyobozunur özellikleri sayesinde kolayca parçalanmaktadırlar. Biyobozunur özellikli ambalajlar; mikroorganizmaların enzimatik reaksiyonları sonucu parçalanarak su, CO₂ gibi doğal yapılara dönüşür (Gross ve Kalra 2002). Bu materyaller, protein, nişasta, selüloz gibi maddelerden üretildikleri için, toksik etki göstermez ve doğada kolaylıkla parçalanabilir (Kılınç ve ark. 2017). Yenilebilir ambalaj materyalleri gıdada nem kaybını önlemeye yardımcı olur, gıdanın besin değerini arttırır ve fiziksel darbelerle karşı koruyucu görev üstlenirler. Yenilebilir ambalajlar, üretimine dahil edilen katkı maddeleriyle ambalajlanacak ürünün organoleptik yönlerini geliştirmektedirler (Kayaardı ve ark. 2016). Yenilebilir ambalaj üretiminde çeşitli aktif bileşenler (antimikrobiyaller, antioksidanlar; bitki ekstraktları, yağları ve çayları vb.) tercih edilmektedir. Bu bileşenler yapay olarak elde edilebildiği gibi doğal ürünlerden de

üretilmektedir. Kullanılan materyaller ile gıdalarda meydana gelebilecek mikrobiyal gelişim kontrol altına alınarak, ürünlerin raf ömrü arttırılmaktadır. Bununla birlikte, proses süresince, elle işlem gören kıyma, köfte gibi ürünlerdeki muhtemel hijyen noksanlıkları giderilerek doğabilecek halk sağlığı riskleri minimize edilebilmektedir (Gennadios ve ark. 1994, Appendini ve Hotchkiss 2002, Cha ve Chinnan 2004, Ayana ve Turhan 2010).

Yenilebilir ambalajların dezavantajları ise; uygulamada kullanılacak materyallerin sayısının azlığı, tüketiciler tarafından bilinirliğinin düşük olması, uygulamada kullanılacak materyallerin maliyetli olması, yenilebilir özelliğinden dolayı ikinci bir ambalaja gerek duyulması, bazı antioksidan ilavelerinin kanserojen riski taşıması (Kayaardı ve ark. 2016), sentetik materyallere göre zayıf mukavemet göstermesi, madde geçiş performansının düşük olması nedeniyle ürün yelpazesinin sınırlı olmasından ileri gelmektedir (Baldwin 1994).

İdeal yenilebilir ambalajların sahip olması gereken özellikler şunlardır (Debeaufort ve ark. 1998, Pavlath ve Orts 2009):

- ✓ Toksik ve alerjik olmamalıdır.
- ✓ Sindirilmeyen bileşenler içermemelidir.
- ✓ Taşıma ve teşhir sırasında yapısal ve mekanik stabilitesini korumalıdır.
- ✓ Korunacak yiyecekleri düzgün bir şekilde örtmelidir.
- ✓ Gıdanın raf ömrünü korumak için ürün içi ile dışındaki su geçişini ve nem içeriğini kontrol altında tutabilmelidir.
- ✓ Aroma, renk gibi özellikler bakımından besinleri korumalıdır.
- ✓ Gıdanın tüketici tercihi için gerekli olan organoleptik özelliklerini iyileştirmelidir.
- ✓ Haşere, kirlilik, mikrobiyal bozulma ve biyokimyasal değişkenlere karşı set olmalıdır.
- ✓ Duyusal nitelikler bakımından ürüne istenmeyen renk, tat, koku gibi etkilerde bulunmamalıdır.
- ✓ Fiziksel, kimyasal, mikrobiyal ve biyokimyasal özellikler açısından kararlı olmalıdır.

1.2. Yenilebilir Ambalajlamada Kullanılan Bariyerler

Gaz Bariyeri: Ortam gaz geçişine müsaade eden geçirgenlik; (Pascat 1986) paketlenme materyallerini seçmek ve düzenlemek için çok önemli bir parametredir. Gıda bozulmalarının çoğu; lipidlerin ve besin bileşenlerinin oksidasyonu, taze kesilmiş ürünlerin enzimatik esmerleşme reaksiyonları ve ette renk bozulması gibi durumlardan kaynaklanmaktadır (Janjarasskul ve Krochta 2010). Oksitlenme sonucu besinsel açıdan zarar görebilecek gıdalar oksijen geçirgenliğine izin vermeyen veya geçirgenliği çok düşük seviyelerde olan yenilebilir film ve kaplama materyalleri ile kaplanabilmektedir. Bunun dışında taze meyve ve sebzelerin kaplanması az da olsa gaz geçirgenliği olan materyaller tercih edilmektedir (Kader ve ark. 1989).

Yenilebilir filmler, çok çeşitli O₂ bariyer değerlerine sahiptir. Özellikle hidrokolloid bazlı filmler (protein, polisakkaritler), düşük bağıl nem ortamında önemli gaz bariyer performansı sergiler. Yüksek bağıl nemde hidrokolloid orjinli filmler, ortamdaki nemi absorbe ederek bariyer etkisi gösterir (Janjarasskul ve Krochta 2010).

Aroma Bariyeri: Uçucu organik bileşiklerin önündeki bariyerler, uçucu koku bileşenleri ve aroma kayıplarını önlemede çok büyük öneme sahiptir. Bu durumda yenilebilir ambalajın optimize edilmesi gerekir. Optimizasyon işlemi polimer matrisinde düşük bir yayılma olmasıyla gerçekleşmektedir (Janjarasskul ve Krochta 2010). Protein ve polisakkarit orjinli yenilebilir filmlerin hidrofilikliği, onların non-polar aroma bileşiklerine karşı mükemmel bariyer görevi üstlenmesine yardımcı olmaktadır. Protein ve karbonhidrat emülsiyonu bazlı filmler için koku ve aroma kapsüllenmesi önerilmektedir (Fabra ve ark. 2009). Bunun amacı ise; hidrofobik karakterli organik aroma bileşiğini polar olmayan bir lipid dağılmış fazda korumaktır. Hidrofilik polimerden yapılmış matris, aroma kaybına ve oksidasyona neden olur (Janjarasskul ve Krochta 2010).

Yağ Bariyeri: Yenilebilir ambalaj, lipid içerikli bir ürüne yağ direnci sağlayabildiği (Krochta 2002) gibi, proses sırasında (kızartma) gıdaların yağ emilimini de azaltmaktadır (Holownia ve ark. 2000). Özellikle protein orjinli (zein, peynir altı suyu proteini) yenilebilir ambalajların yağ direnci performansı oldukça yüksektir (Trezza ve Vergano 1994, De Mulder-Johnston 1999).

Nem Bariyeri: Gıda ürünleri ile atmosfer arasındaki nem geçişini engellemek için yenilebilir ambalajlar kullanılmaktadır. Paketlenmiş tüketime hazır gıdaların su aktivitesindeki değişiklikler; istenmeyen mikrobiyal gelişme ile dokusal değişikliklere, bozucu enzimatik ve kimyasal reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Hidrokolloid bazlı yenilebilir ambalajlar (metil selüloz, pektin vb.) lipid orjinli yenilebilir ambalajlara (mumlar vb.) göre yüksek su buharı geçirgenliğine sahiptir. Bağlı nemin yüksek olduğu ortamlarda; hidrofilik karakterli filmlerin, su buharı geçirgenliği daha da artmaktadır. Bu nedenle bu yapıdaki yenilebilir filmler nem miktarı yüksek olan gıdalarda nem değişimine karşı koruyucu bariyer olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte lipidler ve hidrofobik yapıya sahip bileşikler ise; düşük su istekleri sayesinde, hidrokolloid orjinli yenilebilir ambalajların nem bariyer özelliklerini geliştirmek için tercih edilmektedir (Janjarasskul ve Krochta 2010).

Mekanik Özellikler: Yenilebilir filmleri mekanik açıdan karakterize edebilmek için birçok faktör değerlendirilmektedir. Bunlar; çekme dayanımı (filmlerin kalıcı olarak şekil değiştirdiği noktadaki gerilmesi), uzayabilirliği (filmin kırılmadan maksimum düzeyde hareket yeteneği), ve elastikiyettir. Protein orjinli yenilebilir filmlerin birçoğunun çekme dayanımı ile uzayabilirliği polisakkarit ve sentetik polimer filmlerden daha düşüktür. Ortama ilave edilen plastikleştirici seviyesi yenilebilir filmlerin çekme dayanımı ile elastikiyetini azaltırken, uzama derecesini arttırmaktadır. Bu bağlamda; protein bazlı yenilebilir ambalajlar, kılıflar, torbalar ve kaplamalar tercih edilebilmektedir (Krochta 2002).

Çözünürlük: Yenilebilir film ve kaplama materyallerinin çözünürlüğü kullanım amacına göre önemli bir değişkenlik göstermektedir. Bazı durumlarda su içerisinde kolaylıkla çözünür olması tercih edilirken, bazı durumlarda ise; bir miktar su direnci sağlamak ve gıda bütünlüğünü arttırmak için su ortamında çözünmeyen bir film ve kaplama materyali tercih edilebilir. Mısır zeini ve buğday gluteni gibi bitkisel proteinlerden suda çözünmeyen yenilebilir filmler oluşturulabilir. Suda çözünen protein bazlı filmlerden ise, işlem koşullarına bağlı olarak değişen çözünürlükte filmler üretilir (Perez-Gago ve ark. 1999).

Duyusal Özellikler: Yenilebilir film ve kaplamalar, gıdanın renk, parlaklık, şeffaflık, pürüzsüzlük ve yapışkanlık gibi duyu kalitesini geliştirebilir (Debeaufort

ve ark. 1998). Gıdaların tat, koku, yapışkanlık gibi özellikleri yenilebilir film ve kaplamalar ile hem modifiye edilebilir hem de gizlenebilir. Örneğin, peynir altı suyu proteini kaplaması zein, hidroksimetilselüloz veya dekstrin kaplamalar ile benzer parlaklık etkisine sahiptir (Trezza ve Krochta 2000). Yenilebilir ambalajlar, gıdayla birlikte rahatlıkla tüketilebilmeli ve tüketim sırasında yiyeceklerle benzer duyuşsal özelliklere sahip olabilmelidir (Janjarasskul ve Krochta 2010).

1.3. Yenilebilir Ambalaj Yapımında Kullanılan Katkı Maddeleri

Yenilebilir filmlerin sahip olduğu özellikler (su buharı ve gaz bariyeri; su veya lipit içerisinde çözünme, renk, şeffaflık, mekaniklik vb.) kullanıldığđ malzemenin türüne, oluşumuna ve uygulama tekniğine göre değışkenlik göstermektedir. Bunun yanında filmlerin özelliklerini arttırmak için dışardan farklı bileşenler ilave edilebilir. Bunlar; kırılğanlığını gidermek için plastikleştiriciler, çapraz bağlama ajanları, mikrobiyal açıdan antimikrobiyal maddeler, fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için antioksidan maddeler, renk ve aroma vermek için çeşitli katkı maddeleri olarak ifade edilebilir (Guilbert ve ark. 1995, Mkandawire ve Aryee 2018).

Plastikleştiriciler: Yenilebilir film üretiminde ortama dahil edilen plastikleştiriciler; polimerler ile büyük ölçüde uyumlu olan, düşük molekül ağırlığına ve yüksek kaynama noktasına sahip küçük moleküllerdir. Paketleme uygulamalarında çok önemli olan plastikleştiriciler; yenilebilir filmin esnekliğini arttırarak kırılğanlığını azaltmaktadır (Lieberman ve Gilbert 2007).

Protein orjinli yenilebilir ambalajlar; yapısında hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler, disülfid çapraz bağlanma ve hidrofobik bağlanma gibi özellikleri taşımasından dolayı sert ve kırılğan bir yapıya sahiptir. Küçük molekül ağırlıklı hidrofilik plastikleştiriciler ortama ilave edilerek, hidrojen bağlamada görev alırlar. Bunun neticesinde protein zincir etkileşiminde azalma meydana gelerek, protein geçiş sıcaklıklarının düşmesine ve yenilebilir filmin esnemesine katkı sağlar. Bunun yanında filmin, sertliği azalırken uzaması artar. Plastikleştiriciler; yenilebilir filmlerin nem, oksijen, aroma ve yağlara karşı bariyer görevi görmesini de azaltır. Yaygın olarak kullanılan plastikleştirici ajanlar: sorbitol, gliserol, mannitol, sukroz, polietilen glikol ve sudur. Su, protein filmleri için önemli bir plastikleştirici görevi üstlenir. Ortam bağılı nemi film özelliklerini büyük ölçüde değıştirir. Gliserol gibi hidrofilik plastikleştirici

ajanlar ortamdaki fazla nemi de çekerek filmlerin yapısını etkilemektedir (Krochta 2002).

Antimikrobiyal Maddeler: Meyve ve sebzeler, et ve et ürünleri ile süt ve süt ürünleri gibi yüksek su içerikli gıdalar çok hızlı bozulan ürünlerin başında gelmektedir. İşletmelerde hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmaması, birçok patojen ve saprofit mikroorganizmayı beraberinde getirecek bununla da kalmayıp gıdanın bozulmasına ve tüketilmesi sonucunda insan sağlığının bozulmasına, gıda kaynaklı salgınların yaşanmasına hatta ölümlere neden olacaktır (Ayana ve Turhan 2010). Sağlıklı hayvanlardan elde edilen taze etlerin sağlıklı olduğu bilinmektedir. Fakat etlerin işlenmesi, farklı ürünlere dönüştürülmesi sürecinde birçok kontaminasyon kaynağı ortaya çıkabilir. Özellikle etin kıymaya dönüştürülmesinde kontaminasyon oldukça yüksek düzeyde olabilmektedir (Lechowic 1971). Kıyma; çeşitli hayvan karkaslarına (büyükbaş, küçükbaş, kanatlı) ait taze etin çeşitli işlemlerden geçirilerek (makine, vb.) küçük parçalara ayrılması ile elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır (TGK 2019). Etlerin kıyma haline dönüşmesi sırasında, ürün mikrobiyal açıdan savunmasız kalmaktadır. Proses sürecinde ortam, personel, alet ve ekipman gibi unsurların hijyen ve sanitasyonu da ayrı bir önem taşımaktadır. Çapraz kontaminasyon bu zaman diliminde daha da artmaktadır (Al-delaimy ve Stiles 1975, Atasever ve Atasever 2015). Kıyma, birçok ürünün ana bileşeni olmasından (köfte, hamburger, vb.) dolayı elde edilecek yeni gıdaların (köfte, vb.) mikrobiyal kalitesinden de sorumludur (Yıldız ve ark. 2004). ABD başta olmak üzere nüfus yoğunluğu olan ülkelerdeki et ve et ürünleri (kıyma, köfte, vb.) tüketiminin ve ithalatının fazlalığı bu bölgelerde salgın, hastalık vb. problemlerin artış hızının yükselmesine neden olmuştur (PRAC 2002).

Ebel ve ark. (2004), 1980-2000 yıllarını kapsayan dönem içerisinde yaptığı araştırmaya göre *Escherichia coli* O157: H7'nin sorumlu olduğu hastalıklar ve salgınların sırasıyla %33 ve %25'lik kısımlarının ana sebebinin kıyma olduğunu ifade etmişlerdir. Gıda kaynaklı patojenlerden biri olan *E. coli* O157: H7'nin kıyma ve benzeri ürünlerdeki tespiti üzerine yapılan çalışmalar bakterinin gıda kaynaklı zehirlenmelerde önemli bir etken olarak üst sıralarda yer aldığını göstermektedir. Baş ve Merdol (2002), Ankara da tüketilen hamburgerler köftelerde *E. coli* O157: H7 kontaminasyonu üzerine yaptığı çalışmada; ayak üstü tüketim (fast-food) hizmeti veren işletmelerden 80 adet çiğ köfte numunesini incelemiştir. Toplam 17 adet örnekte

E. coli O157: H7 suşu tespit edilmiştir. Bakteri tespit edilen numunelerin üretildiği tesislerde hijyen ve sanitasyonun asgari düzeyde olduğu ifade edilmiştir. Sezgin ve Kök (2015), Aydın’da sıklıkla tercih edilen hazır kıyma ve köftelerde halk sağlığı için potansiyel bir tehlike oluşturan *E. coli* O157: H7 patojeninin varlığını araştırmışlardır. Yerel kasap ve marketten alınarak değerlendirilen 80 adet (30 adet köfte, 50 adet kıyma) numunenin 10 adedinde (4 adet kıyma ve 6 adet köfte) *E. coli* O157: H7 varlığını tespit etmişlerdir.

Konya’da kasap ve marketlerden alınan et ve et ürünlerinden (pastırma, kıyma, salam, sosis, köfte çeşitleri, kanatlı et) özellikle *E. coli* yönünden kıymanın diğer ürünler ile kıyaslandığında risk düzeyin yüksek olduğu görülmüştür. İncelenen 23 adet hamburger köftesinin 1 tanesi ile 27 adet kıymanın 2 tanesinde *E. coli* O157: H7 tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda ürünlerin (kıyma, köfte) üretim bölümlerinin yetersiz denetlendiği, hijyen ve sanitasyon noktalarının zayıf olduğu belirtilmiştir (Balpetek 2009). Erzurum ilinde kasap, şarküteri ve market gibi satış noktalarından toplanan 100 adet kıymada, insan sağlığını önemli seviyede etkileyen bazı patojenler araştırılmıştır. Yapılan analizler neticesinde şarküteriden alınan sığır kıymalarında *E. coli* O157: H7 bulunmazken, market ve kasaptan toplanan 3 adet kıymada *E. coli* O157: H7 patojeni tespit edilmiştir. Mikrobiyal açıdan sağlıklı ürün eldesi ve tüketimi için denetimlerin azami düzeyde sıklaştırılması ve çiğ ürünlerin yeterli ısı ve sürede pişirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Atasever ve Atasever 2015). Farajzadeh Sheikh ve ark. (2013), hamburger köftelerine uygulanacak pişirme ısılarının yeterli seviyede olmasının ve üretim ortamında hijyen ve sanitasyon standartlarına uyulmasının azami düzeyde gerekliliğini belirtmişlerdir.

Patojen mikroorganizma yönünden ürünlerin tedarik edildiği noktalarda gıda güvenliği prensiplerinin ihmal edilmemesi gerektiği aşıkardır. Özellikle toplu tüketim alanlarında kontaminasyon kaynaklarının yok edilmemesi, zayıf hijyen şartları ciddi gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (Vial ve ark. 2019). Yapılan çalışmalarda ortaya konan ve günden güne artış gösterebilen bütün bu problemler hem üreticiyi hem de tüketiciyi olumsuz etkilemektedir. Gıdalarda istenmeyen bu olumsuzlukları giderebilmek ve mikrobiyal faaliyetleri asgari seviyeye indirebilmek için gıdaların antimikrobiyal madde ilaveli yenilebilir filmler ile ambalajlanması/kaplanması oldukça ümit vaat etmektedir (Ayana ve Turhan 2010).

Gıda bozulmalarında etkili patojen mikroorganizmaların çoğalmasını yavaşlatan veya durduran antimikrobiyal maddeler, ortama ilave edilerek gıdaların raf ömrünü uzatarak daha stabil hale gelmesinde aktif rol oynamaktadır. Gıdaların besleyici değerlerinin korunmasında antimikrobiyal paketleme sistemi önemli bir faktördür. Antimikrobiyal etki, paketleme aşamasında antimikrobiyal ajanların eklenmesi veya serbest kalması ve absorpsiyon gibi değişik metotlarla gerçekleştirilebilir. İlave edilen ajanlar çözünabilir özellikte katı, sıvı veya gaz olabilir. Tüketilecek gıdalar için kullanılan antimikrobiyal kimyasal maddeler, başta organik asitler ve tuzları olmak üzere alkoller, gazlar, doğal özütler, enzimler, ozon, lizozim ve nisin olarak sıralanabilirler (Han 2000).

Doğal koruyucu maddelerden; kekik, anason, karanfil, maydanoz, biberiye, adaçayı, rezene, sarımsak, tarçın, hibiskus vb. uçucu aromatik yağlar ve bitki çayları kullanıldıkları gıdalarda lezzet arttırıcı, renklendirici, iştah açıcı olarak kullanılabildiği gibi mikrobiyal açıdan da bakteri, maya ve küflerin çoğunu inhibe ederek, gıdaların raf ömrünü uzatabilmektedir (Shelef 1984, Cagri ve ark. 2002).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve çayların antimikrobiyal etkinliği; öncelikle hedef mikroorganizmanın türü, hangi bitkinin kullanılacağı ve elde edilecek doğal antimikrobiyalın etkin konsantrasyonu, hangi gıdaya uygulanacağı, gıdanın muhafaza koşullarının ne olduğu gibi birçok parametreye göre değişmekte ve farklı yöntemlerle değerlendirilmektedir (Ríos ve Recio 2005). Son dönemlerde sentetik orjinli doğal olmayan antimikrobiyal maddelerin yan etkilerinin fazla olmasından dolayı doğal bitkisel bileşenlere ilgi artsa da bu kaynakların da yan etkilerinin olabildiği, toksik ve alerjik reaksiyon gösterebileceği unutulmamalıdır (Schelz ve ark. 2006).

Bitkisel antimikrobiyallerin özellikleri, kendi yapılarında bulunan terpenoid, timol, karvakrol, eugenol, sineol, allisin vb. gibi fenolik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bitki ekstraktlarının olası yan etkilerini engellemek için uygun ve etkili olan dozun kullanımının tercih edilmesi gerekmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Antimikrobiyal ambalajlar birçok şekilde oluşturulabilir (Appendini ve Hotchkiss 2002). Bunlar:

- ✓ Kullanılacak ambalajın içerisine uçucu antimikrobiyal maddeyi içeren torba ve ped ilave edilmesi
- ✓ Uçucu ve uçucu olmayan antimikrobiyallerin doğrudan polimer içerisine ilave edilmesi
- ✓ Polimer yapıdaki yüzeyin antimikrobiyal materyal ile sarılması
- ✓ Kovalent bağ ve iyonik bağlar ile polimer yapıların antimikrobiyal immobilizasyonu
- ✓ Antimikrobiyal karakterli doğal polimerlerin tercih edilmesidir.

Antimikrobiyal etkili ambalaj planlanırken hedef mikroorganizmalar ve söz konusu gıda grubunun yapısı ve bileşimi göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun için ortama dahil edilecek antimikrobiyal ajan: etki spektrumuna, etki tarzlarına, kimyasal özelliklerine, hedeflenen mikroorganizmaların üreme hızlarına ve fizyolojik durumlarına göre seçilmelidir (Appendini ve Hotchkiss 2002).

Gıda sanayinde, tıpta, ilaç üretiminde, kozmetik sanayi gibi birçok alanda çok sayıda bitki (özütleri, ekstraktları, çayları) bileşenleri mutfak elemanı veya bir preparat olarak kullanılmaktadır (Nostro ve ark. 2000, Jäger 2010). Bunlar içerisinde kekik sahip olduğu antimikrobiyal, antioksidan, antiseptik, lezzet verici gibi özelliklerin tamamını içermesinden dolayı kullanım noktasında kendisine üst sıralarda yer bulmuştur (Stahl-Biskup ve Venskutonis 2012, Karabacak ve Bayram 2017). Kekiğin yapısında bulunan fenolik maddeler bitkiden elde edilen uçucu yağın güçlü antimikrobiyal özellik kazanmasında etkili olmaktadır (Burt 2004). Özellikle timol ve karvakrol kekiğin keskin kokusu ve antimikrobiyal özelliklerinden sorumludur (Tanker ve Tanker 1990). Kekik uçuğu yağındaki fenolik bileşenlerin varlığı ve çeşitliliği, mikroorganizmalar üzerindeki etkisini de belirlemektedir. Uçucu yağlar, geçirgenlik özellikleriyle hedef mikroorganizma hücrelerine kolayca nüfuz edebilirler. Böylelikle mikroorganizmaların hayati öneme sahip organellerine (mitokondri, hücre zarı, vb.) zarar vererek parçalanmalara neden olurlar (Burt 2004).

Bitki çayı olarak kullanımı yüksek olan bir diğer antimikrobiyal etkili bileşik ise hibiskustur. Hibiskus antimikrobiyal, antioksidan ve renk verici özelliklere sahiptir. Bünyesinde bol miktarda antosiyanin bulunmaktadır. Bunun yanında bitki fitokimyasal ve farmakolojik (antiobezite, antidiyabetik, antioksidan, antianemik,

diüretik, antihipertansif, antikolesterol vb.) özellikler de göstermektedir (Mahunu ve ark. 2021). Hibiskus yüksek protein, yağ ve lif içeren kimyasal yapı sergilemektedir. Tohum; totalde %70 oranında, %44'lük kısmı linoleik asit olan doymamış yağ asitleri içermektedir (Mahadevan ve ark. 2009). Ayrıca, triptofan dışında esansiyel amino asitlerin çoğunluğunu taşımaktadır (Cid-Ortega ve Guerrero- Beltran 2015). Hibiskusun antimikrobiyal özelliği içerdiği fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir. Fenolik gruplar hedef mikroorganizmanın proteinlerine, enzimlerine tutunarak çalışamaz hale getirmektedir. Böylelikle mikroorganizmaların gelişmesi, biyofilm üretmesi engellenmektedir (Sulistyani ve ark. 2016). Antimikrobiyal etkili olduğu belirtilen kekik ve hibiskus üzerine literatür oldukça dikkat çekicidir. Gaba ve ark. (2022), farklı patojenler ile kontamine ettikleri etleri kekik yağı içeren yenilebilir filmler ile kaplayarak (30 günlük bir soğuk muhafaza süresi) filmlerin ürün üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Test mikroorganizması olarak seçtikleri *E. coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* üzerine farklı kekik türlerine (*Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*) ait yağların yenilebilir filmlerde %0,5-1 oranında kullanımının etlerde patojen mikroorganizmaların sayısını 1 ile 4 logaritma (log) aralığında azalttığı ve sığır etinin raf ömrünü kontrol grubuna göre 10 gün uzattığı görülmüştür. Bununla birlikte film ile ambalajlanmış etlerin açık kırmızı renkte ve hoş kokulu olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kekik uçucu yağı ilaveli filmlerin (KYF), gıdanın duyuşal özelliklerini geliştirerek depolamanın 25. gününe kadar duyuşal kabul edilebilirlik seviyesinin korunmasında etkili olduğu ifade edilmiştir.

Kekik yağı (%0,1-0,15) ilaveli karagenan bazlı yenilebilir filmler pişmiş tavuk köftelerine uygulandıktan sonra, köfteler 4°C'de 30 gün boyunca depolanmıştır. Köftelerin, duyuşal, mikrobiyolojik vb. analizlerinin yapıldığı çalışmada, kullanılan kekik yağı miktarları arttıkça *S. aureus*, *Listeria* spp. ve psikrofil mikroorganizmalar üzerine güçlü bir antimikrobiyal etki gözlenmiştir. Duyuşal açıdan (lezzet, renk, sululuk vb.) ise, KYF ile ambalajlanan köftelerin genel olarak başarılı olduğu depolamanın son gününe kadar özelliklerini muhafaza ettiği görülmüştür. Sadece görsel açıdan köftelerde minimum kayıpların yaşandığı, bu durumun ise uzun süre depolanan gıdalardaki lipit oksidasyonundan ileri geldiği ifade edilmiştir (Soni ve ark. 2018).

Antimikrobiyal etkili bitki yağlarını (kimyon, tarçın ve kekik) içeren peynir altı suyu protein orjinli yenilebilir filmlerin taze sığır etine uygulanarak 12 gün boyunca 5°C de muhafaza edildiği ve saprofitler üzerindeki antimikrobiyal etkinin araştırıldığı çalışmada, bitki yağları %1 ile %2,5 arasında değişen oranlarda kullanılmıştır. Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etki kekik yağı ile elde edilmiştir. Bununla birlikte yenilebilir film solüsyonunda tercih edilen yağ miktarının önemli olduğu özellikle %2,5 seviyesinin bütün bitki grupları için başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Badr ve ark. 2014).

Emiroğlu ve ark. (2010), farklı türdeki kekik uçucu yağları ile zenginleştirdikleri soya bazlı yenilebilir filmleri taze kıymaya uygulayarak, filmlerin mikroorganizmalara karşı (*E. coli*, *S. aureus*, *E. coli* O157: H7, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Lactobacillus plantarum*) antimikrobiyal etkinliğini test etmişlerdir. Farklı kekik konsantrasyonlarının (%1, 2, 3, 4, 5) kullanıldığı çalışmada, uçucu yağların mikroorganizmalar üzerinde farklı etki gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle *E. coli*, *S. aureus*, *E. coli* O157: H7 gibi mikroorganizmalara karşı kekik uçucu yağının (KUY) en düşük (%1) konsantrasyonunun bile etkili olduğu, buna bağlı olarak kekik yağının oransal artışının daha fazla inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir. *P. aeruginosa* ve *L. plantarum* mikroorganizmalarının ise diğerlerinden farklı olarak kekik uçucu yağlarına karşı dirençli olduğu ifade edilmiştir.

Tavuk göğüsü filetolarının raf ömrünü uzatmak amacıyla peynir altı suyu izolatu (PSI) ile farklı doğal antimikrobiyal özellikteki kekik ve karanfil uçucu yağları (%1-2) kullanılarak yenilebilir kaplama solüsyonları hazırlanmıştır. Buzdolabında 13 gün boyunca muhafaza edilen filetolara, uygulanan yenilebilir kaplamaların antimikrobiyal etkinliği test edilmiştir. Özellikle kekik esansiyel yağlarının (%2)'lik konsantrasyonunun analiz edilen bütün mikroorganizma grupları üzerinde (toplam aerobik mezofilik bakteri, *Pseudomonas* spp ve laktik asit bakteri) bakteriyostatik etkisinin olduğu, filetoların raf ömrünü 7 gün uzattığı tespit edilmiştir (Fernández-Pan ve ark. 2014).

Oussalah ve ark. (2004), kekik (%1) ve yenibahar (%1) uçucu yağları ile zenginleştirdikleri kalsiyum kazeinat ve PSI içerikli yenilebilir filmleri sığır etlerine uygulayarak, filmlerin antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. 7 gün boyunca

4°C’de depolanan gıdanın mikrobiyal yükünün (*E. coli* O157: H7 ve *Pseudomonas* spp.) azaldığı tespit edilmiştir. Özellikle KUY’un yenibahara göre antimikrobiyal aktivitesinin daha üstün olduğu ifade edilmiştir.

Tilapia balık filetoları; guar zımkı, gliserol ve kekik esansiyel yağı (%1,2) bileşenlerinin farklı kombinasyonlarından oluşan yenilebilir kaplama çözeltileri ile kaplanmıştır. 4°C’de 15 gün boyunca muhafaza edilen filetolarda, kaplamanın etkisiyle mikroorganizma (mezofilik ve psikrofilik bakteriler, *Enterobacteriaceae*) yükünde azalmalar tespit edilmiştir. Bununla birlikte kaplama çözeltisine ilave edilen kekik esansiyel yağının, balık eti dokusunda meydana gelen bozulma belirtilerini de engellemede önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir (Ruelas-Chacon ve ark. 2020).

Mehdizadeh ve ark. (2012), nişasta ve kitosan polimerlerinden yenilebilir filmler hazırlayarak içerisine farklı oranlarda (%0, 0,5, 1, 2) kekik yağı ilave ederek bu filmlerin *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli* O157: H7 ve *Listeria monocytogenes* üzerine antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Genel olarak esansiyel yağ konsantrasyonundaki artışa paralel olarak, mikroorganizma üzerindeki inhibitör etkinin de arttığı ifade edilmiştir. Ayrıca, kekik esansiyel yağı, filmlerin şeffaflığını ve rengini de etkilemiştir. Kekik yağ oranının artmasıyla filmlerin opaklaştığı, renk açısından ise sarımtırak bir görünüm kazandığı gözlemlenmiştir.

Quesada ve ark. (2016), pişmiş domuz et dilimlerinin yüzeyini farklı konsantrasyonlarda (%0, 0,5, 1, 2) kekik uçucu yağlarını içeren kitosan orjinli yenilebilir filmler ile kapatarak, ürünlerdeki mikrobiyal ve duyuşal değışimleri gözlemlemişlerdir. Mikrobiyal açıdan KUY’un özellikle mayalar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun kullanılan KUY’da yer alan temel bileşenlerin kompozisyonundan kaynaklı olduğu ifade edilmiştir. Duyusal açıdan ise, KUY’un pişmiş domuz et dilimleri üzerinde arzu edilebilir kekik kokusu bıraktığı, ortama salınan istenmeyen koku ve bileşenleri maskeleydiği, et rengini koruyarak iyi bir görünüm kazandırdığı tespit edilmiştir.

Kitosan çözeltisi, kekik yağı (%0,2) ve bunlardan oluşan kombinasyonlar (kekik + kitosan) biberli-tavuk kebablarının yüzeyine püskürtme yöntemiyle emdirilerek modifiye atmosfer paketlenme (MAP) ortamında ürünlerin raf ömürlerine olan etkisi araştırılmıştır. Kitosan ve KUY’un özellikle et saprofitleri olarak

değerlendirilen laktik asit bakterileri, *Pseudomonas* spp, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* üzerine güçlü antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Duyusal açıdan (tat ve koku) ise kekik yağı ve kitosanın üründe güzel koku ve tat bıraktığı, özellikle kekik yağı ve kitosan kombinasyonunun sinerjik bir etki gösterdiği, ürün tazeliğinin korunmasına yardımcı olduğu ifade edilmiştir (Giatakou ve ark. 2010).

Farklı oranlarda (%25, 50, 75, 100) hibiskus bitki ekstraktının (su) ilave edildiği mısır nişasta bazlı yenilebilir filmlerin antimikrobiyal, mekanik, fizikokimyasal vb. özellikleri araştırılmıştır. Hibiskus ekstraktlarının *Salmonella* spp, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ekstrakt konsantrasyonundaki artışla birlikte inhibitör etkisinin daha da arttığı gözlemlenmiştir. Görsel açıdan yarı şeffaf olan mısır nişasta filmlerinin hibiskus ekstrakt ilavesiyle farklı yoğunluklarda kırmızılaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca, hibiskusun filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirerek, elastikiyetini arttırdığı ifade edilmiştir (Gómez-Aldapa ve ark. 2021).

Cruz-Gálvez ve ark. (2018), hibiskus ekstraktı (HE) (aseton ve metanol içerisinde çözündürülmüş) içeren nişasta bazlı yenilebilir filmler elde ederek dilimlenmiş domuz sosislerine uygulamışlardır. Filmler; antimikrobiyal özellikleri açısından değerlendirildiğinde, aseton ve metanol içerikli filmlerin *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *Shigella flexneri* üzerinde önemli bir etki gösterdiği, özellikle aseton ilaveli filmlerin antimikrobiyal seviyesinin daha üstün olduğu tespit edilmiştir. Yenilebilir filmlere karşı en duyarlı mikroorganizmanın ise *E. coli* olduğu ifade edilmiştir.

Antioksidan Maddeler: Yenilebilir film ve kaplamalara, oksidasyonu engellemek ve renk bozulmalarının önüne geçmek amacıyla çeşitli antioksidanlar eklenebilir (Stucky 1972). Antioksidanlar; reaksiyonu başlatmayı geciktiren veya oksidasyon reaksiyonlarının hızını yavaşlatan bileşiklerdir. Birincil ve ikincil antioksidan olarak etki mekanizmasına göre sınıflandırılırlar. Bu antioksidanlar otoksidasyonun başlatılmasını veya çoğaltılmasını geciktiren serbest radikal alıcılardır. Bazı gıda antioksidanları; asitler, fenolik bileşikler (BHT, BHA, TBHQ, PG) ve tokoferoldür. Metal bağlayıcısı olan askorbik asit, sitrik asit, fosforik asit taze

kesilmiş meyve ve sebzelerin esmerleşmesine neden olan polifenol oksidaz enzim aktivitesini inhibe eder. Polifenol oksidaz enzimi çeşitli bitkilerde bulunan fenolik bileşiklere etki eder. Sık kullanılan antioksidan etkili bitkiler arasında hibiskus, biberiye, adaçayı, kekik, susam ve pamuk sayılabilir (Janjarasskul ve Krochta 2010). Yenilebilir film ve kaplamalar bariyer özelliklerinin dışında antioksidan maddelerin taşınması noktasında da bir matriks olarak kullanılmaktadır (Bourtoom 2008).

Yenilebilir ambalajların bileşimde en çok kullanılan antioksidan etkili bileşikler arasında biberiye, kıvılcık, tarçın, zencefil, zerdeçal, kişniş, tarhun vb. sayılmaktadır (Ponce ve ark. 2008, Melgarejo-Flores ve ark. 2013, Tongnuanchan ve ark. 2013, Pires ve ark. 2013).

Yenilebilir filmlerin yapısında kekik ve hibiskus gibi çeşitli antioksidan etkili katkılar da kullanılabilir. Yenilebilir filmlerin antimikrobiyal ve antioksidan etkileri üzerine yapılan çalışmalarda en sık kullanılan bitki olan kekik, uçucu yağındaki fenolik bileşikler sayesinde kullanıldığı ürünlerde antioksidatif tutum sergilemektedir (Cuvelier ve ark. 1996, Bayaz 2014). Antioksidatif etki uçucu yağ elde etme yöntemine göre ve yağ içerisindeki bileşiklerin (fenolik, flavonoidler, vb.) miktarına göre değişkenlik göstermektedir (Vekiari ve ark. 1993). En önemli fenol türevi olan timol, yüksek antioksidan etki göstererek, oksidasyon sonucu açığa çıkan serbest radikallerin oluşumunu minimize etmektedir (Farag ve ark. 1989b). Hibiskus, içerdiği askorbik asit, fenolik asit, beta karoten, flavonoidler ve antosiyaninler gibi antioksidan bileşenler bakımından oldukça zengindir. Özellikle antosiyaninler biyo-reaktif bileşikler olup sağlık noktasında olumlu etkiye sahiptir. Antosiyaninler hibiskus için temel kalite parametresi olarak değerlendirilmektedir (Mariod ve ark. 2021).

D los Santos-Santos ve ark. (2020), hibiskus ilaveli yenilebilir kaplamanın meyveler üzerindeki antioksidan etkisini araştırdıkları çalışmada, hibiskusun 15°C'de 8 gün süreyle depolanan meyveler üzerinde antioksidan etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ningsih ve ark. (2021), Jak meyve nişastası ile antioksidan aktiviteye sahip hibiskus ekstraktlarını (%1,5, 2, 2,5 ve 3) kullanarak yenilebilir filmler elde etmişlerdir. Filmlerin antioksidan performansları ile hibiskus konsantrasyonları

arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu ifade edilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite %3 ilaveli, en düşük aktivite ise %1,5 HE'ye ait olduğu belirlenmiştir.

Kekik (%1) ve yenibahar (%1) uçucu yağları kullanılarak hazırlanan kalsiyum kazeinat ve PSI içerikli yenilebilir filmlerin sığır eti üzerindeki antioksidan etkisinin araştırıldığı çalışmada, antioksidan aktivitesi bakımından yenibahar uçucu yağı daha üstün olurken, kekiğin ise stabil bir tutum sergilediği ifade edilmiştir (Oussalah ve ark. 2004).

Farklı konsantrasyonlarda (%0-2) kekik yağı ile zenginleştirilen nişasta-kitosan kompozit yenilebilir kaplamaların antioksidan aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, kekik yağı miktarının artmasıyla birlikte filmlerin de kademeli olarak antioksidan özelliklerinin arttığı tespit edilmiştir (Mehdizadeh ve ark. 2012).

1.4. Yenilebilir Ambalaj Üretim Metotları

Yenilebilir ambalaj yapımında kullanılan teknikler koaservasyon, ısıl jelleşme, çözücü uzaklaştırma ve eriyiğin katılaştırılması olmak üzere genellikle 4 grupta incelenmektedir.

Koaservasyon: Kimya literatüründe faz ayırma anlamına gelen (Madan 1978), farklı yüklere sahip (pozitif/negatif) kolloid çözeltilerinin karıştırılması esasına dayanır (Mehmetoğlu 2010). Bu teknik ile aromalar fiziksel, kimyasal özelliklerini kaybetmeden polimerler (protein, karbonhidrat vb.) içerisine hapsedilmektedir. Koaservasyon ile, suda çözünebilen farklı yüklere sahip kaplama bileşenleri (polimerler) kullanılmaktadır. Çözelti ortamında polimerlere ait negatif ve pozitif yükler birbirini nötrler. Ortamda fazla miktarda yüke (negatif/pozitif) sahip olan polimerde faz ayrılması meydana gelir. Arap zıncığı ile jelatin bu teknikte çoğunlukla tercih edilebilmektedir. Jelatin (protein) pozitif yüke sahip iken, arap zıncığı (karbonhidrat) ise negatif yüklüdür (Buldur 2012). Yapılan bir çalışmada adaçayı, mersin, defne gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağ bileşenlerinin (Doğru ve Ulusoy 2016), koaservasyonunda peynir altı suyu protein izolatı (PSI), kazeinat ve karboksimetilselüloz polimerleri kaplama malzemesi olarak kullanılmıştır.

Isıl jelleşme: Protein orjinli yenilebilir film yapımında kullanılan tekniktir. Proteinlerin denatürasyon, jel oluşturma gibi ısıl işleme dayalı özelliklerinden faydalanılır (Mehmetoğlu 2010). Kaplama materyalinin yapısına katılan protein orjinli

bileşenler nem alarak şişer. Daha sonra ısı işleme tabi tutularak denatüre olan bileşenler, gıdanın yüzeyinde tabaka oluştururlar (Kılınççeker 2006). Örneğin jelatin hayvansal bir protein olup, protein orjinli yenilebilir film yapımında sıkça tercih edilmektedir. Sulu ortamda ısıнын etkisiyle kıvamı artırır. Yapışkan ve kıvamlı çözelti oluşturarak kaplama materyalinde kullanılabilir (Jridi ve ark. 2013).

Çözücü uzaklaştırma: Bu teknik ile çözücü ortamındaki polimerlerin düzgün bir yapı kazanması sağlanmış olur. Bunun için film çözeltisinde bulunan makromeleküller çözücü ortamlarında (etanol, su ve asetik asit vb.) çözündürülür. Daha sonra çözücü içerisine ilave edilen plastikleştirici ajanlar ile filmlerin kuruma esnasında stabil form kazanması sağlanır. Hazırlanan yenilebilir film solüsyonları düz bir zemine ince bir tabaka şeklinde dökülerek kuruması sağlanır (Donhowe ve Fennema 1994, Mehmetoğlu 2010, Gülseren ve ark. 2012, Gökmen ve ark. 2012, Bagheri ve ark. 2013, Abbasi ve ark. 2014, Luna-Valdez ve ark. 2017).

Eriyiğin katılaştırılması: Lipit orjinli yenilebilir film yapımında kullanılan teknik olup, eritme işlemi ve sonrasında hızlıca katılaştırma prosesine dayanmaktadır. Eritilen mumlar, metil selüloz içerikli kuru filmlerin üzerine dökülerek sertleştirilmesi işlemi gerçekleştirilir (Mehmetoğlu 2010, Uçan ve Mercimek 2013). Bal mumları kaplamalarda en çok kullanılan lipitlerdir (Hall 2011). Mumlar, erime sıcaklığının üzerinde ısıtılıp, homojenleştirilir. Daha sonra kaplanacak gıdanın üzerine dökülür ve soğumaya bırakılır (Morillion ve ark. 2002).

1.5. Yenilebilir Ambalajların Gıdalara Uygulama Metotları

Yenilebilir film ve kaplamaların gıdalara uygulanması farklı şekillerde olabilmektedir (şekil 1) (Topuz ve Boran 2018).



Şekil 1: Yenilebilir Film ve Kaplama Materyallerinin Uygulama Şeması

Daldırma: Bu yöntem çok sayıda kaplama malzemesi gerektiren veya düzensiz bir yüzeye düzgün bir yapı kazandırmak için uygulanır. Gıda maddesi kaplama çözeltisine daldırılır ve fazla olan kaplama materyalinin gıda yüzeyinden akması sağlanır. Daha sonra kaplama kurutulmaya bırakılır. Bu yöntem, daha çok bal mumu kaplamalarını meyve ve sebzelere uygulamak için kullanılmıştır (Donhowe ve Fennema 1994, Dhanapal ve ark. 2012).

Püskürtme: Bu yöntem ile uygulanan kaplamalar daldırma ile uygulananlara göre daha incedir. Daldırma yönteminden farklı olarak, gıdanın tek bir yüzeyinin kaplanması tercih edilmesinde kullanılır. Örneğin, pizza tabanlarının sosla kaplanmasında, sadece tek bir yüzeyin korunması için kullanılabilir (Donhowe ve Fennema 1994, Krochta 2002).

Dökme: Bu yöntem; film çözeltisinin, gıdaya arzu edilen kalınlıkta dökülmesi, yayılması ve ardından kurutulması esasına dayanır. Bu yöntemde birbirinden bağımsız filmler elde etmek mümkündür (Donhowe ve Fennema 1994, Akbaba 2006).

1.6. Protein Bazlı Film ve Kaplamalar

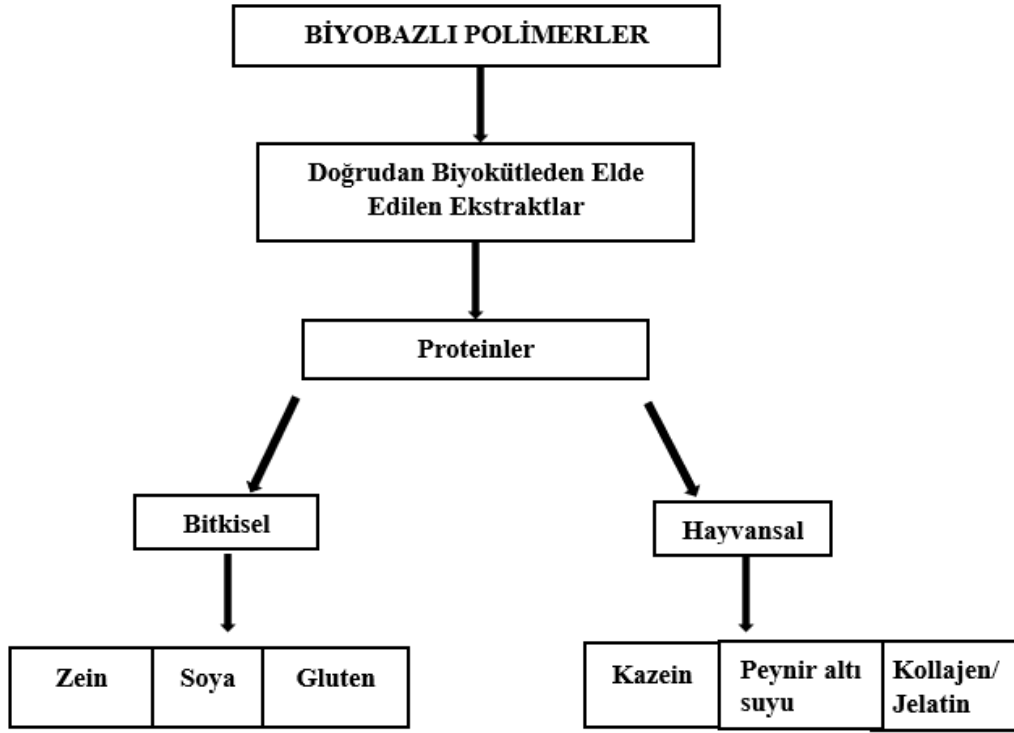
Yenilebilir protein filmler ve kaplamalar bitkisel kökenli ve hayvansal kökenli olarak iki başlıkta değerlendirilebilir. Bitkisel orjinli proteinler; mısır zeini, soya proteini, buğday gluteni, bezelye proteini, ayçiçeği proteini, yer fıstığı proteini ve çığit proteinidir. Hayvansal orjinli proteinler ise; kollajen, keratin, jelatin, balık miyofibriler proteini, yumurta akı proteini, peynir altı suyu proteini ve kazeindir (Dursun ve Erkan 2009).

Proteinler lipitler ve karbonhidratlar gibi kompleks yapıya sahip makromoleküllerdir. Diğer film ve kaplama ajanları ile kıyaslandığında; proteinler, üç boyutlu düzen, amfoter özellik ve elektrostatik yük gibi özelliklere sahiptir. Protein yapıları; kimyasal ve enzimatik reaksiyonlar, radyasyon, hidroliz vb. gibi yöntemlerle yenilebilir film ve kaplamalarda değişkenlik gösterir. Bu yöntemler ile proteinler yenilebilir ambalaj yapımında kullanılabilir (Hammann ve Schmid 2014).

Protein orjinli film ve kaplamalar, çeşitli işlemlere bağlı olarak (formülasyon, modifikasyon vb.) biyobozunur ve yenilebilir özelliktedir. Böylelikle üretilen film ve kaplama materyali yenilebilir özellik kazanır (Krochta ve De Mulder-Johnston 1997).

Protein orjinli film ve kaplamalar, hidrojen bağları, hidrofobik bağlanma ve disülfid çapraz bağlanma özelliklerinden dolayı mukavemet noktasında oldukça zayıftır. Ortama molekül ağırlığı küçük olan hidrofilik özellikte plastikleştirici ajanlar (gliserol, propilen glikol, sorbitol, sukroz, polietilen glikol, yağ asitleri ve monogliseritler) eklenebilir. İlave edilen plastikleştirici ajanların, filmlerin; nem, aroma ve yağlara karşı bariyer olma özelliğini sekteye uğratma riski de bulunmaktadır (Krochta 2002).

Yenilebilir film ve kaplamaların kökenine göre sınıflandırılması (Van Tuil ve ark. 2000) dikkate alınarak gıdalara uygun yenilebilir ambalajlar üretilebilir (şekil 2).



Şekil 2: Yenilebilir Film ve Kaplamaların Protein Orijinine Göre Sınıflandırılması

1.7. Yenilebilir Ambalajlarda Bitkisel Protein olarak Zein Kullanımı

Yenilebilir ambalajlama yönteminde bitkisel materyaller sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlar hem kolay elde edilmeleri hem de doğal ve ucuz olmaları nedeniyle oldukça ilgi görmektedir. Bitkisel ambalajlama materyalleri hem hayvansal gıdaların hem de bitkisel gıdaların ambalajlanmalarında kullanılabilir. Zein mısırdaki depo proteini olarak bilinmektedir. Üründeki toplam proteinin yaklaşık %50'sini oluşturur (Shukla ve Cheryan 2001). Bir prolamin olan zein, mısırın temel proteinlerindendir. Hidrofobik ve termoplastik özelliklere sahip olmasıyla ayırt edilebilir. Çünkü bakterilere karşı dirençli, suda çözünmez, antioksidan etkili ve yapışkan film oluşturabilme özelliklerini taşır (Joya ve ark. 2018). Zein proteininden (ZP) üretilen yenilebilir filmler kırılabilir yapıya sahiptir. Kırılabilirliği gidererek daha esnek yapı kazandırabilmek için ortama plastikleştirici ajanlar katılmaktadır (Lai ve Padua 1997).

Zein orijinli yenilebilir ambalajların başarı ve performansını çözücü ortamına katılan bileşenler etkilemektedir. Ortama ilave edilen plastikleştiriciler, yenilebilir

ambalajın yapısını iyileştirerek, mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirmektedir (Padua ve Wang 2002).

ZP; kavrulmuş fındık (Yıldırım ve Barutçu- Mazı 2016), mango meyvesi (Gol ve Rao 2014), bütün ve taze kesilmiş meyve ve sebzeler (Perez-Gago ve ark. 2010), taze brokoli (Rakotonirainy ve ark. 2008), pişmiş tatlı mısır (Carlin ve ark. 2001) domates (Park ve ark. 1994a) gibi ürünler başta olmak üzere birçok üründe kaplama materyali olarak kullanılmıştır.

Mısır zeini, buğday gluteni ve buğday gluteni/soya protein izolatı gibi bitkisel protein kökenli yenilebilir filmlerin %0 bağıl nem ile farklı sıcaklıklardaki (7, 15, 25 ve 35°C) oksijen geçirgenliklerinin incelendiği çalışmada, mısır zeini ile yapılan yenilebilir filmin, artan sıcaklığa karşı diğer bitkisel filmlere kıyasla oksijen geçirgenliğinin minimum seviyede olduğu tespit edilmiştir (Gennadios ve ark. 1993).

Çeşitli protein, lipit ve balmumlarının yenilebilir kaplama olarak kullanıldığı tatlı mısır ürününde zein ile yapılan kaplama materyalinin duyu özellikler bakımından istenilen seviyede olduğu ve mikrobiyal açıdan ise bariyer etkisi gösterdiği ifade edilmiştir (Carlin ve ark. 2001).

Oleik asitle plastikleştirilmiş, işlenmiş ve işlenmemiş zein ile modifiye atmosferde (MAP) kaplanan taze brokoli çiçeğinin yapısındaki değişkenlik ve renk performansının değerlendirildiği çalışmada, brokoli çiçekleri 6 gün boyunca cam kavanoz içerisinde buzdolabında depolanmıştır. Film ile kaplanan brokoli çiçeğinin orijinal halini ve rengini koruduğu tespit edilmiştir (Rakotonirainy ve ark. 2008).

Kavrulmuş fındıkların, eklenen fonksiyonel bileşenlerle (tokoferol) zenginleştirilmiş zein ile kaplanması sonucu lipit oksidasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, kaplanmamış ve kaplanmış fındıkların 40°C’de 5 ay boyunca raf ömürleri takip edilmiştir. Kavrulmuş fındıkların zein ile kaplanması sonucu lipit oksidasyonun önemli düzeyde azaldığı, depolama süresince dış yüzeyin ise pürüzsüz olduğu belirtilmiştir (Yıldırım ve Barutçu- Mazı 2016).

Zein ve jelatin ile kaplanan mango meyvesinin hasat sonrası kalite ve raf ömrü özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, mango meyvesinin hasat edildikten sonraki kalite kayıplarını minimize edebilmek için yenilebilir filmler ile kaplanarak $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ’de depolanmıştır. Zein ve jelatin kaplamalar meyvenin olgunlaşmasını

geciktirmiş ve kalite özelliklerini koruyarak raf ömrünün uzamasına katkıda bulunmuştur (Gol ve Rao 2014).

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerin yenilebilir uygun ve doğru malzemeler ile kaplanması, bu ürünlerin genel kalitesini koruduğu ifade edilmiştir (Perez-Gago ve ark. 2010).

Olgunlaşma safhasında 21°C’de depolanan domateslerin renk, ağırlık, sertlik gibi değişkenlikleri incelenmiş, zein filmi ile kaplama yapılan domateslerin, kaplama yapılmayanlara göre depolama sırasındaki ağırlık kayıplarının geciktiği ve raf ömrünün 6 gün uzadığı belirtilmiştir (Park ve ark. 1994a). Yine farklı bir çalışmada mısır zein filmi, depolama süresince (5 ve 20°C’de 10 ay) domatesin nem ve oksijen bariyeri görevini üstlenmiş ve ürünün fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini kısmen iyileştirmiştir (Baysal ve ark. 2009). Domateste hasat sonrası olgunlaşma süresini kısaltmak ve ürün kalite performansını arttırmak için aljinat/zein yenilebilir filmlerin kullanıldığı çalışmada; kaplanan domatesin solunum ve etilen gazı üretim hızlarının düşük olduğu tespit edilmiş, ürün yumuşaması, renk gelişimi ve ağırlık kaybı gibi değerler kontrol altına alınmıştır. Ürün duyuşal performansı artmıştır (Zapata ve ark. 2008).

Mısır zein proteininin yenilebilir ambalaj olarak kullanıldığı birçok hayvansal gıda da mevcuttur. Yumurta raf ömrü üzerine planlanan bir araştırmada farklı bitkisel yenilebilir filmler (buğday gluteni, soya proteini izolatu ve mısır zeini) ile yumurtalar kaplanarak oda sıcaklığında belirli bir süre (1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 ve 28 gün) depolanmıştır. Bu süre zarfında yumurtalardaki nem kaybı ve kabuk mukavemeti incelenmiştir. Mısır zeini ile kaplanan yumurtaların nem kaybının minimum seviyede ve yumurta kabuk mukavemetinin ise maksimum seviyede güçlü olduğu tespit edilmiştir (Wong ve ark. 1996).

Vakum paketlenme ve mısır zeini yenilebilir film ile kaplama yapılarak palamut balığının buzdolabındaki raf ömrünün değerlendirildiği çalışmada, palamut sadece yenilebilir film ile kaplandığı gibi, diğer taraftan zein filmi ile kaplanarak vakum paket de yapılmıştır. Sadece; film ile kaplanmış ürün raf ömrü 6 gün, kaplama ile birlikte vakumlanmış ürün raf ömrü 13 gün olarak bulunmuştur. Palamut balığının yenilebilir

zein filmi ile kaplanarak vakumlanması raf ömrünü uzattığı gibi duyuusal albenisine de katkı sağladığı ifade edilmiştir (Duyar ve ark. 2016).

Zataria multiflora uçucu yağı (yabani İran kekiği) ile kombine edilmiş, zein yenilebilir film ile kaplanan Feta peynirinde, mikrobiyolojik ve duyuusal kalite özellikleri artarken, *Salmonella enteritidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etki tespit edilmiştir (Ghasemi ve ark. 2015).

Nisin ve/veya kalsiyum propiyonat gibi koruyucular içeren yenilebilir zein film kaplamaları ile kaplanmış soğutulmuş, yemeğe hazır tavuk etlerinin yüzeyinde *L. monocytogenes*'in kontrol edildiği bir çalışmada; farklı sıcaklıklarda (4°C, 8°C) farklı günler arasında (0-24 gün) takip edilen tavuk etinde *L. monocytogenes*'in gelişimi önlenmiştir (Janes ve ark. 2002).

Aktif zein orjinli filmler (zein, zein-wax) ile kaplanan soğukta depolanmış taze kaşar peynirinde *L. monocytogenes* gelişimi ve lipit oksidasyonun kontrol edildiği bir çalışmada; ortama lizozim, kateşin ve gallik asit ilave edilerek 4°C'de 8 hafta boyunca izlenen peynir numunelerindeki mikrobiyal yükün azaldığı, kateşin ve gallik asit içeren filmlerin oksidatif ransiditeyi önlediği belirtilmiştir (Ünalan ve ark. 2013).

Minas peynirinin, (Brezilya geleneksel peyniri) oleik asit ve ksantam gam içeren zein orjinli yenilebilir film ile kaplanarak 56 günlük depolama süresince kalite kriterlerinin incelendiği çalışmada; kaplama materyalinin kullanıldığı peynir numunelerinin kaplama yapılmayanlar ile kül, asitlik ve protein değerlerinin benzer olduğu, mikrobiyolojik yük ve nem kaybı gibi olumsuzlukları giderme yönünden ise daha başarılı bulunduğu tespit edilmiştir (Pena-Serna ve ark. 2016).

Proteinlerin gıda sektöründe yenilebilir ambalaj malzemesi olarak kullanımında birçok protein, farklı katkıları ilave edilerek çok sayıda farklı gıda gruplarında denenmiştir. Bu çalışmalarda özellikle proteinlerin ambalaj materyali olarak, antimikrobiyal, antioksidan, su geçirgenliği ve renk stabilitesi gibi birçok etkisi araştırılmıştır. Mısır proteini olan zein yapılan çoğu araştırmada hazır ticari preparat olarak kullanılmıştır (Park ve ark. 1994a, Rakotonirainy ve ark. 2008, Baysal ve ark. 2009, Duyar ve ark. 2016, Yıldırım ve Barutçu- Mazi 2016).

Zeinin çözündürülmesinde çoğunlukla etanol tercih edilirken, plastikleştirici ajan olarak da gliserol kullanılmaktadır. Yenilebilir ambalajların kırılabilirliği ve

sertliğinin ayarlanması kullanım kolaylığı açısından önemlidir. Bu nedenle gliserolün farklı oralarda kullanılması gerekmektedir. Plastikleştirici ajan kullanımında özellikle gliserol ve oleik asit gibi maddeler sıklıkla kullanılmakla birlikte yapılan araştırmalarda bu maddelerin yüksek oranda katıldığında kırılğan ürün elde edilmesine neden olduklarını bu yüzden ajanın türüne bağlı olarak değişmekle birlikte ambalaj materyaline %2- %16 arasında katılmasının ideal sonuç vereceği belirtilmiştir (Park ve ark. 1994b, Rakotonirainy ve ark. 2008, Baysal ve ark. 2009, Duyar ve ark. 2016, Yıldırım ve Barutçu- Mazı 2016).

Zeinin ambalaj materyali olarak gıdaya uygulandığı sıcaklık özellikle gıdayı sarma, kaplama ve kurutma özelliklerini değiştirmektedir. Yapılan denemelerde genellikle 40°C- 80°C arasında değişen sıcaklıklar tercih edilmektedir. Bu denemelerde yüksek sıcaklıkların gıdaların başlangıç mikrobiyal yükünü azaltması, gıdalarda renk değişimine sebebiyet vermesi gibi birçok farklı sonuç elde edilmiştir (Park ve ark. 1994a, Rakotonirainy ve ark. 2008, Baysal ve ark. 2009, Duyar ve ark. 2016, Yıldırım ve Barutçu- Mazı 2016). Film çözeltisine plastikleştirici ajan olarak ilave edilen oleik asit, yenilebilir filmlere birçok olumlu katkı (mukavemeti arttırma, nem bariyeri sağlama) sağlamaktadır (Hamilton ve Olcott 1937). Yenilenebilir filmler üzerine sürülen tung yağı ile filmlerin daha hızlı kuruması sağlanmıştır. Tung yağı; ahşap yağı olarak bilinir. Yağın ana bileşeni eleostearik asittir. Diğer bileşenleri ise; oleik ve linoleik asitlerdir. Endüstride önemli değerlikte kurutma yağı özelliğini taşımaktadır. Kuruma sırasında sararmamaktadır. Bu özellikleri sayesinde su ve alkali maddelere karşı dirençlidir (Shahidi 2005).

Zein çözeltisi ve/veya filmi hazırlanırken içerisine antioksidan özellikli tokoferol başta olmak üzere askorbik asit gibi bileşenlerin katıldığı çalışmalarda ambalajlanan gıdalarda oksidasyonun geciktiği belirtilmektedir. Fındık gibi yüksek yağ içeren gıdalarda yağ oksidasyonuna bağlı acılaşma gıdanın raf ömrünü etkileyen en büyük sorunlardandır (Yıldırım ve Barutçu- Mazı 2016).

1.8. Yenilebilir Ambalajlarda Hayvansal Protein olarak Peynir Altı Suyu Kullanımı

Süt ürünleri entegre fabrikalarda yapılabildiği gibi genellikle küçük aile işletmelerinde üretilmekte, elde edilen süt artıklarının ise değerlendirilmesi ekonomiye

kazandırılması pek mümkün görünmemektedir. Peynir altı suyu (PAS) başta olmak üzere kullanılamayan sütçülük artıkları ekonomik kayıplara, israfı ve çevre kirliliğine yol açmaktadır. Günümüzde ise gelişen teknolojilerle birlikte PAS farklı şekil ve alanlarda değerlendirilmektedir (Akyüz 1979). PAS'ın sahip olduğu jelleşme, randıman arttırma, su tutma kapasitesi, emülsiyon oluşturma gibi özellikleri sayesinde özellikle katkı maddesi olarak dondurma, yoğurt üretimi başta olmak üzere unlu mamullerde, et- balık ürünlerinde, bebek mamalarında, içecek sektöründe, pastacılık alanında sıklıkla tercih edilmektedir. Ekonomik açıdan bakıldığında ise 1 kg peynir üretiminden yaklaşık 9 lt PAS elde edilmektedir (Demir M 2016). Bunun yanında protein bileşenleri içerisinde yer alan peynir altı suyu proteinleri; mekanik ve bariyer özelliklerinin üstün oluşu sayesinde ayrı bir öneme sahiptir (Gennadios 2004, Ramos ve ark. 2012a).

Türkiye’de 2010-2020 yıllarını kapsayan dönem içerisinde peynir altı suyu tozu üretiminde inişli-çıkışlı bir süreç yaşanmıştır. Tablo 1’de, 2010 yılında 85 bin ton civarında olan üretim 2014 yılında yaklaşık 5 kat artarak 400 bin ton seviyelerine ulaşmıştır. 2015 yılında 268 bin ton seviyeleri ile üretimde yaşanan düşüş, son yıllarda ciddi ivme yakalayarak yükselişe geçmiş ve 2020 yılını 681 ton ile zirvede kapatmıştır (<http://www.tuik.gov.tr>, Erişim tarihi: 13.06.2022). Kars, peynircilik alanında özellikle kaşar peyniri üretiminde katma değeri yüksek olan bir merkezdir. Bu bağlamda yörede bol miktarda PAS eldesi söz konusu olmaktadır (Demir M 2016). Tablo 2’de yöreye ait PAS’ın mevsimsel dağılımı verilmiştir. Verilere SERKA tarafından hazırlanan Ardahan ili peynir altı suyu işleme tesisi ön fizibilite raporunda ulaşılabilmektedir (<https://www.yatirimadestek.gov.tr/> Erişim tarihi: 13.06.2022). Mevsimsel dağılıma göre, bölgede özellikle ilkbahar- yaz aylarını kapsayan günler (150) sonbahar-kış aylarına (210) göre daha az olmasına rağmen işlenen süt ve elde edilen PAS miktarı 4 kat daha fazladır.

Tablo 1: Türkiye’de Peynir Altı Suyu Tozu Üretim Miktarları

Peynir altı suyu tozu üretimi (ton)										
2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
84,600	91,800	196,200	290,000	400,000	268,300	146,700	358,700	379,800	613,200	681,300

Kaynak: <http://www.tuik.gov.tr>, (Erişim tarihi: 13.06.2022).

Tablo 2: Kars'ta Üretilen Peynir Altı Suyunun Mevsimsel Dağılımı

Dönem	Gün	İşlenen süt (ton)	Peynir altı suyu (maksimum (ton)	Günlük peynir altı suyu (maksimum) (ton)
İlkbahar-yaz	150	96,000	81,600	608
Sonbahar-kış	210	24,000	20,400	109

Kaynak: SERKA, <https://www.yatirimadestek.gov.tr>, (Erişim tarihi: 13.06.2022).

Kazein başta olmak üzere süt proteinleri, yenilebilir filmlerde sudaki çözünürlükleri ve emülsiyon kapasiteleri gibi birçok temel özelliğe sahiptir (Khwaldia ve ark. 2004). Kazein proteini, hidrojen bağları ile etkileşime girmelerinden dolayı çok fazla işleme tabi tutulmadan sulu çözeltielerde film oluşturabilir (McHugh ve Krochta 1994).

PAS sütçülük alanında önemli bir yan üründür. PAS'ın özellikleri birçok açıdan farklılık gösterebilir. Bu durum, üretilen peynirin türüne, çeşidine ve kullanılan hayvanın sütüne bağlıdır (Dinçoğlu ve Ardıç 2012). PAS, eser miktarda birçok bileşene (thiamin, riboflavin, nisin vb.) sahip iken, laktoz ve protein açısından ise zengin bir içeriğe sahiptir. Protein fraksiyonları açısından değerlendirildiğinde laktalbumin yaklaşık %23'lük kısmı oluşturmaktadır. Bu durum PAS'ı biyolojik değer açısından ayrıcalıklı kılar (Oysun 1983).

Peynir altı suyu proteini; kuvvetli bir antioksidan olan glutation molekülünü içerebilmektedir. (Bounous ve ark. 1989, Dröge ve ark. 1994). İçermiş olduğu immünoglobülinler, glikomakropeptit, laktoferrin, betalaktoglobulin ve alfa-laktalbumin sayesinde kanser, HIV, hepatit B, kardiyovasküler hastalıklar, osteoporoz gibi hastalıklara karşı antimikrobiyal bir ajan görevi görür (Marshall 2004).

Peynir altı suyu proteininden elde edilen yenilebilir ambalajlar oksijen bariyeri olarak etkin bir işleve sahiptir. Bu filmler şeffaf, parlak, kokusuz özellikte olup, esneyebilirliği oldukça yüksektir. Peynir altı suyu proteini sahip olduğu fonksiyonel özelliklerinden dolayı birçok alanda (unlu mamuller, et teknolojisi, süt teknolojisi, hayvan yemi) tercih edilmektedir. Son dönemlerde ise yenilebilir ambalaj üretiminde sıkça kullanılmaktadır. Örneğin; dondurulmuş deniz ürünlerinde antioksidan, kuruyemiş ürünlerinde acılık, ekşilik ve küflenme gibi istenmeyen kusurları gidermede oksijen bariyeri, kahvaltılık gevreklerde nem bariyeri ve kurutulmuş

üzümlerde ise yapışkanlığı giderme özelliklerinden faydalanılmaktadır (Seydim ve ark. 2007).

Peynir altı suyu proteini besin değeri yüksek protein grubu olup, PAS'ın en önemli bileşenidir. Bünyesinde birçok makro (α -laktalbümin, β - laktoglobülin vb.), mikro (laktoferrin, laktoperoksidaz vb.) proteinleri barındıran (Çelik ve Önür 2016), PAS'a uygulanan farklı işleme teknikleri ile farklı özelliklere sahip peynir altı suyu proteinleri elde edilmektedir. Bunlar; peynir altı suyu protein tozu (PST), peynir altı suyu konsantresi (PSK), PSI'dır. PST; PAS'ın pastörize edilip püskürtülerek kurutulması ile elde edilir. Yüksek kül miktarı ve düşük protein içeriğine sahip olan PST, PAS'ın bütün bileşenlerini içermektedir. Peynir altı suyu proteini, ultrafiltrasyon tekniği ile farklı miktarlarda (%34, 60, 80) konsantre edilerek PSK elde edilir. PSK, değişen oranlarda protein (%34-82), laktoz (%4-52), yağ (%1-8) ve kül (%2-8) içermektedir. PSI, ise PSK'dan farklı olarak ekstra mikrofiltrasyon teknolojisi uygulanarak yüksek oranda (%90 ve üzeri) protein, düşük oranda yağ (%0,5-1), laktoz (%0,5-1) ve kül (%2-3) içermektedir. PSI; mükemmel aminoasit içeriği ile peynir altı suyu protein grupları içerisinde en değerli olanıdır (Guo 2019).

PSI ve sitrik asit içeren yenilebilir filmlerin taze kesilmiş elmaların korunmasında etkisinin araştırıldığı çalışmada; kaplama yapılan elma örnekleri 8 gün boyunca 5 ± 2 °C'de ve 85 ± 3 bağıl nemde depolanmıştır. Yenilebilir filmlerin, polifenol oksidaz ve peroksidaz enzim aktivitesinden kaynaklı kalite kusurlarını minimize ederek ürün renk değerlerini koruduğu ve raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir (Azevedo ve ark. 2018).

Transglutaminaz enzimi ile peynir altı suyu proteini/pektin harmanlanmış yenilebilir filmlerin taze kesilmiş meyve ve sebzelerde (elma, havuç ve patates) kaplama materyali olarak kullanıldığı çalışmada; kaplama yapılan gıdalarda ağırlık kaybının azaldığı, mikrobiyal üremenin yavaşladığı, antioksidan aktivitenin arttığı, meyve-sebze sertlik ve çiğnenebilirlik değerlerinin korunduğu gözlemlenmiştir (Rossi-Marquez ve ark. 2017).

Kekik, biberiye ve sarımsak uçucu yağlarını içeren peynir altı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği çalışmada; kekik ve sarımsak uçucu yağı katkılı yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinliğinin (*S. aureus*,

S. enteritidis, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *L. plantarum*) biberiye içerikli olanlara göre daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca; uçucu yağların gıdalara doğrudan ilave edilmesinin bakteri popülasyonunu hızla düşürdüğü belirtilmiştir (Seydim ve Sarıkuş 2006).

Kitosan/peynir altı suyu proteini bazlı yenilebilir ambalaj ile kaplanmış Ricotta peynirleri modifiye atmosfer ile paketlenmiş ve 4°C’de raf ömrü incelenmiştir. Depolama süresince peynirde önemli pH değişikliği olmadığı, mikrobiyal açıdan psikrofilik, mezofilik bakteri ve laktik asit bakteri sayılarında önemli seviyede azalma olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyali peynirde istenmeyen asitliğin gelişimini engelleyerek, ürün yapısını korumuş ve raf ömrünü uzatmıştır (Di Pierro ve ark. 2011).

Bitkisel ve hayvansal bileşenler (gliserol, guar zımkı, ayçiçeği yağı, PSI) ve bazı antimikrobiyal maddeler (tween 20, natamisin, laktik asit, vb.) kullanılarak hazırlanan yenilebilir filmler, peynir ürünlerinde kaplama materyali olarak kullanılmıştır. Peynirler, 60 gün süreyle depolanmıştır. Yapılan analizler sonucunda ürünün yağ ve tuz içeriklerinde önemli bir değişiklik olmazken; su kaybı, renk değişikliği ve sertlik gibi parametrelerde düşüşler tespit edilmiştir. Ayrıca; yenilebilir filmler mikrobiyal açıdan patojen mikroorganizmaların üremesinde bariyer görevi üstlenmiştir (Ramos ve ark. 2012b).

Gliserol ve sorbitol gibi plastikleştirici ajanlar ilave edilip, kazein ve PSK filmleri hazırlanarak çedar peynirlerinde kaplama materyali olarak kullanılmıştır. Plastikleştirici ajanlar ile biyopolimer konsantrasyonunun artması yenilebilir filmlerin kalınlığını, su buharı geçirgenliğini artırırken, gerilmeye olan direncini ve elastikiyetini düşürmüştür. Ayrıca; kaplama materyali olarak protein bazlı yenilebilir filmlerin kullanılmasının çedar peynirlerinin organoleptik kalitesini olumsuz yönde etkilemediği tespit edilmiştir (Wagh ve ark. 2013).

Kekik (%1,5) ve karanfil uçucu yağları ile (%1,5) sorbitol içeren PSI filmler kaşar peynirlerinde kaplama materyali olarak kullanılmıştır. Yenilebilir filmler, belirli depolama süresinde (1., 15., 30. ve 60. gün) kaşar peynirin fiziksel-kimyasal ve antimikrobiyal özelliklerini geliştirerek raf ömrünün uzamasına katkı sağlamıştır (Kavas ve ark. 2015). Kitosan ve kitosan / peynir altı suyu proteini bazlı yenilebilir filmler ile kaplanan göbek kaşarların olgunlaşma süresi (3., 30., 60. ve 90. gün)

boyunca kimyasal, mikrobiyal ve organoleptik özelliklerinin incelendiği çalışmada; kaplama yapılan peynirlerin duysal kalitesinin arttığı, mikrobiyal açıdan korunduğu tespit edilmiştir (Yangılar 2015).

Asetillenmiş monogliserit (AMG) içrikli PSI yenilebilir film ile kaplanan dondurulmuş somon balığındaki nem kaybı ve lipit oksidasyon reaksiyonlarının incelendiği çalışmada; PSI ile kaplanan ürünlerin nem kaybının %42-65 oranında azaldığı, lipit oksidasyon aktivitesinin yavaşladığı ve peroksit değerlerinin düştüğü tespit edilmiştir (Stuchell ve Krochta 1995).

Tokur ve Aksun (2018), KUY katkı PSI yenilebilir film ile kaplanan istavrit balığında (*Trachurus trachurus*) dondurarak depolama sürecinde duysal ve kimyasal kalitedeki değişimler incelemiştir. Bu çalışmada istavritler farklı oranlarda (%3, %5 ve %7) kekik uçucu yağ ile zenginleştirilen PSI yenilebilir film ile kaplanarak -18±2°C'de 9 ay boyunca depolanmıştır. Tiobarbitürik asit (TBA) ve peroksit değerlerine (PD) bakılarak balıktaki lipit oksidasyon ürünlerinin varlığı araştırılmıştır. %3 kekik yağı içrikli yenilebilir film ile kaplanan istavritlerde TBA ve PD en düşük seviyede iken, %5 ve %7 kekik yağı içrikli filmler ile kaplanarlarda ise en yüksek seviyede olduğu belirtilmiştir. %7 kekik yağı içrikli yenilebilir film ile kaplamanın yüksek protein çözünürlüğüne sahip olduğu ve 9 aydan daha uzun süre depolamada duysal kalite açısından uygun olmayacağı tespit edilmiştir.

Peynir altı suyu proteinli yenilebilir film ile kaplamanın kilka balığının kalitesi ve raf ömrü üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada; farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (%3, 7, 10 ve 13) peynir altı suyu protein filmler ile kilka balığı kaplanarak, polietilen tabaklarda paketlenip 4 ay boyunca -18°C'de depolanmıştır. %13 konsantrasyonlu peynir altı suyu protein ile kaplanan kilka balığın nem değerlerinin diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel açıdan önemli olduğu ve kaplamanın ürün raf ömrünün uzamasında kullanılabileceği tespit edilmiştir (Motalebi ve ark. 2010).

Peynir altı suyu proteini yenilebilir ambalaj üretiminde özellikle uçucu baharat yağlarıyla (biberiye, sarımsak, kekik, fesleğen, yenibahar, kişniş, mersin bitkisi, adaçayı, defne, karanfil ve kayısı) birlikte kullanılma olanağı sayesinde ticari preparat olarak sıkça tercih edilmektedir. Ambalaj üretiminde doğal bitki ekstraktlarının tercih edilmesinin PAS orjinli yenilebilir film ve kaplamalara olan tüketici algısını olumlu

yönde geliştireceği ifade edilmiştir. Bitki ekstraktlarının kendisine özgü özellikleri sayesinde ürünlerin (kaşar, kestane, salam vb.) fiziksel, duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesini arttığı tespit edilmiştir (Parlak 2005, Sarıkuş 2006, Çiçek 2011, Akcan 2013, Kalkan 2014, Saygılı 2015).

Ambalaj üretiminde bariyer görevi üstlenen mumların (kandelila, bal) miktarsal olarak kullanımında hassasiyet gösterilmesi, yenilebilir film ve kaplamaların performansının artmasında daha iyi sonuç vereceği belirtilmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda ambalaj çözeltilerine ağırlıkça 0,4- 0,8 (a/h) mum ilave edildiği tespit edilmiştir. Fazla miktarda kullanılan mumlar, ürünlerin görsel açıdan opak görünmesine ve tüketici algısının olumsuz yönde değişmesine neden olmaktadır (Kim ve Ustunol 2001a, Kim ve Ustunol 2001b, Cagrı ve ark. 2002, Kristo ve ark. 2008, Kalkan 2014).

Bitki ekstraktlarından en yüksek verimi alabilmek için, uçucu yağların özellikleri, birbirleriyle olan sinerjik ve antagonistik durumlarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Örneğin, bitki ekstraktı ilaveli yenilebilir film üretimi üzerine yapılan bir çalışmada, biberiye esansiyel yağı içerisindeki temel bileşenlerin biyolojik özelliklerinin farklı olmasının antimikrobiyal performansını etkilediği ifade edilmiştir (Sarıkuş 2006). Yapılan başka bir çalışmada ise; *Listeria innocua*'ya karşı en etkili uçucu yağın biberiye olduğu belirlenirken, en düşük etkili uçucu yağın ise kişnişe ait olduğu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde yenibahar uçucu yağ ilaveli yenilebilir ambalajların daha sağlam olduğu fakat arzu edilen renk noktasında performansının düşük olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Kalkan 2014).

PSI esaslı ambalaj üretiminde, filmlerin mukavemetini, çözünürlüklerini ve ısıl denatürasyonlarını gerçekleştirmede pH: 8 değerinin ideal sonuç vereceği ifade edilmiştir (Sarıkuş 2006, Akcan 2013, Kalkan 2014, Saygılı 2015).

Yapılan çalışmalarda PAS kökenli ambalajların kırılgenliğini ve sertliğini kontrol etmede plastikleştirici bileşen olarak sorbitol ve gliserol tercih edilmiştir. Gliserol, ağırlıkça %2-8 (a/h) arasında değişen oranlarda kullanılırken, sorbitol ise sadece ağırlıkça %3 (a/h) oranında kullanılmıştır (Sarıkuş 2006, Çiçek 2011, Akcan 2013, Kalkan 2014, Saygılı 2015).

PSI'dan elde edilen yenilebilir filmlerin kurutulma sıcaklığı, uygulanacağı ürünün depolama koşullarını ve organoleptik özelliklerini değiştirmektedir. Yapılan denemelerde filmlerde 20- 35°C arasında değişen kurutma sıcaklıklarının tercih edildiği görülmüştür (Parlak 2005, Sarıkuş 2006, Çiçek 2011, Akcan 2013, Kalkan 2014, Saygılı 2015).

1.9. Yenilebilir Ambalajlama Teknolojisinde Karşılaşılan Sorunlar

Gıdaların kimyasal ve fiziksel yapıları oldukça farklı olup bunlar için geliştirilen ya da tasarlanan yenilebilir filmlerin özellikleri de çeşitlik göstermektedir. Yenilebilir ambalajlar, genellikle ürünler ile birlikte tüketilmektedir. Üretim sırasında ortama ilave edilen antioksidanlar, antimikrobiyaller, nutrasötikler gibi bileşikler gıda üzerinde istenmeyen değişikliklere neden olarak tüketicilerin tercihinin olumsuz etkilememelidir. Bazı durumlarda, yenilebilir kaplamalara ilave edilen antimikrobiyal ajanların gıdadaki esansiyel yağ asitleri ile tepkimeye girerek istenmeyen kimyasal ve duyuşal değişikliklere yol açtığı ifade edilmiştir (Burt 2004).

Yenilebilir kaplamalara ilave edilen enzimatik reaksiyonları önleyici ajanlar (inhibitör), glutatyonca zengin ürünlerde istenmeyen fiziksel değişikliklere sebep olabilir (Richard ve ark. 1992, İyidoğan ve Bayındırlı 2004, Rojas-Grau ve ark. 2006).

Yenilebilir ambalajların çoğu, alerjik reaksiyonlara sebep olan bileşenleri (soya fasulyesi, süt, fındık, yerfıstığı, balık, buğday vb.) içerebilir. Gıda etiketinde, alerjeni içeren yenilebilir ambalajın bilgisi belirtilmelidir (Franssen ve Krochta 2003).

Gıdalarda yenilebilir ambalajlama teknolojisinin kullanılmasında karşılaşılan sorunlar şöyle sıralanabilir (Ghaouth ve ark. 1992, Howard ve Dewı 1995, Cisneros-Zevallos ve Krochta 2003, Franssen ve Krochta 2003, Burt 2004).

1. Yenilebilir ambalaj materyalinin kalınlığı gıdadaki gaz dengesine göre ayarlanmalıdır. Aksi durumda; arzu edilmeyen doku kusurları meydana gelecektir.
2. Ambalaj materyalinin kalınlığı, ortamda çok fazla CO₂ birikmesine sebebiyet vereceğinden, anaerobik reaksiyonlar hızlanacak ve kötü kokulu bileşikler meydana gelecektir.

3. Gıdaya uygun yenilebilir ambalaj seçilmelidir. Uygun olmayan ambalaj ürün tadında acılaşmaya, ekşimeye neden olacaktır.
4. Yenilebilir ambalaj üretiminde kullanılacak materyalin özelliği iyi bilinmelidir. Alerjen maddelerin (gluten, PAS vb.) tercihinde tüketici bilgilendirilmedir (etiket).
5. Ambalaj maliyeti açısından ekonomik olan polimerler seçilmelidir. Böylelikle, üretiminde süreklilik sağlanacaktır.
6. Ekonomik açıdan, ambalaj üretiminde kullanılacak materyalin çokluğu, kolay bulunurluğu dikkate alınmalıdır.

Gıdalarda yenilebilir ambalajlama teknolojisinin başarı ile kullanılmasına etki eden faktörler şunlardır (Padua ve Wang 2002, Temiz ve Yeşilsu 2006, Bourtoom 2008, Baysal ve ark. 2009, Akçay 2012, Gülseren ve ark. 2012, Gökmen ve ark. 2012, Bagheri ve ark. 2013, Abbasi ve ark. 2014, Luna-Valdez ve ark. 2017).

1. Taşıyıcı görevi üstlenmesiyle bileşimine katılan antioksidanların, antimikrobiyal maddelerin ve katkı maddelerinin etkin kullanılmasına olanak sağlar.
2. Üretiminde kullanılan biyobozunur maddeler ile birçok gıdada nem, gaz, aroma ve yağ bariyer görevlerini üstlenerek ürün raf ömrünün uzamasında başarılı bir şekilde tercih edilebilir.
3. Bileşimine katılan biyobozunur maddelerin doğal olması, ekstra bir işleme ihtiyaç duyulmadan doğada kolay bir şekilde parçalanabilmesine olanak sağlar.
4. Üretiminde kullanılan katkı maddeleri (plastikleştiriciler) ile ürün mekanik özelliklerinin geliştirilmesinde tercih edilebilir.
5. Yenilebilir ambalajların sahip olduğu bariyerler sayesinde çok bileşenli gıdalarda farklı bileşenleri ayırt etmek için tercih edilebilir.
6. Tek tek ambalajlanması güç olan porsiyonluk gıdaların (fındık, çilek vb.) ambalajlanarak, gereksiz paketlemenin önlenmesine olanak sağlar.
7. Üretiminde kullanılan doğal polimerler sayesinde, gıdanın vitaminlerini ve diğer besinlerini koruyarak, besin değerinin artmasına olanak sağlar.

8. Kullanılacak gıda ile uyumlu olması tüketiciler açısından tercih edilebilirliğini artırır.
9. Bileşimine katılan çeşitli katkı maddeleri sayesinde gıdanın organoleptik özelliklerini geliştirerek tüketici açısından albeniyi artırır.

Et ve et ürünleri, biyolojik değeri ve protein kalitesi yüksek olması bakımından protein ihtiyacını büyük ölçüde karşılayarak insan beslenmesinde önemli gıdaların başında gelmektedir (Baltic ve Boskovic 2015). Bu gıdalardan kıyma ve kıyma benzeri ürünler (köfte ve çeşitleri); besleyiciliği, tüketilebilirliği, hazırlanışı ve sunumun kolaylığı, maliyetinin düşüklüğü gibi özelliklerden dolayı her zaman en çok tercih edilen besinler arasında yer alabildiği gibi, bünyesinde taşıdığı potansiyel risklerden kaynaklı dikkat edilmesi gereken ürünler açısından da öne çıkmaktadır (Baysal 1988, Bekar 2019). Kıyma ve benzeri ürünler (köfte); hem yapısal özellikleri (pH, su aktivitesi, vb.), hem de hazırlanması sürecinde mikrobiyal kontaminasyona neden olabilecek yüzey alanlarına sahip olması bakımından, başta *E. coli* olmak üzere birçok mikroorganizmaya rahatlıkla gelişebileceği, üreyebileceği doğal bir yaşam alanı sunmaktadır (Bekar 2019). Bryant ve ark. (1989), *E. coli* O157: H7 zehirlenmelerinin et ve et ürünleri özellikle de kıyma ile süt ve süt ürünlerinde (pastörize edilmemiş) daha çok görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu durum özellikle etin yüzeyinde bulunan ve patojen mikroorganizmaların, daha sonra etin kıyma haline getirilmesiyle gıdanın bütün kısımlarına (iç, dış) bulaşmasına neden olmasıyla açıklanabilmektedir.

İnsanlar tarafından fast-food tarzı işletmelerde hamburger köftelerin tüketiminin yoğun olduğu, kıymadan elde edilen köftelerin yeterince pişirilmeden tüketime sunulduğu ve personelin hijyen kurallarına uyulmadığı durumlarda *E. coli* O157: H7 kaynaklı enfeksiyonların görülmesi kaçınılmazdır (Mermelstein 1993). Bu nedenle kıyma, köfte gibi tüketimin hızlı olduğu ürünlerde kontaminasyonu engellemek, mikrobiyal gelişimi durdurmak, ürün raf ömrünü arttırmak, hijyen kurallarına dikkat ederek halk sağlığını korumak için bir dizi gıda koruma tedbirleri, yöntemleri (tek veya kombinasyon halinde) uygulanabilmektedir (Mor-Mur ve Yuste 2010). Bu tedbirler kapsamında gıdaların ambalajlanması önemli bir yere sahiptir.

Gıda teknolojisinde önemli bir dal olan ambalajlama, hem kullanılan materyalin gıda ile temas etmesi hem de ekonomik ve kullanılabilirlik özellikleri

nedeniyle oldukça önemli bir araştırma alanıdır. Gıda ile temas eden ambalaj materyalinin gıda ile reaksiyona girme ihtimali uzun zamandır halk sağlığı açısından endişe oluşturan konuların başında gelir. Özellikle plastik materyal hem ucuz olduğu hem de kolay nakliye ve şekillendirme olanakları nedeniyle çok cazip görünse de gıda ile reaksiyona girip gıdalarda kalıntıya (migrasyon) neden olabilmektedir (Kızılırmak 1996). Gıdaların ambalajlanması çok eski tarihlere dayanır. Fakat zaman içerisinde ambalajlama şekilleri, teknikleri, kullanılan malzemeler gibi birçok faktör değişikliğe uğramıştır (Keleş 2002). Ambalaj sanayindeki bu hızlı değişimle birlikte klasik ambalajlamanın yanında birçok avantaj sağlayan yeni teknolojilerden birisi de yenilebilir ambalaj teknolojisi- yenilebilir film ve kaplamalardır (Tural ve ark. 2017). Yenilebilir film üretiminde temel materyal olarak sıklıkla kullanılan peyniraltı suyu maalesef süt işletmelerinde değerlendirilmemekte ve bu kıymetli yan ürün maalesef çevreye atılarak hem besin öğeleri kaybedilmekte hem de yüksek asit içeriği nedeniyle doğaya zarar vermektedir.

Bu çalışmada gıda sektöründe plastik ambalaj yerine kullanılabilecek, yenilebilir materyalden üretilmiş antimikrobiyal etkili alternatif bir doğal ambalaj materyali hazırlanarak, piyasada satışa sunulan köftelerde ara katman olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Ambalajlamada; esas ambalaj materyali olarak temini kolay, ucuz ve sütçülük artışı olarak boşa çıkan PAS ile doğal bitki yağları (kekik) ve çayları (hibiskus) ilave edilerek gıda kaynaklı zehirlenmelerinde en önemli patojenlerden olan *E. coli* O157: H7'ye karşı antimikrobiyal etkili yenilebilir film eldesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kullanılan Bitkiler

Kekik (*Thymus vulgaris* L.) ve hibiskus (*Hibiscus sabdariffa* L.) bitkileri Bağdat Baharat firmasından temin edilmiştir.

2.1.2. Kıyma Örnekleri

Çalışmada kullanılan orta yağlı, taze çekilmiş taze dana kıyması Kars il merkezindeki yerel bir marketten temin edilmiştir. Kıyma soğuk zincir altında kısa süre içerisinde Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı laboratuvarına getirilmiş ve aynı gün kullanılmıştır.

2.1.3. Yenilebilir Film Bileşenleri

Yenilebilir film üretiminde ana bileşen olarak peynir altı suyu proteini izolatu (Davisco Foods International Inc.-USA Hardline Nutrition, %96'lık), ZP (Acros Organics-179315000) ve plastikleştirici ajan olarak gliserol (Sigma Aldrich-15524) kullanılmıştır. Araştırmada kekik yağının homojen dağılımını sağlamak için gereken Tween 80 (Merck- 822187), filmlerin pH değerlerini ayarlamak için kullanılan NaOH (Merck-106462) ve HCl (Sigma Aldrich- 07102) gibi kimyasallar ile diğer bileşenler Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı laboratuvarından temin edilmiştir.

2.1.4. Referans Suş (*E. coli* O157: H7)

Araştırmada referans suş olarak kullanılan *E. coli* O157: H7 (ATCC 43895) Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı laboratuvarından temin edilmiştir.

2.1.5. Laboratuvar Malzemeleri- Alet ve Ekipmanlar

Kimyasal ve mikrobiyolojik analizler için gerekli sarf malzemeler ile çalkalamalı su banyosu, santrifüj, buzdolabı, pH metre, manyetik karıştırıcı ve kekik uçucu yağ eldesi için gerekli olan Clevenger cihazı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı laboratuvarlarından temin edilmiştir.

2.2. METOT

2.2.1. Bitki Ekstraktı, Uçucu Yağı ve Çayının Hazırlanması

Kekik içerisinde varsa eğer yabancı maddeler (çöp, sap vb.) ortamdan uzaklaştırılmıştır. Öğütücüde (Waring Commercial Blendor-32BL80) küçük parçalar haline getirilen kekik bitkisinden uçucu yağ elde etmek için, ortalama 175 gram kekik tartılarak 2000 ml hacimli cam balon içerisine alınmıştır. Daha sonra üzerine (1:9 oranında) ortalama 1575 ml distile su ilave edilerek Clevenger tipi distilasyon cihazına yerleştirilmiştir. Yaklaşık 3-5 saatlik distilasyon işlemi sonunda toplanan uçucu kekik yağı (KUY) 10 ml hacimdeki vida kapaklı ışık geçirmeyen koyu renkli şişelere alınmış ve daha sonra yenilebilir film üretiminde kullanılmak üzere 4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir (Akpınar ve ark. 2009). Yağın pH değeri pH metre (Thermo Orion-H06387) ile ölçülerek kaydedilmiştir.

Hibiskusa ait suda hazırlanan çay ve alkol ekstraktı kullanılmıştır. Öncelikle hibiskusun sıcak su infüzyonu ile çayı demlenmiştir. Bunun için hibiskus bitkisi blenderda parçalanarak toz haline getirilmiştir. Bitki örneğinden 5 g tartılarak steril bir behere aktarılmıştır. Daha sonra üzerine 50 ml (1:10 a/h) sıcak su (95-100°C) ilave edilmiştir. Ardından oda sıcaklığına kadar soğutularak kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süzöntü denemelerde kullanılmıştır. Her deneme için hibiskus bitki çayı (HÇ) taze olarak hazırlanmıştır (Sağdıç ve Özcan 2003). Çayın pH değeri pH metre ile ölçülerek kaydedilmiştir.

Öğütölmüş hibiskusun alkol ekstraktını hazırlamak için bitki örneğinden 5 g tartılarak steril bir behere aktarılmıştır. Daha sonra üzerine 50 ml (1:10 a/h) etil alkol (%30’luk) ilave edilerek, 75°C’de 1 saat manyetik karıştırıcıda ağızı açık bir beherde karıştırılmıştır. Ardından oda sıcaklığına kadar soğutularak kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süzöntü denemelerde kullanılmıştır. Her deneme için hibiskus bitki ekstraktı (HE) taze olarak hazırlanmıştır (Sirag ve ark. 2013). Ekstraktın pH değeri pH metre ile ölçülerek kaydedilmiştir.

2.2.2. Yenilebilir Film Solösyonları Kombinasyonlarının Belirlenmesi

Film üretiminde Kim ve Ustunol (2001a) tarafından geliştirilen metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Yenilebilir film solösyonu hazırlanmasında PSI temel materyal olarak kullanılmıştır. Filmin yapısını oluşturabilmek için farklı oranlarda PSI, farklı

konsantrasyonlarda gliserol ve yapıyı iyileştirmek için farklı pH denemeleri yapılarak filmin mümkün olduğunca şeffaf esnek ve kırılmayan yapıda olabilmesi için en uygun konsantrasyonların, ısıtma işlem normlarının ve uygun pH değerlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Sade film solüsyonu için temel bileşen olan PSI'nın farklı konsantrasyonları (%3, 5, 7), plastikleştirici olarak farklı oranlarda gliserol (%4, 5), yine film yapısının şekillenmesinde oldukça önemli etkiye sahip olan farklı pH değerleri (pH 4-9 aralığı) ve film solüsyonun tüm özelliklerini etkileyen farklı ısıtma işlem uygulamaları (70, 75, 85°C) denenmiştir.

Bu denemelerde PSI temel olmakla birlikte film materyaline farklı konsantrasyonlarda ZP solüsyonu (alkolde ve suda), KUY, hibiskus çayı (HÇ) ve hibiskus alkol ekstraktı (HE) ilave edilerek öncelikle filmin yapısını bozmadan filme ilave edilebilecek maksimum oranlar, yapıyı destekleyecek en uygun pH değeri ve film yapısının şekillenmesinde çok etkili olan doğru ısı normu tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu aşamada özellikle film materyalinin aşırı kurumaması-kurumamasını, kırılmamasını, esnekliğini yitirmemesi ve kullanılabilirliğini bozmayacak katkı maddeleri konsantrasyonunu belirlemek en önemli hedef olarak belirlenmiştir.

Ön denemelerde %0,75, 1, 1,5, 2 ve 3 konsantrasyonlarında KUY %2, 4, 6 ve 10 konsantrasyonlarında HE (suda ve alkolde), %1, 2, 4 ve 5 konsantrasyonlarında ZP (suda ve alkolde) ve her deneme için farklı pH değerleri (pH 4-9 aralığı) test edilmiştir.

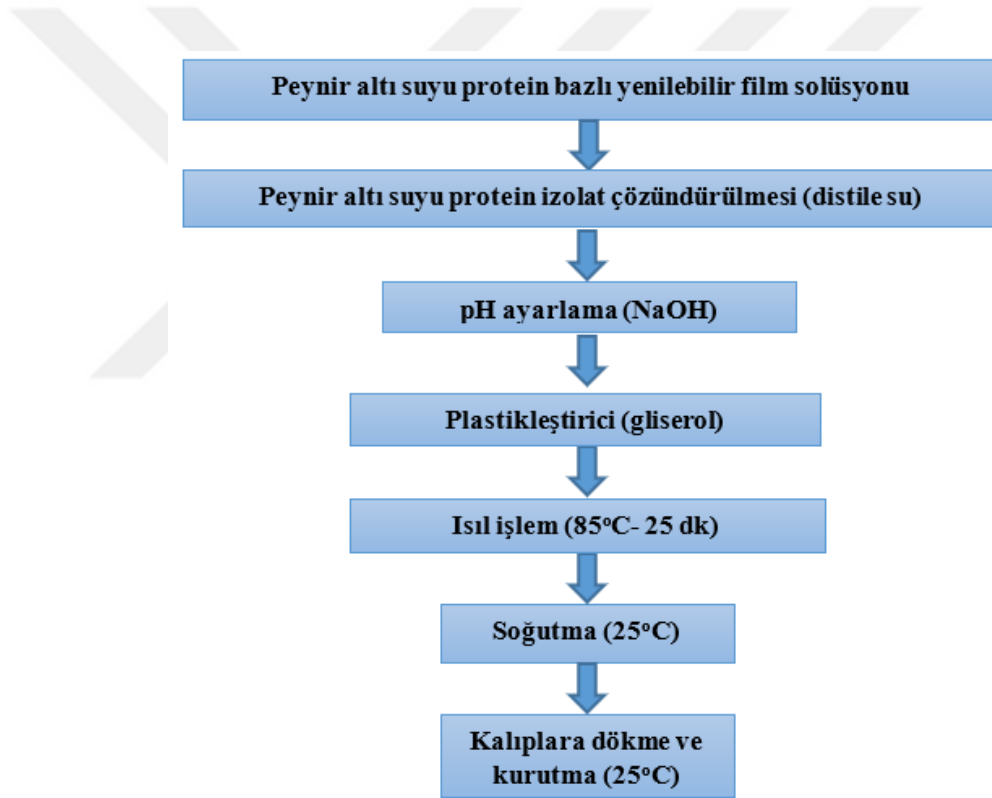
Denemelerde kullanılan KUY'un film solüsyonu içerisinde homojen dağılımını sağlamak amacıyla Tween 80 (Merck-822187) kullanılmıştır. Bu amaçla 10 ml distile su içerisinde 0,1 ml Tween 80 ve farklı konsantrasyonlarda KUY manyetik karıştırıcıda sürekli yüksek hızda karıştırılarak homojen bir dağılım sağlanması amaçlanmıştır.

Ön denemelerde başarılı bir film yapısını sağlayan bileşen konsantrasyonları ve pH değerleri tespit edildikten sonra film materyallerinin hazırlanması ve deneme gruplarında kullanılacak bileşenlerin antimikrobiyel etkili en düşük konsantrasyonların (MİK) belirlenmesi aşamasına geçilmiştir.

2.2.3. Antimikrobiyal Etki Denemelerinde Kullanılan Filmlerin Hazırlanması

Sade Film Solüsyonu

PSI'nın ağırlıkça (%5 a/h) sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 4 N NaOH ile pH 7-8 aralığında olacak şekilde çözeltinin pH'sı ayarlanmıştır. Çözelti üzerine 5 ml gliserol ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Çözelti 85°C'deki su banyosunda 25 dk ısıtılma tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulan solüsyon steril plastik petri kutularına (90x17mm) ortalama 25 ml dökülerek oda sıcaklığında 24-36 saat kurumaya bırakılmıştır (şekil 3).

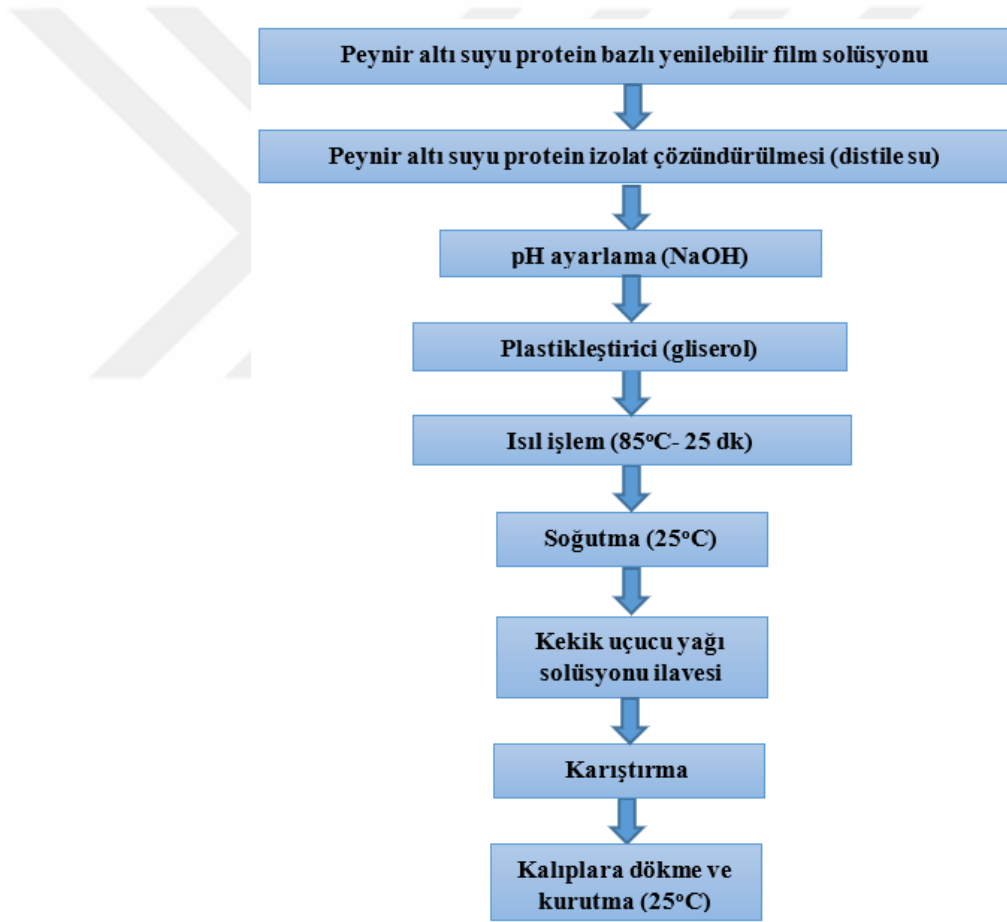


Şekil 3: Sade Film Solüsyonu

Kekik İlaveli Film Solüsyonları

Ön denemeler sonucu kullanılabilir kekik konsantrasyonları belirlenerek hem film materyalinin yapısını bozmayacak hem de özellikle yoğun bitki kokusu vermeyecek kekik yağı konsantrasyonu belirlendikten sonra uygun görülen konsantrasyonlar ile MİK denemelerinde kullanılacak film yapımına geçilmiştir.

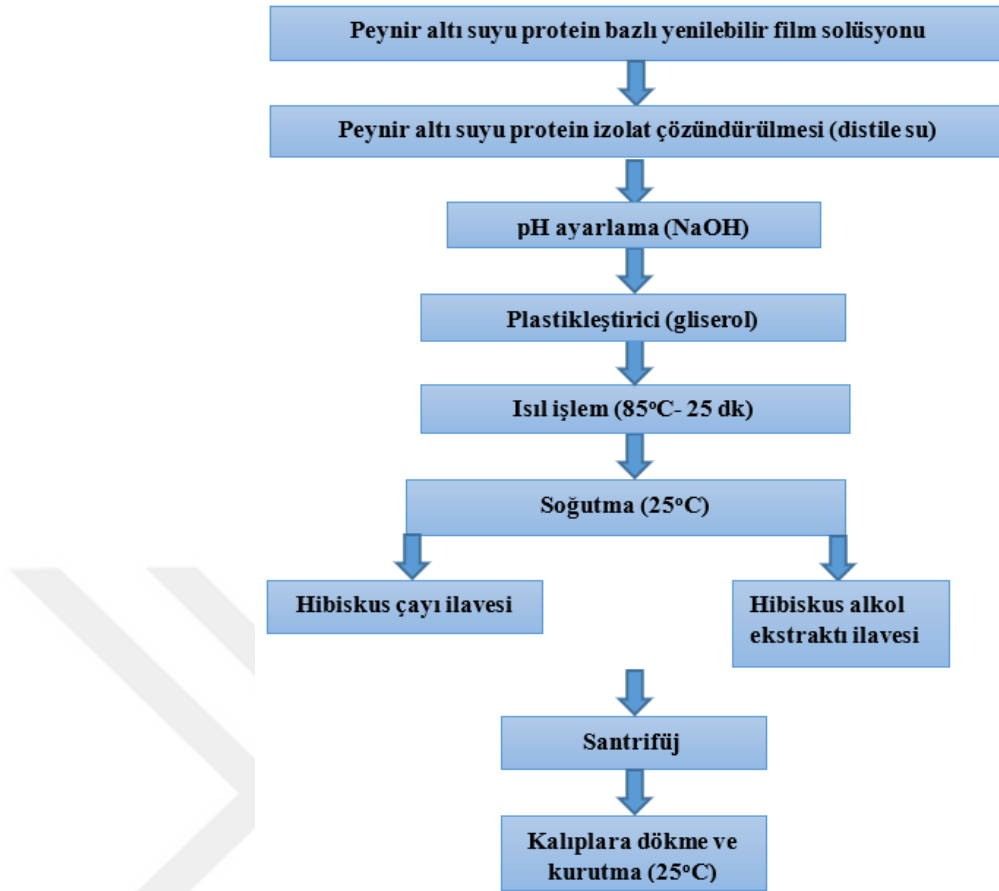
PSI'dan 5 g tartılarak 85 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür. Manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 4 N NaOH ile pH 7-8 aralığında olacak şekilde çözeltinin pH'sı ayarlanmıştır. Çözelti üzerine 5 ml gliserol ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Çözelti 85°C'deki su banyosunda 25 dk ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulan solüsyon üzerine farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı kekik (%0,75, 1, 1,5 ve %2) uçucu yağlarına ait solüsyonlar ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Steril plastik petri kutularına ortalama 25 ml dökülerek oda sıcaklığında 24-36 saat kurumaya bırakılmıştır (şekil 4).



Şekil 4: Kekik Uçucu Yağı İlaveli Film Solüsyonu

Hibiskus Alkol Ekstraktı ve Hibiskus Çayı İlaveli Film Solüsyonlarının Hazırlanması

Ön denemeler sonucu kullanılabilir HÇ ve HE konsantrasyonları belirlenerek film materyalinin yapısını bozmayacak HÇ konsantrasyonu belirlendikten sonra uygun görülen konsantrasyonlar ile MİK denemelerinde kullanılacak film yapımına geçilmiştir. PSI'nın ağırlıkça (%5 a/h) sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 4 N NaOH ile pH 8,5 olacak şekilde çözeltinin pH'sı ayarlanmıştır. Çözelti üzerine 5 ml gliserol ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Çözelti 85°C'deki su banyosunda 25 dk ısıtılma tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulan solüsyon üzerine farklı konsantrasyonlarda HÇ (%2, 4, 6) ya da HE (%2, 4, 6) yavaş yavaş ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Solüsyon, manyetik karıştırıcıda 30 s kadar yavaşça karıştırılmıştır. Daha sonra 4100 rpm hızda 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant steril plastik petri kutularına ortalama 25 ml dökülerek oda sıcaklığında 24-36 saat kurumaya bırakılmıştır (şekil 5).



Şekil 5: Hibiskus Çayı ve Hibiskus Alkol Ekstraktı İlaveli Film Solüsyonu

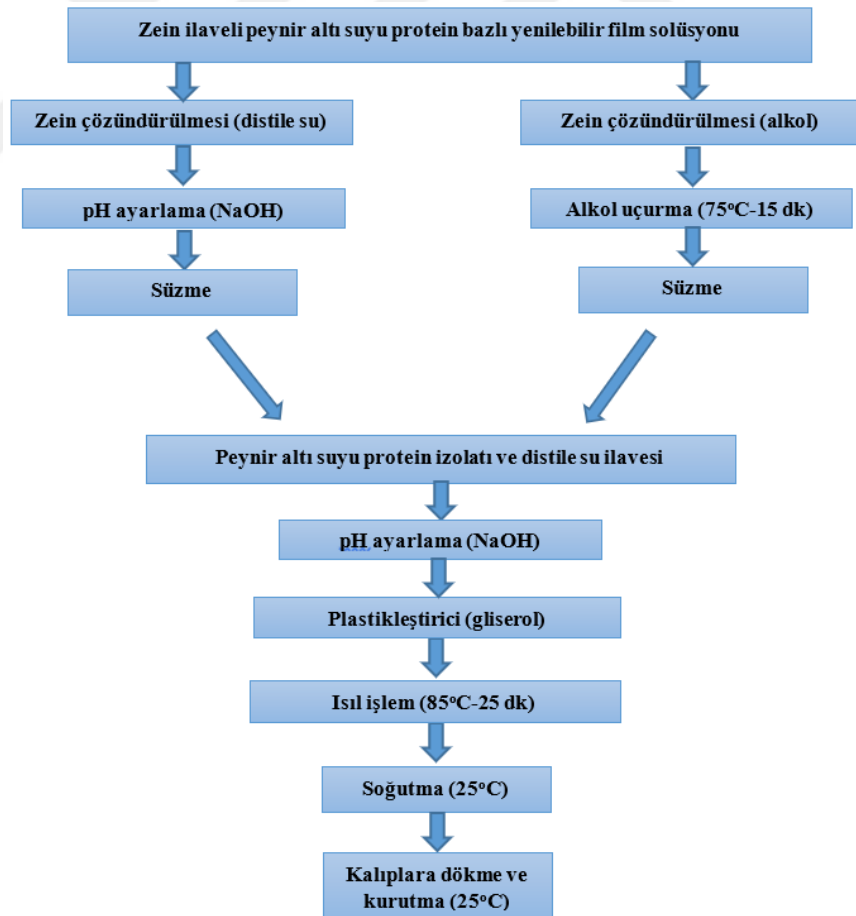
Zein (Suda) İlaveli Film Solüsyonu

Ön denemeler sonucu kullanılabilir zein konsantrasyonları ve çözünebildiği ortamdaki pH değerleri (suda pH:11 ve üzeri vb. gibi) belirlenerek film materyalinin yapısını bozmayacak zein konsantrasyonu ve pH değeri belirlendikten sonra uygun görülen konsantrasyonlar ile MİK denemelerinde kullanılacak film yapımına geçilmiştir. Zeinin ağırlıkça (%1 ve 2 a/h) sulu çözeltisi hazırlanmıştır. 4 N NaOH ile pH 11-12 olacak şekilde çözeltinin pH'sı ayarlanarak manyetik karıştırıcıda iyice karıştırıldıktan sonra solüsyon kaba filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. PSI ağırlıkça (%5 a/h) oluncaya kadar süzöntüye distile su ve PSI ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 4 N NaOH ile pH 7-8 olarak ayarlanmıştır Solüsyon üzerine 5 ml gliserol ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Solüsyon 85°C'deki su banyosunda 25 dk ısıtma tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına gelinceye

kadar soğutulan solüsyon plastik petri kutularına ortalama 25 ml dökülerek 24-36 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (şekil 6).

Zein (Alkolde) İlaveli Film Solüsyonu

Zein ağırlıkça (%1 ve 2 a/h) istenen oranlarda %50 alkol + %50 su karışımında çözündürülmüştür. Manyetik karıştırıcı ile iyice karıştırıldıktan sonra 75°C’de etüvde 15 dk süreyle alkol uçurulmuştur. Ardından solüsyon filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. PSI ağırlıkça (%5 a/h) oluncaya kadar süzöntüye distile su ve PSI ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 4 N NaOH ile pH 7-8 olarak ayarlanmıştır. Solüsyon üzerine 5 ml gliserol ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Solüsyon 85°C’deki su banyosunda 25 dk ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulan solüsyon plastik petri kutularına ortalama 25 ml dökülerek 24-36 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (şekil 6).



Şekil 6: Zein İlaveli Film Solüsyonu

2.2.4. Bakteri Aktif Kültürünün Hazırlanması

E. coli O157: H7 liyofilize kültürün aktifleştirilmesi için Brain Heart Infusion (BHI) Broth'a (Fluka-53286) ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası aktif kültürden SMAC Agara (Neogen-NCM0167A) ekim yapılarak saflık kontrolünden geçirilen kültür BHI yatık agara (Merck-1.03870) ekilerek 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası stok kültür olarak 4°C'de muhafaza edilmiştir. Denemeler için 10 ml Tryptic Soy Broth (Neogen-004) besiyerine stok kültürden 100 µl ilave edilerek, 37°C'da 24 saat inkübe edilerek taze kültür hazırlanmıştır. Taze kültürden fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak MİK belirlemede kullanılacak bakteri kültürünün yoğunluğu McFarland 0,5'e göre ayarlanmıştır (Yaman 2010).

McFarland 0,5'e göre ayarlaması yapılan kültürün bakteri yükünün belirlenmesi için uygun dilüsyonlar hazırlanarak SMAC agara yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası koloni sayımı yapılarak bakteri yoğunluğu kob/ml olarak hesaplanmıştır.

2.2.5. Yenilebilir Film ve Katkıların (hibiskus/zein/kekik uçucu yağı) Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada yenilebilir film hazırlanmasında farklı konsantrasyonlarda kekik yağı ve yine farklı konsantrasyonlarda hibiskustan (çayı ve alkol ekstraktı) faydalanılmıştır. Çalışmada hem ekonomik hem de duyuşsal anlamda kullanılabilirliği olan ama aynı zamanda antimikrobiyal açıdan en etkili ve en düşük inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için *E. coli* O157: H7 suşuna karşı farklı konsantrasyonlarda etken madde denemeleri yapılmıştır (Appendini ve Hotchkiss 2002). Hazırlanan filmlerin de aynı patojene karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Deneme konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılan gruplar ve özellikleri tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3: Deneme Konsantrasyonlarının Belirlenmesinde Kullanılan Gruplar ve Özellikleri

Grup	İçerik
1	Sade film
2	Hibiskus çayı (%2 suda) ilaveli film
3	Hibiskus çayı (%4 suda) ilaveli film
4	Hibiskus çayı (%6 suda) ilaveli film
5	Hibiskus ekstraktı (%2 alkolde) ilaveli film
6	Hibiskus ekstraktı (%4 alkolde) ilaveli film
7	Hibiskus ekstraktı (%6 alkolde) ilaveli film
8	Kekik (%0,75) ilaveli film
9	Kekik (%1) ilaveli film
10	Kekik (%1,5) ilaveli film
11	Kekik (%2) ilaveli film
12	Zein (%1 alkolde) ilaveli film
13	Zein (%2 alkolde) ilaveli film
14	Zein (%1 suda) ilaveli film
15	Zein (%2 suda) ilaveli film
16	Kekik uçucu yağı (%0,75)
17	Kekik uçucu yağı (%1)
18	Kekik uçucu yağı (%1,5)
19	Kekik uçucu yağı (%2)
20	Hibiskus çayı
21	Hibiskus ekstraktı
22	Zein suda solüsyonu
23	Zein alkol solüsyonu

MİK belirleme çalışmalarında agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Denemelerde *E. coli* O157: H7 suşuna karşı hem KUY, hibiskus çayının ve ekstraktının ayrı ayrı MİK konsantrasyonları hem de bu gruplara ait filmlerin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. *E. coli* O157: H7 suşunun 18 saatlik aktif kültürünü içeren Tryptic Soy Broth (Neogen-004) besiyerinden steril fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılarak Mcfarland 0,5'e göre yoğunluk ayarlaması yapılmış ve daha sonra Mueller-Hinton Agar (Oxoid-CM0337) yüzeyine yayma metodu ile 100 µl ekim yapılmıştır. Besiyeri yüzeyine her petriye en fazla 4 adet olacak şekilde steril boş diskler (Oxoid CT998B) yerleştirilerek diskler farklı konsantrasyonlarda hazırlanan KUY, HÇ, HE ve zein (alkol ve su) solüsyonundan 100µl yavaş ve dikkatli bir şekilde pipetlenmiştir. Ayrıca yine yoğunluğu ayarlanmış referans suş ekilmiş besiyeri yüzeyine her petriye en fazla 4 adet olacak şekilde önceden hazırlanmış farklı bileşenler içeren yenilebilir filmlerden 1x1cm ebatında küçük parçalar kesilerek yerleştirilmiştir. Hazırlanan tüm petriler 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda petrilerde inhibisyon zonu gözlenen antimikrobiyal etkiye sahip gruplar ve konsantrasyonları tespit edilmiştir.

2.2.6. Köfte Gruplarının Hazırlanması ve Film ile Paketleme

Köfte yapımı için gerekli olan dana kıyması (%15-20 yağlı) yerel bir marketten temin edilmiştir. Soğuk zincirde muhafaza edilerek aseptik koşullarda laboratuvara getirilen kıymalardan hamburger köftesi yapılmıştır. Kıymalara %1-2 oranında tuz ilave edilerek karıştırılmıştır. Homojen hale gelen kıymadan kontrol grubu köfteler için bir miktar ayrıldıktan sonra kalan kıymaya *E. coli* O157: H7 suş ilavesi yapılmıştır. McFarland 0,5'e göre ayarlanmış aktif kültürden 10^5 - 10^6 kob/g olacak şekilde hesaplanarak kıymaya suş katılmıştır. Tüm gruplar için hazırlanan kıymalar yoğurularak 50-60 g ağırlığında ve 10 cm çapında şekil verilmiştir.

Çalışmada hem tuzlanan kıymadan hem de suş inoküle edilen kıymadan mikrobiyolojik (*E. coli* O157: H7 varlığı ve sayısı, toplam psikrofil canlı sayısı, toplam mezofil canlı sayısı, koliform grubu bakteri sayısı, fekal koliform bakteri sayısı) ve kimyasal (yağ ve tuz) analizler için örnek alınarak, analizler yapılincaya kadar örnekler 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Bu aşamadan sonra çalışmada kullanılacak kontrol grupları ve deneme grupları hazırlanmıştır. Gruplar tablo 4'te verildiği şekilde oluşturulmuş ve yenilebilir film eldesinde kullanılan bileşenlere göre adlandırılmıştır.

Tablo 4: Çalışmada Kullanılan Kontrol ve Deneme Grupları

Grup	İçerik			
	Temel film içeriği	Katkı maddesi	Köftede Referans suş	İsimlendirme
1	Plastik film	Yok	Yok	KN (Kontrol Negatif)
2	Plastik film	Yok	Var	KP (Kontrol Pozitif)
3	Sade film	Yok	Var	SYF (Sade Yenilebilir Film)
4	Sade film	Kekik (%2) ilaveli film	Var	KYF-A (Kekik Yenilebilir Film %2)
5	Sade film	Kekik (%1,5) ilaveli film	Var	KYF-B (Kekik Yenilebilir Film %1,5)
6	Sade film	Hibiskus çayı (%6) ilaveli film	Var	HYF (Hibiskus Yenilebilir Film)
7	Sade film	Zein- alkolde (%2) ilaveli film	Var	ZYF-A (Zein Yenilebilir Film %2)
8	Sade film	Zein- suda (%1) ilaveli film	Var	ZYF-B (Zein Yenilebilir Film %1)

Hazırlanan köfteler gruplara göre uygun filmler ile köfte kutusuna yerleştirilmiştir. Köfteler uygun filmler ile “yenilebilir film + köfte + yenilebilir film” düzeninde yerleştirilerek bir kutuda toplam 6 adet köfte (7 adet film) olacak şekilde kapaklı ambalaj kutularına (13 x 11 cm/ polipropilen) konmuştur. Kontrol gruplarında köfteler arasına yenilebilir film yerine yenilebilir film ebadında kesilerek hazırlanan plastik film yerleştirilmiştir. Köftelerin yerleştirildiği kapaklı kutuların tamamı buzdolabında 4°C’de muhafaza edilmiştir. Muhafazanın farklı günlerinde (0, 3., 5., 7., 10. ve 12. günlerinde) her grup için mikrobiyolojik, kimyasal, fiziksel ve duyu analizler gerçekleştirilmiştir.

Tüm çalışma 3 tekrar şeklinde yürütülmüştür.

2.2.7. Analizler

Çalışmada köfte yapımı için alınan kıymaya, köfte hazırlarken suş katılan kıymaya ve paketlenmiş köfte gruplarına belirlenen muhafaza günlerinde uygulanan analizler aşağıda verilmiştir.

2.2.7.1. Mikrobiyolojik Analizler

Taze kıyma, suş katılan kıyma ve muhafazanın farklı günlerinde her gruba ait alınan köfte örneklerinden bek alevi yanında hassas terazide aseptik koşullarda 25 g tartılarak 225 ml steril peptonlu su (%0,1) içinde homojenize edilmiştir. Daha sonra uygun dilisyonlar hazırlanarak ilgili mikroorganizmaya ait besiyerine yayma yöntemi ile ekim yapılarak besiyerlerinin uygun şartlarda inkübasyonları sağlanmıştır.

2.2.7.1.1. Toplam Mezofil ve Psikrofil Aerob Canlı Sayısı

Plate Count Agar (PCA, Oxoid CM 325) besiyerine, hazırlanan dilisyonlardan yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Petriler mezofil grup için 37°C'de 18-24 saat, psikrofil grup için 4°C'de 5-7 gün inkübe edildikten sonra besiyerlerinde üreyen kolonilerin sayımı yapılmıştır (Harrigan 1998).

2.2.7.1.2. Koliform ve Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı

Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL, Oxoid CM 107) besiyerine, hazırlanan dilisyonlardan yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak koliform grubu bakteri sayısı için 37°C'de 18-24 saat, fekal koliform grubu bakteri sayısı ise 44,5°C'de 18-24 saat inkübasyon sağlanmıştır. Inkübasyon sonunda besiyerinde üreyen kırmızımsı presipitat zonu ile çevrili koyu kırmızı koloniler değerlendirilerek sayım yapılmıştır (Harrigan 1998).

2.2.7.1.3. *Escherichia coli* O157: H7 Bakteri Sayımı

Taze kıymada *E. coli* O157: H7 varlığını araştırmak için 25 g kıyma tartılarak 225 ml EC broth (MERCK-10765) içinde homojenize edilmiş ve 42°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda zenginleştirmeden SMAC agara çizme yöntemiyle ekim yapılmış petriler 42°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda petride üreyen renksiz sorbitol negatif tipik koloniler değerlendirilmiştir. Suş katılan köfte gruplarında *E. coli* O157: H7 bakteri sayımı için SMAC agara, hazırlanan

dilisyonlardan yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak petriler 37°C’de 18-24 saat inkübe edildikten sonra üreyen koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998).

2.2.7.2. Kimyasal Analizler

2.2.7.2.1. Yağ tayini

Taze kıymada yağ tayini yapmak için modifiye Babcock yöntemi kullanılmıştır. Poley şişesi içerisine 9 g kıyma örneği konarak üzerine 10 ml sıcak su (90-95°C) eklenmiş ve bir cam baget yardımıyla kıyma homojenize edilmiştir. Daha sonra şişeye 15 ml derişik (%95-97’lik) H₂SO₄ (Sigma Aldrich- 07208) ilave edilmiştir. Şişenin tıpası kapatılmış ve boyun kısmından tutularak kıymanın tamamen parçalanması için şişe yavaş yavaş yumuşak bir zemin üzerinde çalkalanarak yanmanın tamamlanması sağlanmıştır. Poley şişesinin ölçülü boyun kısmında toplanan yağ seviyesi okunarak kıymadaki yağın miktarı % olarak belirlenmiştir (Gökalp ve ark. 1999).

2.2.7.2.2. Tuz tayini

Kıymalar, hamburger köfte haline getirilirken %1-2 oranında tuz ilave edilerek yoğurulmuştur. Daha sona 5 g örnek alınarak stomayer poşeti içerisinde sıcak su yardımıyla iyice ezilmiştir. Ardından sulu kısım süzgeç kâğıdından süzülerek 500 ml’lik balona aktarılmıştır. Balondaki süzöntü soğuduktan sonra hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Daha sonra süzöntüden 25 ml alınarak üzerine 2-3 damla %5’lik potasyum kromat (K₂CrO₄) (Merck-104952) çözeltisi eklenmiştir. Ardından 0,1 N gümüş nitrat (AgNO₃) (Merck-101512) çözeltisi ile kiremit kırmızısı renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan gümüş nitrat miktarı not edilerek formül yardımıyla kıymadaki tuz miktarı % olarak hesaplanmıştır (Case ve ark. 1985).

2.2.7.2.3. pH değeri

Taze kıymada ve hazırlanan köftelerde pH ölçümü pH metre ile yapılmıştır. Bu amaçla 10 g örnek tartılarak üzerine 100 ml distile su eklenmiş ve örnekler homojen hale getirildikten sonra pH metre ile pH ölçümleri yapılmıştır (Gökalp ve ark. 1999).

2.2.7.2.4. Kokuşma Testi (Eber)

Kokuşma testi için deney tüpü içerisine 3 ml Eber reaktifi aktarılmıştır. Köftelerden analiz günlerinde bir pens yardımıyla fındık büyüklüğünde parçalar alınarak deney tüplerinin iç cidarlarına değdirmeden eber ayıracına doğru yaklaştırılmış, fakat ayraç ile köftenin temas etmesi önlenmiştir. Köftelerde kokuşmaya bağlı olarak şekillenmesi muhtemel NH_3 varlığından kaynaklı duman çıkışı kokuşma pozitif olarak değerlendirilmiştir (Vural 1992).

Eber reaktifi analiz günlerinde taze olarak 1 kısım eter (Merck-100859), 3 kısım alkol (%96'lık) (Sigma Aldrich-32221) ve 1 kısım HCl (d: 1,125) asitten hazırlanmıştır.

2.2.7.3. Duyusal Analizler

Duyusal analizler hem hamburger köfteler hem de yenilebilir filmler için yapılmıştır. Her bir analiz gününde köfteler ve filmler renk, koku ve yapı yönünden incelenmiştir. Ruiz ve ark. (2001) tarafından kullanılan analiz veri tablosu modifiye edilerek kullanılmıştır (tablo 5).

Tablo 5: Duyusal Analiz Değerlendirme Kriterleri

	Özellikler	Özelliğin Açıklaması	Değerlendirme
Et	Et rengi	Kırmızı/kırmızımtırak	1. Normal et rengi 2. Bozulmaya bağlı renk değişimi 3. Filme bağlı renk değişimi
	Et kokusu	Ambalaj kutusu açıldığında köfteden gelen koku	1. Normal et kokusu 2. Kokuşmaya bağlı koku değişimi 3. Filme ait koku değişimi
Film	Film rengi	Kendi renginde veya etin rengini alması	1. Normal (kendi rengi) 2. Renk değişikliği var
	Film kokusu	Bitki ekstraktının veya bileşenlerinin kokusu	Koku şiddetinin durumu 1. Çok, 2. Az, 3. Çok az
	Film yapısı	Filmin bütünlük hali	1. Sağlam 2. Parçalanmış veya yumuşamış

2.2.7.4. İstatistiksel Analizler

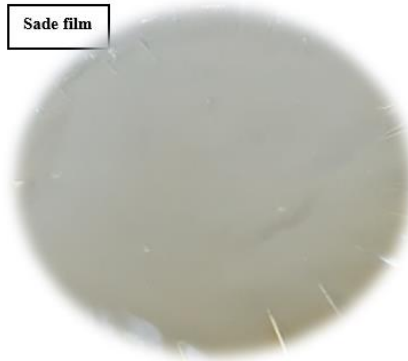
Deneme ve kontrol gruplarına ait farklı muhafaza günlerindeki analizlerde elde edilen verilere General Linear Models analizinin Repeated Measures prosedürü uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklılık Duncan çoklu karşılaştırma yöntemi ile test edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 20 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çimen 2015).

3. BULGULAR

3.1. Yenilebilir Film Deneme Sonuçlarına Ait Bulgular

Sade film solüsyonu için temel bileşen olarak PSI'nın farklı konsantrasyonları (%3, 5, 7), plastikleştirici olarak farklı oranlarda gliserol (%4, 5), yine film yapısının şekillenmesinde oldukça önemli etkiye sahip olan farklı pH değerleri (pH 4-9 aralığı) ve film solüsyonun tüm özelliklerini etkileyen farklı ısıtma uygulamaları (70, 75, 85°C) denenmiştir. En başarılı sonuçlar yenilebilir doğal film üretiminde kullanılmıştır.

Film solüsyonu içerisine ilave edilen PSI konsantrasyonundaki farklılıklar proteinin su içerisindeki çözünürlüğünü ve yapı için gerekli olan gliserol miktarını etkilemiştir. Farklı kombinasyonlar denendiğinde “proteinin fazla (%7), gliserolün az (4)” kullanılmasıyla ısıtma işlemi sonrası solüsyonun homojen olduğu görülmüştür. Bu şekilde elde edilen filmlerin kısa sürede kuruduğu, film eldesinden sonraki kuruma sürecince filmlerin daha kırılkan olduğu, film kenar kısımlarının erken kuruduğu görülmüştür. “Proteinin az (%3), gliserolün fazla (%5)” kullanıldığı durumlarda ise, filmlerin kuruma sürelerinin ilk duruma göre uzadığı, filmlerin daha şeffaf olduğu görülmüştür. Bu bulgular doğrultusunda protein oranı ile gliserol oranı 1:1 şeklinde hazırlanmış ve önceki iki duruma göre filmlerin şeffaflık, kuruma süresi, mukavemet yönleri bakımından daha kabul edilebilir seviyede olduğu görülmüştür (resim 1).

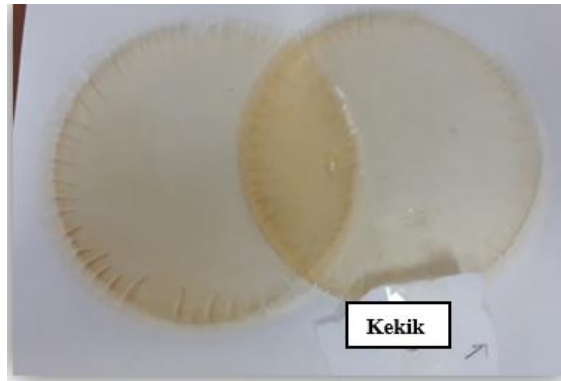


Resim 1: Sade Yenilebilir Film (SYF)

Doğal filmlerin pH değerleri asidik (<7), nötr (7) ve bazik (>7) olarak denenmiştir. pH değişikliği film solüsyonlarının rengi ve yapısı üzerinde etkili olmuştur. Film solüsyonlarından bazik karakterli olanlar daha koyu sarı renkte olup

yapıda pıhtılaşma görülmezken, asidik karakterli olanların rengi daha açık olup, solüsyonda karıştırılamayacak düzeyde pıhtılaşma ve çökme meydana gelmiştir.

Elde edilen KUY'un pH değeri 6,88 olarak belirlenmiştir. KUY solüsyonunun ilave edilmesiyle film solüsyonlarının renginde hafif bulanıklık oluşturmuştur. KUY miktarındaki artış SYF solüsyonuna göre bulanıklık seviyesini daha da arttırmış, elde edilen filmlerin kuruma süresini de kısaltmıştır. KUY %1,5 ve %2 oranları %3 oranına göre birçok yönden (film içindeki kekik kokusu algısı, kekik solüsyonunun yenilebilir film çözeltisindeki homojen dağılımı, film mukavemeti) daha başarılı bulunmuştur (resim 2). Aynı şekilde yüksek konsantrasyon tercihi (%3) filmlerin kuruma süresini kısaltmış, fakat filmlerde çatlamalara neden olmuştur. Düşük konsantrasyon (%0,75) KUY kullanımı mukavemet ve kekik kokusu algısı bakımından başarılı olmuştur. KYF solüsyonlarına ısıtma işlem sonrası, solüsyon soğuduktan sonra kademeli olarak KUY ilave edilmiştir. Sıcak olarak ilave edilen emülsiyonların kırıldığı, homojen bir film solüsyonu elde edilemediği görülmüştür. KUY emülsiyonu önceden hazırlanarak vortekslenmiş (yaklaşık 5 dk), film solüsyonlarına ilave edilip petri kutularına aktarılırken sık sık karıştırılmıştır. Emülsiyonun hazırlanması ve film solüsyonlarına ilave edildiği aşamalarda yapılan yetersiz karıştırma sonucunda, emülsiyonun kırıldığı, petri kutularında kekik yağının damlacık halinde yüzeyde toplandığı görülmüştür.

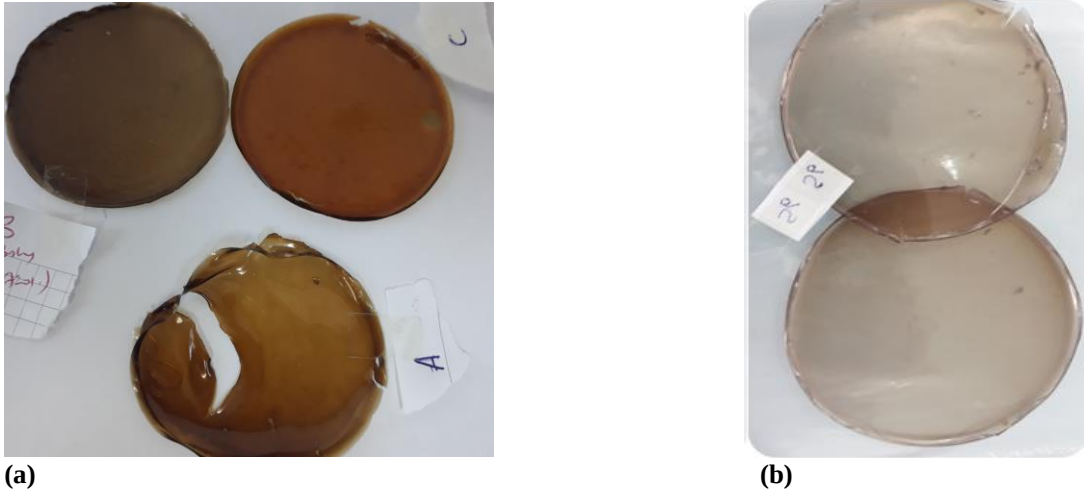


Resim 2: Kekik Uçucu Yağı İlaveli Filmler (KYF)

Hibiskus bitkisinden elde edilen çay ve ekstraktın pH üzerinde farklı etkiye sahip olduğu görülmüştür. Asidik karakterli ve koyu kırmızı renkte olan HÇ (pH: 2,60) ve HE (pH: 3,09)'nin nötr doğal film çözeltilerine ilave edilmesiyle çözelti renginin

eflatuna döndüğü görülmüştür. Çözelti içerisine ilave edilen HÇ ve HE'nin miktarındaki artış çözelti rengini eflatundan mavi tonlarına doğru değiştirmiştir. Aynı şekilde ısıtım işlem sonrası çay ve ekstraktların ilavesi, doğal film solüsyonunun pıhtılaşmasına neden olurken, HÇ ve HE'nin miktarındaki artış pıhtılaşmanın şiddetini daha da arttırmıştır. Çözelti rengi ve elde edilecek filmin şeffaflığı ve ısıtım işlem sonucu protein denatürasyonundan kaynaklı pıhtılaşma probleminin minimize edilmesi noktasında HYF'nin pH değeri 8-8,5 aralığında denenmiş ve başarılı bulunmuştur. %2, 4, 6, 8 ve 10 konsantrasyonlarında kullanılan HÇ ve HE ilave edilen film çözeltilerinde %8 ve %10 konsantrasyonlarında film solüsyonları kullanılamayacak düzeyde pıhtılaşmış yapıya sahiptir. Bu film solüsyonlarının santrifüj (4100 rpm x 5 dk) sonrası elde edilen süpernatantları ile hazırlanan filmlerin oda sıcaklığında 7 gün boyunca kurumadığı görülmüştür. HYF elde edilirken, bazı denemelerde pH: 8-8,5 aralığındaki HE ve HÇ, film solüsyonlarına proses sürecinin başında ilave edilmiştir. Asitlik ve sıcaklığın PSI üzerindeki olumsuz etkisini minimize etmek için sıcaklık ve süre 70°C-15 dk ve 75°C-15 dk olarak değiştirilmiştir. Isıtım işlem sonrası film solüsyonlarında pıhtılaşma görülmezken, filmlerin kuruma süresinin uzadığı (36-48 saat) ve filmin koyu kiremit ve siyah renk aldığı belirlenmiştir (resim 3a). HYF için pH 8-8,5 ve ısıtım işlemin 85°C'de 25 dk olarak belirlenmesi, HE ve HÇ'nin ısıtım işlem sonrası ilave edilmesi diğer denemelere göre daha başarılı bulunmuştur (resim 3b).

HÇ ve HE ısıtım işlem sonrası HYF çözeltileri soğuduktan sonra (oda sıcaklığı) düşük hızda yaklaşık 30 s süreyle yavaş yavaş ilave edilmiştir. Yüksek hızda HÇ ve HE'nin hızlı bir şekilde ilave edilmesi çözeltideki pıhtılaşma seviyesini arttırmıştır. Kısa süreli ve kademeli olarak ilave edilerek elde edilen HYF yapı olarak daha başarılı bulunmuştur.



Resim 3: Hibiskus Çayı ve Ekstraktı İlaveli Filmler (a,b)

ZP farklı konsantrasyonlarda (%1, 2, 4 ve 5) farklı çözücüler içerisinde hazırlanarak (alkol ve su) film çözeltisine ilave edilmiştir. Konsantrasyon tespiti film çözeltisinde kullanılacak toplam protein miktarı (PSI + ZP) baz alınarak yapılmıştır. PSI miktarı sabit tutulduğunda (%5) bunun üzerine ZP ilavesi (%4 ve 5) yapıldığında yapının çok sert olduğu, film çözeltisinde homojenizasyonun sağlanamadığı görülmüştür. Her iki proteinin aynı anda, aynı çözücüler içerisinde çözündürme işleminde de başarısızlık görülmüştür. Bunun için toplam protein miktarı dikkate alınarak (%5) film çözeltisi hazırlanmış ve farklı çözücü içerisinde farklı pH değerleri kullanılarak elde edilen filmlerde başarı sağlanmıştır. ZP ve PSI'nın farklı çözücüler ve pH değerlerinde çözünürlüğü de farklı olmuştur. Bu doğrultuda ZP hem alkolde hem de su içerisinde çözündürülmüştür. İyi çözündürülmeyen ZYF çözeltiğinde ısıtma işlem sonrası bulanık bir yapının oluştuğu, kuruma sürecinde ise çatlakların meydana geldiği görülmüştür (resim 4). ZP'nin alkolde ve pH 7-8'de çözünürlüğü ile, su içerisinde pH 11-12 aralığındaki çözünürlüğü başarılı bulunmuştur. Toplam protein miktarı (%5) dikkate alınarak hazırlanan filmlerde (PSI+ZP), ZP'nin alkolde (%2) ve suda (%1) ile elde edilen filmlerin daha başarılı olduğu görülmüştür. ZYF-B, ZYF-A'ya göre daha şeffaf olmasına rağmen, mukavemet yönünden başarısız bulunmuştur.



Resim 4: ZYF Kuruma Sürecinde Meydana Gelen Çatlamalar

Tablo 6’da ön denemeler sonucu yapı, kıvam, renk, şeffaflık vb. yönlerden en başarılı sonuç veren film kombinasyonları verilmiştir.

Tablo 6: Yenilebilir Film Gruplarına Ait Parametreler

Grup	PSI (g)	Zein (g)	Gliserol (ml)	pH	Kekik (ml)	Hibiskus (ml)	Sıcaklık (°C)	Isıl işlem süresi (dk)
KYF-A	5		5	7-8	2		85	25
KYF-B	5		5	7-8	1,5		85	25
HYF	5		5	8-8,5		6	85	25
SYF	5		5	7-8			85	25
ZYF-A	3	2	5	7-8			85	25
ZYF-B	4	1	5	7-8			85	25

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1)

3.2. Yenilebilir Film ve Katkılarının Antimikrobiyal Etki Test Bulguları

KUY ile HÇ ve HE’nin *E. coli* O157: H7 üzerine antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Film içeriğine eklemek yerine KUY, HÇ ve HE’nin direkt boş kâğıt diske emdirilmesi sonucu filmlerin aksine KUY ile HÇ ve HE’nin bakteri ile direkt temas halinde olması antimikrobiyal etkiyi güçlendirmiştir. Aynı etken maddeler ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan filmlerde ise özellikle uçucu yağın çok daha etkili olduğu belirlenmiştir. Hibiskusun yüksek asitliği nedeniyle film yapısını bozmaması için düşük konsantrasyonlarda kullanım zorunluluğu antimikrobiyal etkinin de azalmasına neden olmuştur. Antimikrobiyal etki

denemelerinde disk veya film etrafında zon oluşumu pozitif kabul edilmiştir. Zon çapı büyüklüğüne göre sonuçlar etkisiz, az etkili, etkili ve çok etkili olarak değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal test sonuçları tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Yenilebilir Filmlere Ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri

Grup	İçerik	Etki Drumu
1	Sade film	Az etkili
2	Hibiskus çayı (%2 suda) ilaveli film	Etkisiz
3	Hibiskus çayı (%4 suda) ilaveli film	Etkisiz
4	Hibiskus çayı (%6 suda) ilaveli film	Az etkili
5	Hibiskus ekstraktı (%2 alkolde) ilaveli film	Etkisiz
6	Hibiskus ekstraktı (%4 alkolde) ilaveli film	Etkisiz
7	Hibiskus ekstraktı (%6 alkolde) ilaveli film	Az etkili
8	Kekik (%0,75) ilaveli film	Etkisiz
9	Kekik (%1) ilaveli film	Etkisiz
10	Kekik (%1,5) ilaveli film	Etkili
11	Kekik (%2) ilaveli film	Etkili
12	Zein (%1 alkolde) ilaveli film	Etkisiz
13	Zein (%2 alkolde) ilaveli film	Az etkili
14	Zein (%1 suda) ilaveli film	Az etkili
15	Zein (%2 suda) ilaveli film	Az etkili
16	Kekik uçucu yağı (%0,75)	Etkili
17	Kekik uçucu yağı (%1)	Etkili
18	Kekik uçucu yağı (%1,5)	Çok etkili
19	Kekik uçucu yağı (%2)	Çok etkili
20	Hibiskus çayı	Az etkili
21	Hibiskus ekstraktı	Az etkili
22	Zein (%2) suda solüsyon	Az etkili
23	Zein (%2) alkolde solüsyon	Az etkili

HYF, *E. coli* O157: H7’ye karşı %2 ve 4 konsantrasyonlarında etkisiz iken %6 oranında az etkili olmuştur. HÇ ve HE ise disk üzerinde direkt kullanımda az etkili olmuştur. Kekik gruplarında %0,75 ve %1 KYF mikroorganizma üzerinde tek başına etkisiz kalmış olmasına karşın aynı konsantrasyonların disk üzerinde direkt kullanımı antimikrobiyal etki anlamında başarılı sonuç vermiştir. %1,5 ve %2 KUY ve onlara ait yenilebilir film gruplarının ise mikrobiyal etkisi diğer kekik gruplarına göre daha üstün bulunmuştur. ZYF %1 alkolde solüsyonun film grubu antimikrobiyal etki göstermemesine rağmen diğer zein gruplarında antimikrobiyal etki az olarak tespit

edilmiştir. Tüm film gruplarının temel bileşenlerini içeren SYF grubu ise *E. coli* O157:H7 karşı az etkili olarak belirlenmiştir.

Hibiskus gruplarında HYF yapımında HÇ'nin daha kolay ve hızlı bir şekilde hazırlanması, ekonomik olması gibi nedenlerle HE elenerek çalışmaya %6 konsantrasyonundaki HÇ katkılı filmler ile devam edilmiştir. Kekik gruplarında KYF'lerin düşük konsantrasyonları (%0,75 ve 1) HYF ile benzer sonuç verirken, yüksek konsantrasyonları (%1,5 ve 2) daha başarılı bulunmuştur. KUY doğrudan kullanımı tüm konsantrasyonlarda etkili iken, özellikle konsantrasyon artışının (%1,5 ve 2) daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu nedenle kekik filmlerinde çalışmaya %1,5 ve 2 konsantrasyonları ile devam edilmiştir.

ZYF eldesinde MİK değerleri bakımından çok büyük farklılık görülmezken, çözücü ve konsantrasyonun seçimi, filmlerin yapı ve görünüşünü etkilemiştir. Özellikle %2 alkol ve %1 su içerisinde hazırlanan filmler daha başarılı olup yapı bakımından da kabul görmüştür.

3.3. Raf Ömrü Denemeleri Analiz Bulguları

Antimikrobiyal katkılı yenilebilir filmlerin *E. coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisini belirlemek aynı zamanda hem toplam bakteri sayısı hem de bozulmada etkili koliform grubu bakteri sayısına etkisini tespit etmek için köftelerin soğukta muhafaza boyunca mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Raf ömrü için hem duyu test sonuçlarında renk ve koku değişimi hem de toplam koliform bakteri, toplam mezofil ve psikrofil mikroorganizma sayıları dikkate alınmıştır.

Hazırlanan köftelere McFarland 0,5'e göre ayarlanan suş kültüründen inoküle edilmiş ve köfte yoğurulduktan sonra örnek alınarak SMAC agara uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonrası köftelerde $4,3 \times 10^6$ kob/g *E. coli* O157: H7 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol negatif için hazırlanan suş katılmayan köfteden alınan örnekten yapılan direkt ekimlerde fekal koliform $4,3 \times 10^2$ kob/g belirlenirken örnekten *E. coli* O157: H7 için zenginleştirerek selektif agara yapılan ekim ve identifikasyon testleri sonucu köftede sorbitol negatif *E. coli* olduğu belirlenmiştir.

Deneme gruplarında kullanılan tüm filmlerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve kontrol grupları ile kıyaslandığında araştırılan tüm mikroorganizma

gruplarında günlere göre genellikle 10^2 civarında fark olduğu belirlenmiştir. Kekik grupları diğer gruplara göre koliform ve fekal koliform bakteri sayılarının azalmasında ve/veya üremenin yavaşlamasında diğer gruplara göre oldukça etkili olmuştur ($p<0,05$).

Yenilebilir film ilaveli gruplar (kekik, hibiskus ve zein) ile KP grubu arasında koliform grubu bakteri sayısı üzerinde istatistiksel açıdan önemli bir etkinin olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). KP grubu 7,24 (log ortalama) ile en yüksek mikroorganizma yüküne sahip iken, diğer gruplarda mevcut antimikrobiyal bileşenlerin etkisiyle bu değer 5,77 (log ortalama) seviyelerine kadar düşmüştür. HYF'nin KYF-B, ZYF-A ve kontrol grupları (KP, KN) ile arasındaki ilişki önemli bulunurken ($p<0,05$), diğer gruplara göre etkinliği önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Grupların depolama süresince mikroorganizma inhibisyonu üzerindeki etkisi dikkate alındığında günlerin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). Kontrol gruplarında 5. günde ulaşılan bakteri sayısı (log 6), kekik gruplarında 12. güne diğer gruplarda ise 10. güne denk gelmektedir.

Kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca koliform grubu bakteri sonuçları tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8: Köftelerde Depolama Süresince Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,63 $\pm$ 0,05	5,49 $\pm$ 0,14	5,52 $\pm$ 0,16	5,66 $\pm$ 0,12	5,73 $\pm$ 0,15	6,30 $\pm$ 0,11	5,89$\pm$0,08^{DE}
KYF-B	6,63 $\pm$ 0,05	5,16 $\pm$ 0,14	5,47 $\pm$ 0,16	5,64 $\pm$ 0,12	5,40 $\pm$ 0,15	6,33 $\pm$ 0,11	5,77$\pm$0,08^E
HYF	6,63 $\pm$ 0,05	5,13 $\pm$ 0,14	5,32 $\pm$ 0,16	5,44 $\pm$ 0,12	6,69 $\pm$ 0,15	7,50 $\pm$ 0,11	6,12$\pm$0,08^{CD}
SYF	6,63 $\pm$ 0,05	5,60 $\pm$ 0,14	5,56 $\pm$ 0,16	5,71 $\pm$ 0,12	6,67 $\pm$ 0,15	7,45 $\pm$ 0,11	6,27$\pm$0,08^{BC}
ZYF-B	6,63 $\pm$ 0,05	5,33 $\pm$ 0,14	5,48 $\pm$ 0,16	5,60 $\pm$ 0,12	6,62 $\pm$ 0,15	8,30 $\pm$ 0,11	6,33$\pm$0,08^{BC}
ZYF-A	6,63 $\pm$ 0,05	5,52 $\pm$ 0,14	5,60 $\pm$ 0,16	5,74 $\pm$ 0,12	6,50 $\pm$ 0,15	8,29 $\pm$ 0,11	6,38$\pm$0,08^B
KP	6,63 $\pm$ 0,05	5,40 $\pm$ 0,14	6,75 $\pm$ 0,16	7,55 $\pm$ 0,12	8,49 $\pm$ 0,15	8,61 $\pm$ 0,11	7,24$\pm$0,08^A
KN	3,62 $\pm$ 0,05	4,54 $\pm$ 0,14	6,59 $\pm$ 0,16	7,47 $\pm$ 0,12	7,77 $\pm$ 0,15	8,43 $\pm$ 0,11	6,40$\pm$0,08^B

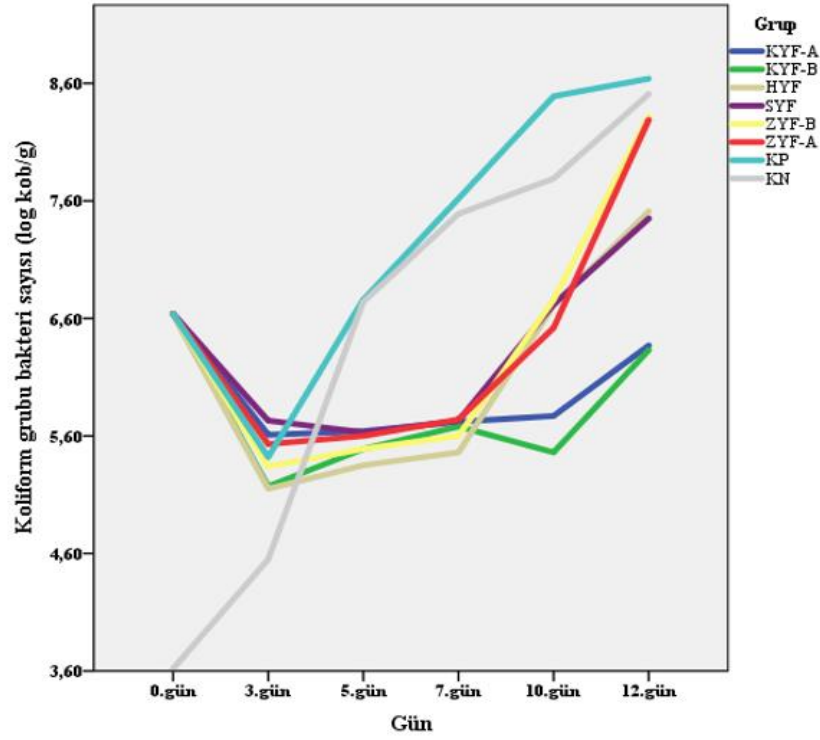
Grup (p): 0,000

Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütununda yer alan harfler (A, B, C, D, E) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p<0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Grafik 1'de kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca koliform grubu bakteri sonuçları verilmiştir.



Grafik 1: Köftelerde Depolama Süresince Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g)

Tablo 9’da kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca fekal koliform grubu bakteri sayım sonuçları verilmiştir.

Tablo 9: Köftelerde Depolama Süresince Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,63 $\pm$ 0,05	5,17 $\pm$ 0,08	5,29 $\pm$ 0,08	5,41 $\pm$ 0,08	5,48 $\pm$ 0,10	6,55 $\pm$ 0,16	5,76 $\pm$ 0,07 ^F
KYF-B	6,63 $\pm$ 0,05	5,26 $\pm$ 0,08	5,54 $\pm$ 0,08	5,69 $\pm$ 0,08	5,73 $\pm$ 0,10	6,65 $\pm$ 0,16	5,92 $\pm$ 0,07 ^{EF}
HYF	6,63 $\pm$ 0,05	5,27 $\pm$ 0,08	5,47 $\pm$ 0,08	5,55 $\pm$ 0,08	6,71 $\pm$ 0,10	6,47 $\pm$ 0,16	6,02 $\pm$ 0,07 ^{DE}
SYF	6,63 $\pm$ 0,05	5,36 $\pm$ 0,08	5,50 $\pm$ 0,08	5,67 $\pm$ 0,08	6,70 $\pm$ 0,10	7,33 $\pm$ 0,16	6,20 $\pm$ 0,07 ^{CD}
ZYF-B	6,63 $\pm$ 0,05	5,45 $\pm$ 0,08	5,79 $\pm$ 0,08	5,85 $\pm$ 0,08	6,36 $\pm$ 0,10	7,36 $\pm$ 0,16	6,24 $\pm$ 0,07 ^C
ZYF-A	6,63 $\pm$ 0,05	5,39 $\pm$ 0,08	5,66 $\pm$ 0,08	5,76 $\pm$ 0,08	6,26 $\pm$ 0,10	7,35 $\pm$ 0,16	6,18 $\pm$ 0,07 ^{CD}
KP	6,63 $\pm$ 0,05	6,52 $\pm$ 0,08	6,89 $\pm$ 0,08	7,49 $\pm$ 0,08	8,45 $\pm$ 0,10	8,93 $\pm$ 0,16	7,48 $\pm$ 0,07 ^A
KN	2,63 $\pm$ 0,05	4,91 $\pm$ 0,08	6,88 $\pm$ 0,08	7,87 $\pm$ 0,08	7,92 $\pm$ 0,10	8,74 $\pm$ 0,16	6,49 $\pm$ 0,07 ^B

Grup (p): 0,000

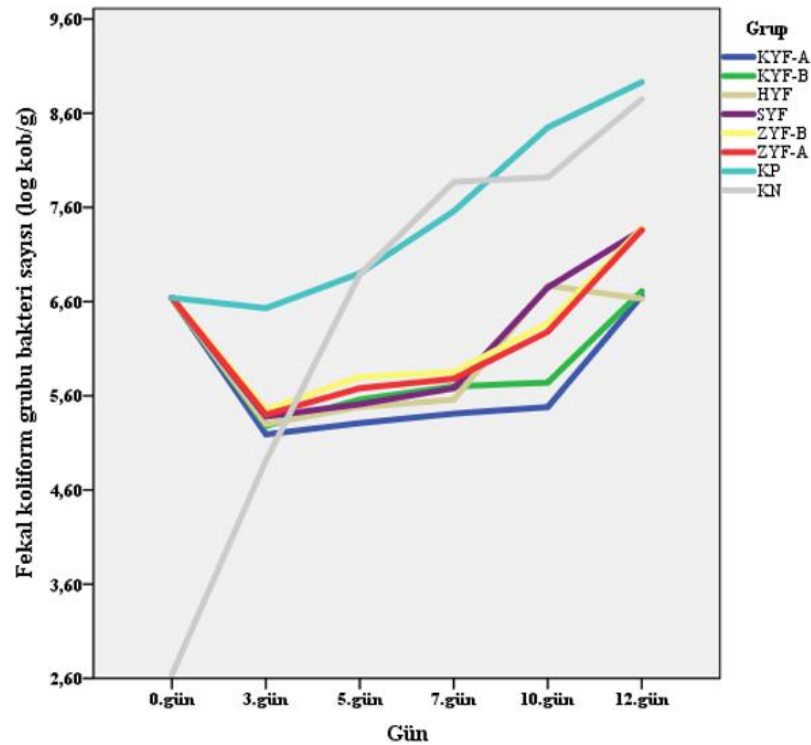
Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütununda yer alan harfler (A, B, C, D, E, F) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p < 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Kontrol grupları (KP, KN) ile diğer antimikrobiyal bileşen ilaveli yenilebilir film grupları (KYF, HYF, SYF, ZYF) arasındaki fekal koliform grubu bakteriler için antimikrobiyal aktivite istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0,05$). Fekal koliform grubu bakteriler için film grupları arasındaki ilişkiye bakıldığında KP grubu 7,48 (log ortalama) ile en yüksek mikroorganizma yüküne sahip iken, diğer gruplarda bu değer kekikte 5,76 (log ortalama), hibiskusta 6,02 (log ortalama), zein de ise 6,18 (log ortalama) seviyelerine kadar düşmüştür. Grupların depolama süresince mikroorganizma inhibisyonu üzerindeki etkisi dikkate alındığında günlerin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). Kontrol gruplarında 5. günde ulaşılan bakteri sayısı (log 6), kekik gruplarında 12. güne diğer gruplarda ise 10. güne denk gelmektedir.

Grafik 2’de kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca fekal koliform grubu bakteri sonuçları verilmiştir.



Grafik 2: Köftelerde Depolama Süresince Fekal Koliform Grubu Bakteri Sayısı (log kob/g)

Deneme gruplarının tüm analiz sonuçları incelendiğinde kekik gruplarının kontrol grubuna göre köfte raf ömrünü 7 gün uzattığı, diğer film gruplarının ise yine

kontrol grubuna göre 5 gün daha uzun raf ömrü sağladığı tespit edilmiştir. *E. coli* O157: H7 üzerine filmlerin antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde kekik grubunun 10^2 (2 logaritma) oranında yıkımlama yaptığı diğer gruplarda ise bu oranın yaklaşık 1 logaritmalık düşüş olarak tespit edildiği gözlenmiştir. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamsal farklılığın günlere göre önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). KYF-A, KP ve KN ile mikroorganizma inhibisyonunda diğer bütün analiz günleri istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0,01$). *E. coli* O157: H7 inhibisyonu üzerinde HYF, SYF ve ZYF-A grupları arasındaki ilişki istatistiksel açıdan ciddi bir fark oluşturmazken, kekik grupları, ZYF-B ve kontrol grupları arasındaki ilişki önemli düzeydedir ($p<0,05$). Kontrol gruplarında 5. günde ulaşılan bakteri sayısı (log 6), kekik gruplarında 12. güne diğer gruplarda ise 10. güne denk gelmektedir.

Tablo 10'da kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca *E. coli* O157: H7 sayım sonuçları verilmiştir.

Tablo 10: Köftelerde Depolama Süresince *E. coli* O157: H7 Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	4,36 $\pm$ 0,12	4,68 $\pm$ 0,10	5,24 $\pm$ 0,13	5,43 $\pm$ 0,09	6,41 $\pm$ 0,10	5,46 $\pm$ 0,05 ^F
KYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	5,35 $\pm$ 0,12	5,57 $\pm$ 0,10	5,45 $\pm$ 0,13	5,62 $\pm$ 0,09	6,72 $\pm$ 0,10	5,89 $\pm$ 0,05 ^D
HYF	6,63 $\pm$ 0,06	5,30 $\pm$ 0,12	5,40 $\pm$ 0,10	5,69 $\pm$ 0,13	6,55 $\pm$ 0,09	6,70 $\pm$ 0,10	6,05 $\pm$ 0,05 ^C
SYF	6,63 $\pm$ 0,06	5,40 $\pm$ 0,12	5,51 $\pm$ 0,10	5,73 $\pm$ 0,13	6,38 $\pm$ 0,09	7,35 $\pm$ 0,10	6,17 $\pm$ 0,05 ^C
ZYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	5,20 $\pm$ 0,12	5,26 $\pm$ 0,10	5,45 $\pm$ 0,13	7,72 $\pm$ 0,09	8,58 $\pm$ 0,10	6,47 $\pm$ 0,05 ^B
ZYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	5,48 $\pm$ 0,12	5,33 $\pm$ 0,10	5,39 $\pm$ 0,13	6,28 $\pm$ 0,09	7,52 $\pm$ 0,10	6,10 $\pm$ 0,05 ^C
KP	6,63 $\pm$ 0,06	6,43 $\pm$ 0,12	6,68 $\pm$ 0,10	7,68 $\pm$ 0,13	7,54 $\pm$ 0,09	8,67 $\pm$ 0,10	7,27 $\pm$ 0,05 ^A
KN	0,59 $\pm$ 0,06	4,68 $\pm$ 0,12	6,22 $\pm$ 0,10	6,54 $\pm$ 0,13	7,67 $\pm$ 0,09	8,80 $\pm$ 0,10	5,75 $\pm$ 0,05 ^E

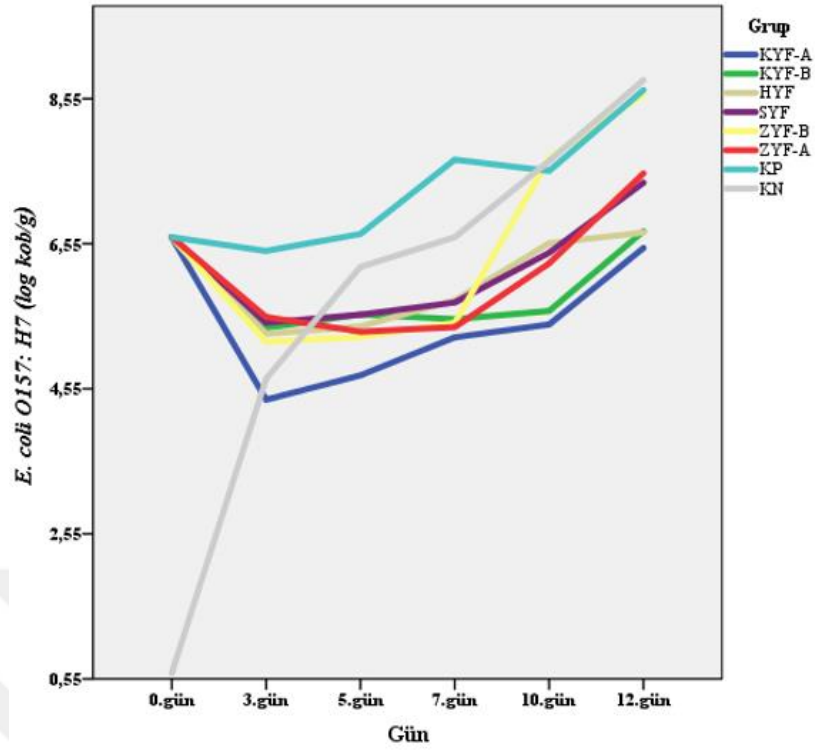
Grup (p): 0,000

Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütununda yer alan harfler (A, B, C, D, E, F) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p<0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Grafik 3'te kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca *E. coli* O157: H7 sayım sonuçları verilmiştir.



Grafik 3: Köftelerde Depolama Süresince *E. coli* O157: H7 Sayısı (log kob/g)

Analiz sonuçları mezofil canlı sayısı yönünden incelendiğinde genellikle gruplarda 10^7 sayısına ulaşılan günlerde aynı zamanda duyu testlerinde kokuşma sonuçlarının pozitif olduğu da belirlenmiştir. Yenilebilir film ilaveli gruplar ile KP arasındaki mikrobiyal etki istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0,05$). Kontrol gruplarının her ikisi de muhafazanın 5. gününde hem 10^7 'ye ulaşmış hem de kokuşma testi pozitif sonuç vermiştir. Kekik grupları hariç kalan diğer deneme gruplarında 10. günde kokuşma pozitifken kekik grubu 12. güne kadar dayanmıştır. Bu durum $+4^\circ\text{C}$ de muhafaza edilen köftelerin bozulmasında/kokuşmasında günlerin istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0,01$). Depolama günleri uzadıkça mikrobiyal yükün arttığı, köftelerdeki bozulmanın hızlandığı görülmektedir. Nitekim kontrol gruplarında 10. ve 12. günlerde mikrobiyal yük log 9 seviyesine çıkmıştır.

Tablo 11'de kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca mezofil bakteri sayım sonuçları verilmiştir.

Tablo 11: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	5,21 $\pm$ 0,11	5,35 $\pm$ 0,11	5,51 $\pm$ 0,07	6,25 $\pm$ 0,10	6,34 $\pm$ 0,12	5,88 $\pm$ 0,07 ^D
KYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	5,39 $\pm$ 0,11	5,61 $\pm$ 0,11	6,62 $\pm$ 0,07	6,68 $\pm$ 0,10	6,74 $\pm$ 0,12	6,28 $\pm$ 0,07 ^C
HYF	6,63 $\pm$ 0,06	5,27 $\pm$ 0,11	5,56 $\pm$ 0,11	5,84 $\pm$ 0,07	7,17 $\pm$ 0,10	7,57 $\pm$ 0,12	6,34 $\pm$ 0,07 ^C
SYF	6,63 $\pm$ 0,06	5,60 $\pm$ 0,11	5,66 $\pm$ 0,11	5,78 $\pm$ 0,07	7,30 $\pm$ 0,10	7,39 $\pm$ 0,12	6,39 $\pm$ 0,07 ^C
ZYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	5,46 $\pm$ 0,11	5,58 $\pm$ 0,11	5,65 $\pm$ 0,07	7,38 $\pm$ 0,10	7,69 $\pm$ 0,12	6,40 $\pm$ 0,07 ^C
ZYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	5,55 $\pm$ 0,11	5,75 $\pm$ 0,11	5,86 $\pm$ 0,07	7,38 $\pm$ 0,10	7,61 $\pm$ 0,12	6,46 $\pm$ 0,07 ^C
KP	6,63 $\pm$ 0,06	6,77 $\pm$ 0,11	7,70 $\pm$ 0,11	8,40 $\pm$ 0,07	9,35 $\pm$ 0,10	9,54 $\pm$ 0,12	8,07 $\pm$ 0,07 ^A
KN	4,67 $\pm$ 0,06	6,55 $\pm$ 0,11	7,86 $\pm$ 0,11	7,95 $\pm$ 0,07	8,23 $\pm$ 0,10	9,39 $\pm$ 0,12	7,44 $\pm$ 0,07 ^B

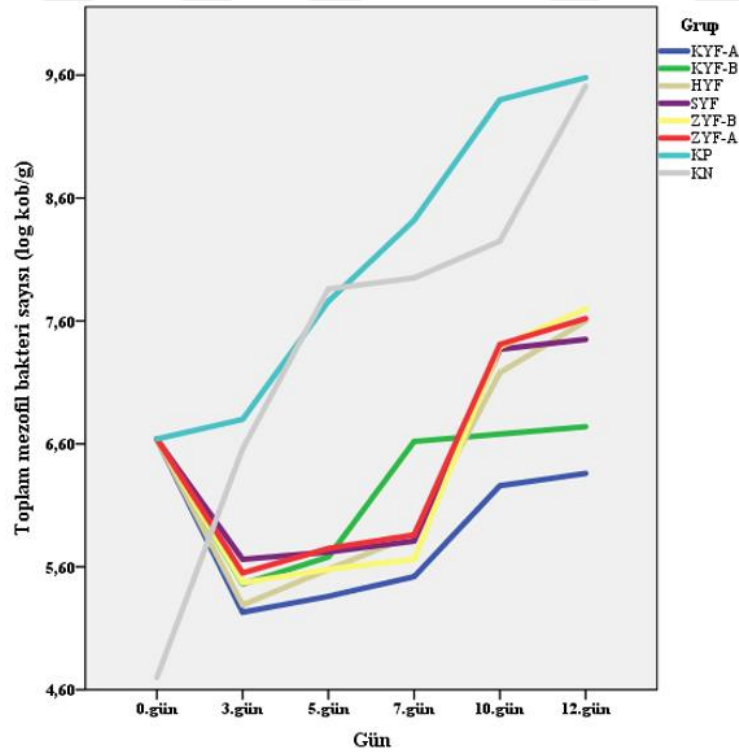
Grup (p): 0,000

Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütünde yer alan harfler (A, B, C, D) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p < 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Grafik 4'te kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca mezofil bakteri sayım sonuçları verilmiştir.

**Grafik 4:** Köftelerde Depolama Süresince Toplam Mezofilik Bakteri Sayısı (log kob/g)

Tablo 12’de kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca psikrofil bakteri sayım sonuçları verilmiştir.

Tablo 12: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Psikrofil Bakteri Sayısı (log kob/g $\pm$ ss)

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	4,43 $\pm$ 0,13	5,48 $\pm$ 0,11	5,69 $\pm$ 0,13	6,39 $\pm$ 0,16	6,34 $\pm$ 0,14	5,83 $\pm$ 0,05 ^E
KYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	4,52 $\pm$ 0,13	5,52 $\pm$ 0,11	5,63 $\pm$ 0,13	6,40 $\pm$ 0,16	7,46 $\pm$ 0,14	6,03 $\pm$ 0,05 ^D
HYF	6,63 $\pm$ 0,06	4,74 $\pm$ 0,13	5,67 $\pm$ 0,11	7,31 $\pm$ 0,13	7,55 $\pm$ 0,16	8,39 $\pm$ 0,14	6,72 $\pm$ 0,05 ^B
SYF	6,63 $\pm$ 0,06	5,55 $\pm$ 0,13	5,62 $\pm$ 0,11	7,30 $\pm$ 0,13	7,51 $\pm$ 0,16	8,59 $\pm$ 0,14	6,87 $\pm$ 0,05 ^B
ZYF-B	6,63 $\pm$ 0,06	4,18 $\pm$ 0,13	5,51 $\pm$ 0,11	6,51 $\pm$ 0,13	7,11 $\pm$ 0,16	7,53 $\pm$ 0,14	6,24 $\pm$ 0,05 ^C
ZYF-A	6,63 $\pm$ 0,06	5,44 $\pm$ 0,13	5,61 $\pm$ 0,11	7,54 $\pm$ 0,13	7,46 $\pm$ 0,16	8,45 $\pm$ 0,14	6,86 $\pm$ 0,05 ^B
KP	6,63 $\pm$ 0,06	5,71 $\pm$ 0,13	7,80 $\pm$ 0,11	8,33 $\pm$ 0,13	9,38 $\pm$ 0,16	9,66 $\pm$ 0,14	7,92 $\pm$ 0,05 ^A
KN	3,61 $\pm$ 0,06	5,09 $\pm$ 0,13	7,41 $\pm$ 0,11	7,58 $\pm$ 0,13	8,33 $\pm$ 0,16	8,47 $\pm$ 0,14	6,75 $\pm$ 0,05 ^B

Grup (p): 0,000

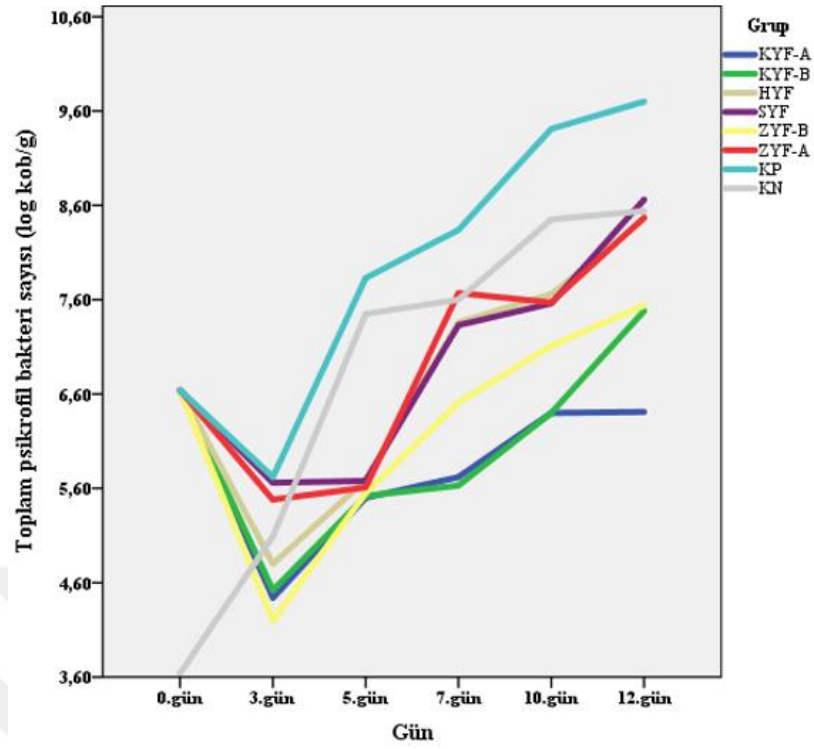
Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütünde yer alan harfler (A, B, C, D, E) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p < 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

Psikrofil mikroorganizmalar üzerinde KP ile diğer bütün gruplar arasındaki ilişki istatistiksel açıdan fark oluşturmaktadır ($p < 0,05$). Kekik ve zein gruplarında antimikrobiyal etkinin de önemli olduğu görülmüştür. Grupların psikrofil mikroorganizma üzerine etkisinde muhafa günleri istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermiştir ($p < 0,01$). Kontrol gruplarındaki psikrofil mikroorganizma sayısı 7 log ve üzeri seviyelerine 5. günde ulaşılırken, kekikte 12. günde, diğer gruplarda ise bu sayılara genel olarak 10. günde ulaşılmıştır.

Grafik 5’te kontrol ve deneme gruplarında raf ömrü boyunca psikrofil bakteri sayım sonuçları verilmiştir.



Grafik 5: Köftelerde Depolama Süresince Toplam Psikrofil Bakterileri Sayısı (log kob/g)

3.4. Yağ ve Tuz Miktarına Ait Bulgular

Köfte yapımı için kullanılan taze dana kıymasında öncelikle yağ tayini yapılmıştır. Orta yağlı olarak satın alınan kıymada yağ oranı %15 olarak belirlenmiştir. Köfte yapmadan önce kıymaya tuz ilave edilerek kıyma yoğurulmuş ve köfte şekli verildikten sonra köftede tuz tayini yapılmıştır. Köftelerin tuz içeriği %1,6 olarak tespit edilmiştir. Kıymaların Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliğinde belirtilen yağ (en çok %25) ve tuz oranları (en çok %2) ile uyumlu olduğu görülmüştür. Taze kıymaya ait yağ ve tuz miktarı hesaplanarak kaydedilmiştir (tablo 13).

Tablo 13: Köfte Hamurunu Yağ ve Tuz Analiz Sonuçları

Ürün	Yağ (%)	Tuz (%)
Taze dana kıyma	15	1,6

3.5. pH Değerine Ait Bulgular

Yenilebilir filmler ile ambalajlanan hamburger köfteler analiz günleri (0, 3, 5, 7, 10, 12) boyunca 4°C’de muhafaza edilmiştir. Her analiz gününde köftelere ait pH ölçümü yapılarak kaydedilmiştir. Muhafazanın farklı günlerinde gruplara ait pH değerleri tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14: Köftelerde Depolama Süresince pH Değerleri

Gruplar	0. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün	12. gün	Toplam
KYF-A	6,12±0,05	6,19±0,06	6,16±0,06	6,11±0,18	6,43±0,19	6,63±0,14	6,28±0,07^{ABC}
KYF-B	6,12±0,05	6,21±0,06	6,12±0,06	6,01±0,18	6,44±0,19	6,61±0,14	6,25±0,07^{ABC}
HYF	6,12±0,05	5,92±0,06	5,57±0,06	5,73±0,18	5,83±0,19	6,04±0,14	5,87±0,07^D
SYF	6,12±0,05	6,02±0,06	5,93±0,06	5,94±0,18	6,09±0,19	6,34±0,14	6,07±0,07^{CD}
ZYF-B	6,12±0,05	6,15±0,06	5,98±0,06	5,85±0,18	6,36±0,19	6,87±0,14	6,22±0,07^{ABC}
ZYF-A	6,12±0,05	6,18±0,06	5,90±0,06	5,57±0,18	6,27±0,19	6,54±0,14	6,10±0,07^{BCD}
KP	6,12±0,05	5,95±0,06	6,05±0,06	6,18±0,18	6,41±0,19	7,24±0,14	6,32±0,07^{AB}
KN	6,12±0,05	6,00±0,06	5,90±0,06	6,41±0,18	6,58±0,19	7,24±0,14	6,37±0,07^A

Grup (p): 0,004

Gün (p): 0,0001

KYF-A: Kekik yenilebilir film (%2), KYF-B: Kekik yenilebilir film (%1,5), HYF: Hibiskus yenilebilir film, SYF: Sade yenilebilir film, ZYF-B: Zein yenilebilir film (%1), ZYF-A: Zein yenilebilir film (%2), KP: Kontrol pozitif, KN: Kontrol negatif.

Toplam sütununda yer alan harfler (A, B, C, D) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı $p < 0,05$ düzeyinde göstermektedir.

pH değerleri incelendiğinde gruplarda genel olarak pH değerleri öncelikle küçük bir artış gösterip sonraki günlerde hızla düşmekte ve muhafazanın ilerleyen günlerinde pH değeri artışa geçmektedir. pH artış günlerinde (gruplara göre değişmekle birlikte) genellikle kokuşma testi pozitif sonuç vermiştir. pH artış günleri suş katılmayan kontrol negatif grubunda 7. güne denk gelirken kontrol pozitif grubunda 5. güne denk gelmiştir. Kekik ve zein grubunda pH 10. günden itibaren artmaya başlarken hibiskus ve sade film grubunda pH 7. günden itibaren artmıştır.

Ayrıca hibiskus içeren deneme grubunda köftelerdeki pH değerine bağlı olarak hibiskuslu filmde renk değişimi belirlenmiştir. Bu durum hibiskuslu filmlerin hem antimikrobiyal etkili olduğu hem de bozulma indikatörü olarak kullanılabileceği yönünde kuvvetli bir bulgudur.

KYF-A ve KYF-B genel olarak birbirine yakın tutum (düşüş-yükseliş) sergilemiştir. 0. günde 6,12 olan pH değeri 10. güne kadar 6,40-6,43 aralığında bir

değişim göstermiştir. 10. günden sonra KYF-A ve KYF-B pH değerleri 6,6 seviyelerine çıkmıştır. İlk zamanlarda (3. gün) ufak bir artış görünse de 10. güne kadar düşüş eğilimi gösteren pH değeri 10. günden sonra yukarı yönlü ivme kazanmıştır. Bu durum KP grubunda farklı görünmektedir ($p<0,01$). KP başlangıç pH değeri 6,12 iken 3. günde hızlı düşüş, diğer günlerde ise hızlı yükseliş eğilimi göstermiştir. KYF-A ve B grupları pH 6,6 seviyesine depolamanın 12. gününde ulaşırken, KP ise 10. günde pH 6,41'e ulaşmış, 12. günde ise 7,24 seviyelerini görmüştür.

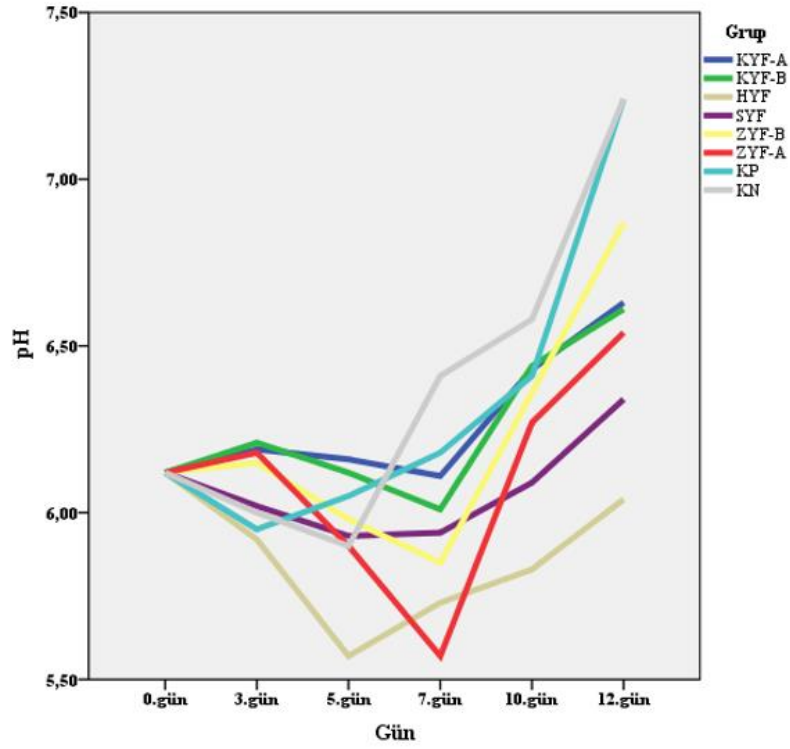
HYF depolamanın 7. gününe kadar sürekli düşüş eğilimi göstermiştir. 7. günden sonra yükselişe geçerek 5,73 seviyelerini görmüştür. HYF diğer gruplardan farklı olarak depolamanın 12.gününde pH değeri 5'ten 6 seviyesine yükselmiştir. HYF pH 6 seviyesine depolama süresinin bitiminde ulaşırken, KP bu değere 5. günde ulaşmıştır ($p<0,01$).

SYF, KYF'lerden farklı olarak depolamanın 7. gününe kadar pH değerlerinde düşüşler görülürken bugünden sonra hızlı yükseliş eğilimine girerek depolamanın 10. gününde 6, 12. gününde ise 6,34 seviyesini görmüştür.

ZYF gruplarına ait pH değerlerindeki değişkenlik (düşüş-yükseliş) kendi içerisinde benzerlik göstermiştir. Depolamanın 3. gününde pH değeri ufak bir artış göstererek 6,12'den 6,15-6,18 seviyelerine yükselmiştir. Depolamanın 5. ve 7. günlerinde düşüş eğiliminde olan pH değeri 10. günde tekrar 6 seviyelerini, 12. günde ise 6,5-6,8 seviyelerini görmüştür.

KN grubu pH değeri depolamanın 5. gününe kadar kademeli olarak düşüş eğilimi gösterirken 7. gün itibariyle hızlı yükselişe geçerek sırasıyla 6,41-6,58 seviyelerini 12. günde ise pik yaparak 7,24 seviyesini görmüştür.

Muhafazanın farklı günlerinde gruplara ait pH değerleri grafik 6'da verilmiştir.



Grafik 6: Köftelerde Depolama Süresince pH Değerleri

3.6. Kokuşma Test Sonuçlarına Ait Bulgular

Yapılan kokuşma testinde (Eber) kontrol grupları depolamanın 5. gününden, HYF, SYF ve ZYF-A gruplarında 7. gününden kekik gruplarında ve ZYF-B’de ise 10. günden itibaren kokuşmanın pozitif olduğu tespit edilmiştir (tablo 15).

Tablo 15: Yenilebilir Film ve Kontrol Gruplarına Ait Kokuşma test (Eber) sonuçları

Gruplar	0. gün	3. gün	5.gün	7. gün	10. gün	12. gün
KYF-A	-	-	-	-	+	+
KYF-B	-	-	-	-	+	+
HYF	-	-	-	+	+	+
SYF	-	-	-	+	+	+
ZYF-A	-	-	-	+	+	+
ZYF-B	-	-	-	-	+	+
KP	-	-	+	+	+	+
KN	-	-	+	+	+	+

+: Kokuşma pozitif, -: Kokuşma negatif

3.7. Duyusal Analiz Bulguları

Çalışma gruplarına ait duyusal analiz verilerine göre depolama günleri boyunca KYF-A, KYF-B, SYF ve ZYF-A, ZYF-B gruplarında etin kendisine has rengini (kırmızı) koruduğu, HYF (7. günden itibaren) ve KN ve KP gruplarında (7. günden itibaren) ise et renginde farklılaşmaların (yeşil/mor) olduğu görülmüştür. Köftelerin özellikle kontrol gruplarında (KN ve KP) 5. günden, diğer gruplarda ise (KYF-A ve KYF-B hariç) 10. günden itibaren kokuşmaya başladığı tespit edilmiştir. KYF-A ve KYF-B grubu, köftelere ait ambalaj kutusu açıldığında ilk olarak bitkiye ait kokunun algılandığı bu durumun depolamanın ilerleyen günlerinde ise algılanamayacak düzeyde olduğu belirlenmiştir. Diğer gruplar (SYF, HYF, ZYF-A ve ZYF-B) için köftelerde filme ait koku tespit edilmemiştir. Filmlerin rengi başlangıçta normalken daha sonra et ile temas durumunda, değişerek etin rengini alarak kızarmıştır (kırmızı renk). HYF renginde ise hibiskusa ait renk (eflatun) baskınlık kazanmıştır. Bütün gruplara ait (KYF-A, KYF-B, SYF, HYF- ZYF-A) filmlerin genel olarak başlangıç yapısını ve esnekliğini koruduğu belirlenirken sadece ZYF-B'nin bütün analiz günlerinde yapısının gevşek olduğu ve gıda ile temasta çözünme eğilimde olup parçalandığı görülmüştür.

Tablo 16'da analiz günlerine (3, 5, 7, 10 ve 12) ait köftelerde bozulma belirtisi olarak koku yönünden duyusal analiz verileri yer almaktadır.

Tablo 16: Duyusal Analizlere Göre Gruplarda Kokuşma Test Sonuçları

Gruplar	0. gün	3. gün	5.gün	7. gün	10. gün	12. gün
KYF-A	-	-	-	-	-	+
KYF-B	-	-	-	-	-	+
HYF	-	-	-	-	+	+
SYF	-	-	-	-	+	+
ZYF-A	-	-	-	-	+	+
ZYF-B	-	-	-	-	+	+
KP	-	-	+	+	+	+
KN	-	-	+	+	+	+

+: Kokuşma pozitif, -: Kokuşma negatif

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Güvenilir ve besleyici gıda tüketimi, insanların sağlıklı kalmasındaki en önemli faaliyetlerin başında gelir. Hayvansal gıdalar içerisinde yer alan kıyma; birçok yemeğin ana bileşenini oluşturması (köfteler, kebaplar vb.) ve üretim süreci içerisinde temas edilen yüzeylerin fazlalığı mikroorganizmalar için elverişli bir yaşam alanına dönüşmesi bakımından riskli gıda grupları arasında sayılabilmektedir (Kavrut 2021).

Mikroorganizmalar içerisinde *E. coli* O157: H7 suşu günümüzde gıdalar ile insanlara kolaylıkla bulaşabilen patojenler içerisinde en önemlilerindendir. Bu durum bakterinin diğer mikroorganizmalara karşı yüksek patojenite göstermesinden kaynaklanmaz. Aksine *E. coli* O157: H7 ısıtma işlemi oldukça duyarlıdır bu nedenle hijyenik olmayan şartlarda elde edilmiş ve/veya az pişirilmiş kıyma ve kıyma benzeri ürünler (köfte, hamburger vb.) başta olmak üzere birçok gıdada “gıda kaynaklı zehirlenme” nedenlerinin başında gelmektedir (Halkman ve ark. 2001).

Hazır gıda tüketim merkezleri başta olmak üzere, kıyma ve kıymadan elde edilen ürünlerin (köfte vb.) satışının yapıldığı yerlerde gıdanın üretiminden tüketimine kadarki bütün aşamaların izlenebilirliğinin sağlanması gerekmektedir. Fakat bu durum pratikte kolay gibi görünse de uygulanabilirliği oldukça zor olabilmektedir (Mercanoğlu ve Aytaç 2000, Ebel ve ark. 2004). *E. coli* O157: H7 patojeninden kaynaklı riskleri, hastalıkları elemine etmek için birçok koruma tedbiri alınmaktadır. Bunlar; dekontaminasyon basamakları başta olmak üzere (Ergezer ve Gökçe 2003), çeşitli antimikrobiyal madde ilavesi (Hampikyan ve Çolak 2007) ve son dönemlerde sıkça tercih edilen yenilebilir ambalajlama yöntemleridir (Umaraw ve Verma 2017).

Yenilebilir ambalaj teknolojisinin yeni üyelerinden olan yenilebilir film ve kaplamalar, gıdanın yapısal özelliklerini koruduğu gibi, üretimi sırasında bünyesine katılan antimikrobiyal (doğal) maddeler ile de kombin edildiğinde inhibitör etki gösterebilmektedir (Tural ve ark. 2017).

Bu araştırmada temel amaç hamburger köftelerde sıklıkla zehirlenme etkeni olarak analiz edilen *E. coli* O157: H7’yi inhibe edecek, ona karşı antimikrobiyal etki gösterecek bazı doğal bileşenleri içeren yenilebilir film eldesini sağlamak olmuştur.

Doğal uçucu bitki yağları ve hidrosolleri et teknolojisinde marinasyon aşamasında aroma verici olarak kullanıldığı gibi patojen mikroorganizmalar için de doğrudan veya dolaylı olarak antimikrobiyal etki göstererek besinlerin raf ömrünü iyileştirebilmektedir (Moreira ve ark. 2005, Fullerton ve ark. 2011). Bitkilerin antimikrobiyal özellikleri sahip olduğu uçucu yağlarından ileri gelmektedir. Bu doğrultuda kekik ve kekik türleri sıkça tercih edilen bitkiler arasında yer almaktadır (Frag ve ark. 1989a).

Kekik bitkisine ait uçucu yağ içerisinde carvacrol (karvakrol), thymol (timol), p-simen, linalol, borneol ve terpineol gibi bileşenler bulunmaktadır. Bu bileşenlerden timol ve karvakrol bitkinin aromatik kokusunu oluşturduğu gibi antimikrobiyal özelliğinden de sorumludur (Tanker ve Tanker 1990). Diğer taraftan siyanidin, siyanidin-3-sambubiosit, delphinidin, delphinidin-3, malvidin gibi antosiyaninleri bünyesinde taşıyan hibiskus bitkisine ait çaylar (hidrosoller) da son dönemlerde doğal antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır (Fullerton ve ark. 2011, Gweyi-Onyango ve ark. 2021). Hibiskus bitkisi içerdiği antosiyaninler sayesinde son dönemlerde renk indikatörü olarak gıda tedarik zincirinde kullanılmaktadır. Antosiyaninlerin pH'ya duyarlı renk değişimleri özellikle et ve et ürünleri gibi taze gıdalar başta olmak üzere birçok alanda kullanılarak, ürünlerin tazeliği hakkında fikir vermektedir (Roy ve Rhim 2020).

Antimikrobiyal özelliğe sahip bitki yağları ve çaylarını yenilebilir filmler içerisinde kullanarak gıdanın raf ömrünü artırmak aynı zamanda antimikrobiyal etkilerinden faydalanmak için bu çalışmada kekik (yağı) ve hibiskus (çayı) bitkilerinden faydalanılmıştır.

Yenilebilir ambalaj teknolojisi içerisinde yer alan film ve kaplamalar, klasik ambalajlamaya nazaran sağlıklı bir seçenek sunmaktadır. Üretilen ambalajların ana kaynağını farklı hayvansal ve bitkisel biyopolimerlerin oluşturması ve bu polimerlerin de doğada rahatlıkla parçalanarak çevreye zarar vermemesi en önemli parametrelerdendir (Avramescu ve ark. 2020). Bu bağlamda çalışmada hayvansal bir ürün olan peynir altı suyu proteinleri kullanılmıştır. Peynir kültürü ve çeşitliliği oldukça zengin olan Kars bölgesi peynircilik alanında oldukça gelişmiştir. Maalesef birçok mandırada PAS değerlendirilmemekte bu kıymetli sütçülük artığı

kanalizasyona, dereye, çaya veya araziye akıtılmaktadır. Bu araştırmanın bir diğer amacı da hem doğal hem de besin değeri açısından kıymetli bir ürün olan PAS'ın alternatif kullanım alanını araştırmak ve geliştirmek olmuştur.

PAS'tan elde edilen ürünler (toz, konsantre, izolat) gıda sanayinde sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle et ve süt ürünlerinde film ve kaplama olarak kullanılması son zamanlarda giderek artmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Seydim ve Sarıkuş (2006)'da PAS protein filmlerinin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliğini değerlendirirken, Wagh ve ark. (2013) ise çedar peynirinde PSK'dan elde edilen filmleri kullanmıştır. Yine benzer şekilde Yangılar (2015) ise liyofilize peynir altı suyundan kaplama çözeltisi hazırlayarak göbek kaşarlara uygulamıştır. Aloğlu ve Öner (2010), izolatin; konsantre ve peynir altı suyu tozuna göre üstün özellikler taşımasının (protein içeriği, fonksiyonel özellikleri vb.) film yapımında kullanılabilirliğini arttırdığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmada da yenilebilir filmler, PSI'nın sulu çözeltileri hazırlanarak oda koşullarında kurutulması sonucu hazırlanmıştır.

PSI denemelerde farklı konsantrasyonlarda (%3, 5, 7) kullanılarak denenmiştir. En başarılı sonuç %5 oranında hazırlanan sulu çözeltilerde elde edilmiştir. Anker ve ark. (2000), protein konsantrasyon miktarındaki (%7-17) değişikliğin proteinlerin kritik jel konsantrasyonunu etkileyerek elde edilecek filmlerin mekanik, bariyer ve mikroyapı gibi özelliklerini değiştireceğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada film eldesinde plastikleştirici ajan olarak gliserol tercih edilmiştir. Konsantrasyon miktarı ön denemelerde tespit edilerek, protein izolatu ile aynı ölçüde (1:1) kullanılmasının daha başarılı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu durum plastikleştirici miktarındaki değişkenliklerin kritik jel konsantrasyonu önemli düzeyde etkilemesinden ileri gelmektedir. Anker ve ark. (2000), ise bu durumu “az plastikleştirici-az protein etkileşimi”; “çok plastikleştirici-çok protein etkileşimi” kuramı ile açıklamışlardır. Ortamdaki plastikleştirici ajanın azlığı, miktar olarak daha az sayıda protein kompleksi oluşturacağından protein konsantrasyonunun ortamdaki fazlalığı jelleşmeyi arttırırken, kritik jel konsantrasyonunu düşürecektir. Yapılan bu çalışmada ön denemelerde gliserol miktarının artması filmlerin kurumasını geciktirmiş, hatta bazı denemelerde ıslak kalmasına neden olmuştur. Filmlerin

ortalama kuruma süreleri 24-36 saat arasında değişirken, plastikleştirici miktarındaki azlık, filmlerin erken kurumasının yanında filmlerde protein fazlalığına bağlı olarak çatlamalara da neden olmuştur.

Filmlerin (sade) pH'sı 7-8 aralığında ayarlanmıştır. Farklı pH değerleri asidik ve bazik karakterli olarak ön denemelerde değerlendirilmiştir. pH 11 seviyelerinde film çözeltisinin rengi (ısıl işlem sonrası) sarımtırak, pH 5-6 seviyelerinde (ısıl işlem sonrası) çözelti rengi beyaz olmuştur. Fitzsimons ve ark. (2007), PSI'nın bünyesinde barındırdığı serum proteinlerinin ısısın etkisiyle denatüre olarak izoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde bulanıklığa yol açtığını bu nedenle nötr pH'da (7) çözeltilerin berraklaştığını ifade etmiştir.

Isıl işlemin etkisiyle pH miktarındaki değişkenlik protein denatürasyonunu hızlandırarak yenilebilir filmlerin mukavemetini etkilemiştir. Anker ve ark. (1998, 2000) farklı sıcaklık (60-70°C) ve pH (7-9) değerlerinde yenilebilir filmlerin yapısının önemli seviyede etkilendiğini, artan pH değerleri ile protein moleküllerinin daha sıkı bir ağ yapısı oluşturduğunu ve buna bağlı olarak gerilme mukavemetinin arttığını ifade etmişlerdir. Özellikle filmlerdeki protein konsantrasyonundaki artışla birlikte, filmlerin pH 7 ve 8 değerlerinde sergilediği yapısal farklılığın pH 9'a göre daha başarılı olduğunu ifade etmişlerdir.

Proteinler, uygulanan ısıl işlemin etkisiyle denatürasyona uğramaktadır bu durum ise üretilen protein bazlı yenilebilir filmlerin esnekliğini artırmaktadır (Havea 1998, Özcan ve Delikanlı 2011). Peynir altı suyu proteinleri farklı sıcaklık ve süre de denatüre (77,5 °C'de 1 saat, 80 °C'de 30 dk ve 90 °C'de 5 dk) olmaktadır (Demir E 2016). Bu çalışmada yapılan farklı denemeler doğrultusunda film üretimi için gerekli olan ısıl işlem ve süresi ön denemelerde 85°C'de 25 dk olarak belirlenmiştir.

Isıl işlem sonrası hazır hale gelen film solüsyonlarını kurutmak için steril plastik petri kutuları tercih edilmiştir. Ön denemelerde, farklı alternatif kurutma aparatları (cam, emaye, plastik, teflon tava, vb.) denenmiştir. Anker ve ark. (2000), kurutma süreci ve kurutmada kullanılan aparatların filmlerin yüzeyinin pürüzlü olup-olmaması noktasında kritik öneme sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Filmlerin standart ölçülerde, kurumasına ve parçalanmadan kullanılmasına uygun olan ve başarılı sonuç veren mika malzemeleri ve plastik petri kutuları olmuştur. Bu durum

mika malzemelerin sürtünme ve yapışmaya karşı sahip olduğu özelliklerden ileri gelmektedir (<https://www.mta.gov.tr/v3.0/bilgi-merkezi/mika>, Erişim Tarihi: 18.05.2022).

Yenilebilir filmler, bünyesinde farklı aktif madde taşıma kabiliyetine sahiptir. Bu maddeler doğal fenolik (kekik, hibiskus vb.) bileşikler olup yenilebilir filmlerin antimikrobiyal özelliklerini geliştirmeye yardımcı olabilmektedir (Nie ve ark. 2015, Avramescu ve ark. 2020). Bu bağlamda yapılan çalışmaya KUY ve HÇ ilave edilmiş olup, ilave edilme şekli bitkilerin özelliklerinin kaybolmaması ve film solüsyonlarının olumsuz etkilenmemesi için film formülasyonunun farklı basamaklarında gerçekleştirilmiştir.

KUY ilaveli film üretim sürecinde, kekik yağı emülsiyonu önceden hazır hale getirilmiştir. Bunun için suda-yağ emülsiyonu hazırlanmıştır. Dağılan faz KUY, sürekli faz distile su ve yüzey aktif madde (surfaktan) olarak ise Tween 80 tercih edilmiştir. Bütün bileşenler bir falkon tüpü içerisinde iyice karıştırılarak emülsiyon oluşturulmuştur. Karıştırma işlemi, emülsiyon sıvısının tamamının film solüsyonu içerisine ilave edilinceye kadar devam edilmiş ve son olarak petri kutularına döküm yapılırken de sürdürülmüştür. Gönül (2000), iki farklı özellikteki (polar-nonpolar) sıvıdan homojen bir ürün eldesi için etkin bir emülsiyon tipine ihtiyaç olduğunu, Çelebi (2009), ise emülsiyon stabilitesinin başarısı üzerinde karıştırma işleminin önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Uçucu yağlar, kurutma işlemi sürecinde filmlerin yapısını önemli düzeyde etkilemektedir. KUY miktarındaki artış; filmlerin kuruma sürelerini kısaltırken, çatlamalara da neden olmuştur. Bu çalışmada %1,5 ve %2 oranlarında KUY kullanılmıştır. Çatlamaların, %2 oranındaki filmlerde daha fazla olduğu ve genel olarak kenarlardan merkeze doğru bir tutum sergilediği görülmüştür. Bu durumun protein bazlı yenilebilir filmler ile uçucu yağların sahip olduğu yapısal özelliklerden kaynaklandığı ve yağların kuruma özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Seydim ve Sarıkuş (2006), süt protein orjinli yenilebilir filmlerin nem bariyer özelliklerinin zayıf olduğunu ifade etmişlerdir. Zivanovic ve ark. (2006), yenilebilir filmlere ilave edilen kekik uçucu yağlarının miktarının artmasına bağlı olarak filmlerin su buharı geçirgenliğinin arttığını tespit etmişlerdir.

Film üretiminin diğer bir basamağında HÇ ilave edilerek filmler elde edilmiştir. Ön denemelerde HÇ'nin ilavesi için birçok yöntem denenmiştir. İlk olarak film solüsyonun hazırlanması sürecinde hibiskus bitkisinin fenolik bileşenlerinin açığa çıkması için farklı çözücülerde, oranlarda (1:10 alkolde, 1:10 distile su içerisinde) ve pH değerlerinde çay ve ekstraktlar hazırlanmıştır. Hazırlanan çay ve ekstraktlar film solüsyonuna doğrudan katıldığı gibi distile su ile oransal (50:50, 70:30, 30:70) olarak karıştırılarak da ilave edilmiştir. Doğrudan bitkiye ait çay ve ekstraktların kullanıldığı film solüsyonlarında ısı işlem sonrası yüksek oranda denatürasyon gerçekleşmiş ve film bütünlüğü bozulmuştur.

Filmde parçalanma problemini gidermek veya asgari seviyeye düşürmek için film solüsyonlarının pH'sı 8-8,50 aralığında hazırlanmış ve yenilebilir film solüsyonuna ısı işlem sonrası kontrollü bir şekilde ilave edilmiştir. Hibiskus çayları asidik karakterli olup, pH değerleri 2-3 aralığında değişkenlik göstermektedir. Proteinler sıcaklığın etkisiyle denatürasyona uğrarken, asitliğin etkisiyle de çökmektedir. Gündoğdu ve ark. (2012), Akgül ve Karaman (2017) serum protein izolatları bünyesinden birçok makro (α -laktalbumin, β -laktoglobulin) ve mikro (laktoferrin ve transferrin vb.) protein gruplarını, enzim ve biyoaktif bileşenleri, valin, lösin, izölösün ve sistein gibi aminoasitleri barındırdığını ve ısı işlemin etkisiyle proteinlerin yapısal değişikliklere uğradıklarını ifade etmişlerdir.

HÇ ve HE farklı oranlarda (%2, 4, 6, 8, 10) ısı işlem sonrası film çözeltilerine kontrollü bir şekilde ilave edilmiştir. İlave edilen her miktar sonrası film solüsyonunda renk değişikliği (eflatun) ve pıhtılaşma tespit edilirken, %8 ve %10 seviyelerinde solüsyonun tamamen pıhtılaşmış sert bir pıhtı olarak şekillendiği gözlenmiştir. HÇ'nin oransal artışı solüsyonun pH değerlerini daha da düşürmüştür. Bu durum film solüsyonunun petri kutularına döküm yapılamayacak düzeyde katılaşmasına neden olmuştur. Pıhtılaşma ve çökmeden kaynaklı dibe çöken protein parçacıkları santrifüj (4100 rpm-5 dk) işlemiyle ortamdan uzaklaştırılmıştır. Film çözeltilerinde meydana gelen renk değişiklikleri hibiskus bitkisinin sahip olduğu fenolik bileşiklerin farklı pH değerleri karşısındaki yapısal değişikliklerden kaynaklandığını göstermektedir. Nitekim Wu ve ark. (2018), hibiskus bitkisinin antosiyaninlerce (renk özelliği) zengin ve düşük asitli bir ortamda ısıya oldukça duyarlı olduğunu ifade etmişlerdir. Bu durum ise bitki antosiyaninlerinin kalite ve rengini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Kekik ve hibiskus ilaveli yenilebilir filmler dışında çalışmada kullanılan bir diğer film ise, zein ilaveli filmlerdir. Zein; %50 alkol (%2) ve su (%1) olmak üzere iki farklı çözücü içerisinde hazırlanmıştır. ZP hidrofobik karakterli olup suda çözünmezken, alkol ve alkali ortamlarda çözünürlük özelliği kazanabilmektedir. Shukla ve Cheryan (2001), zeinin apolar aminoasit miktarı bakımından zengin olmasının sudaki çözünürlük düzeyini azalttığını, pH 11 ve üzeri seviyelerinde ve etanol gibi çözücülerde kolaylıkla çözünebileceğini tespit etmişlerdir. Çalışmada kullanılan çözücülerin seçimi ön denemeler ile belirlenmiştir. Alkolde (alkol uçurulduktan sonra) ve suda (zein pH 11-11,50 aralığında çözündürüldükten sonra) hazırlanan film solüsyonu için son pH 7-8 aralığı tercih edilmiştir. Bu durum homojen bir solüsyon hazırlamak için oldukça önemlidir.

Her iki solüsyon filtre kâğıdından geçirilerek kalıntılar ortamdan uzaklaştırılmış ve süzütünün miktarı, PSI ağırlıkça sulu çözeltisi %5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Zein ve PSI'nın aynı ortamda birleştirilmesi kompozit film üretimi için başarılı görünse de beraberinde bazı problemleri de getirmektedir. İki proteinin farklı özelliklere sahip olması, farklı çözücülerde ve değerlerde çözünür olması elde edilecek solüsyonların kararlı yapısını etkilemektedir. Shukla ve Cheryan (2001) ile Paliwal ve Parakurthi (2014) yenilebilir film üretimi için, antimikrobiyal, parlak, sert, yağ bariyeri gibi özelliklerinden dolayı zeinin tercih edilebileceğini fakat PSI ile birlikte ortak bir çözücüde dengeli ve kararlı dağılmasının güç olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı şekilde, Pan ve Zhong (2016), ise ZP'nin çözünürlük ve aminoasit diziliminin farklı olması farklı karakterli bir protein ile kompozit film üretiminde doğrudan kullanılması durumunda stabil ve dengeli bir dağılımının olamayacağını ifade etmişlerdir.

Bu araştırmada zein, yenilebilir film üretiminde filmlerin mukavemetini, esnekliğini arttırmak ve filmlere antimikrobiyal özellik kazandırmak amacıyla kullanılmıştır. Her iki film formülasyonu kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. ZP ilk önce çözündürülmüş (su ve alkol ortamında), kalıntılar filtre edilerek ortamdan uzaklaştırılmış ve daha sonra peynir altı suyu proteini ile buluşturulmuştur.

Hazırlanan yenilebilir filmler (kekik, hibiskus, zein, sade) ile solüsyonlarının antimikrobiyal etkinliğinin ölçülmesi için minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK)

değerleri tespiti yapılmıştır. Bunun için farklı çözücü (alkol ve su) ve miktarlarda (%2, 4, 6) hazırlanan HÇ ve HE ilaveli filmler ile bitki çayı ve ekstraktları, farklı oranlarda (%0,75, 1, 1,5, 2 ml) kullanılan KUY ilaveli filmler ile KUY emdirilmiş diskler (%0,75, 1, 1,5, 2 ml), farklı oranlarda (%1 ve 2) ve çözücülerde (alkol ve su) hazırlanan ZYF ile alkol ve suda hazırlanmış zein solüsyonları (%2) emdirilmiş diskler ve SYF gruplarının antimikrobiyal etkisi *E. coli* O157: H7'ye karşı denenmiştir. KYF'nin sadece %1,5 ve %2 konsantrasyonları, kekik yağı emdirilmiş disklerin ise tamamının (%0,75, 1, 1,5, 2 ml) *E. coli* O157: H7 suşuna karşı farklı düzeylerde inhibitör etki gösterdiği görülmüştür. Kekik miktarının artmasına paralel olarak mikroorganizmaya karşı olan antimikrobiyal etki de artmaktadır. Bu durum KUY içerisindeki antimikrobiyal özelliğe sahip bileşiklerin konsantrasyonunun fazla olmasıyla açıklanabilmektedir. Marino ve ark. (2001) kekik ve kekik çeşitlerine ait uçucu yağ içeriklerinin antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunu, bitkide bulunan fenolik bileşiklerin hedef mikroorganizmanın hücre zarı içerisine girerek buradaki metabolik reaksiyonlarla etkileşime girdiğini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte baharat ve bitkilerin etkinliği üzerinde, kullanılan konsantrasyon miktarının yanında hedef mikroorganizmanın hücre yapısının da önemli olduğu vurgulanmıştır (Pandit ve Shelef 1994, Marino ve ark. 2001, Sağdıç 2003).

HÇ ve HE (%2, 4) ilaveli filmlerin MİK verilerine göre mikroorganizma üzerinde etkisiz, disklere emdirilmiş çay ve ekstraktlar ile %6 ilaveli HÇ ve HE ilaveli filmlerin ise az etkili olduğu görülmüştür. Bu durum, bitkiye ait etken maddelerin uçuculuğunun az olmasının/olmamasının (kekik bitkisinin aksine) hibiskustan elde edilecek filmlerin antimikrobiyal özelliğini sekteye uğrattırken, bitkiye ait çay ve ekstraktının doğrudan kullanılması ise antimikrobiyal özelliği geliştireceği yönünde açıklanabilmektedir. Nitekim disklere emdirilerek denendiklerinde antimikrobiyal özelliğin olduğu görülmüştür. Hibiskus bitkisi, bünyesinde fenolik bileşikleri, biyoaktif maddeleri içermesi bakımından antimikrobiyal etki taşımaktadır. Etkili ve güçlü ekstraksiyon işlemleri fenolik bileşenlerin miktarını ve türünü dolayısıyla ekstraktın yapısal ve antimikrobiyal etkisini de önemli düzeyde etkilemektedir (Fullerton ve ark. 2011). Jung ve ark. (2013), bitkiye ait ekstraksiyon yönteminde sıcak su kullanımının, etanole göre antosiyanin içeriği ve fenolik bileşenlerin miktarı bakımından daha üstün olduğunu, bunun yanında yüksek konsantrasyonlarda

kullanımının ise antimikrobiyal güç olarak sinerjist etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu araştırmada farklı çözücü (alkol ve su) ortamlarında elde edilen çay ve ekstraktların (HÇ ve HE) MİK verilerine göre antimikrobiyal açıdan etkinliği arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.

ZYF (%1 alkol dışında) ve zein solüsyonları arasında antimikrobiyal açıdan önemli düzeyde farklılık tespit edilmemiştir. MİK verilerine göre hedef mikroorganizma üzerinde az da olsa antimikrobiyal etki göstermiştir. Bu durum ZP'ye ait spesifik özelliklerden ileri gelmektedir. Nitekim, Shukla ve Cheryan (2001) zeinin nem ve oksijen bariyer özelliklerinin kullanıldığı alanlarda (film, kaplama) koruyucu tabaka oluşturarak antimikrobiyal etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.

MİK verilerine bağlı olarak en etkin değerler yenilebilir film üretiminde tercih edilmiştir. Filmler, köfteler arasına yerleştirilerek buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bu süre zarfında film ve köftelerde meydana gelen değişimler (fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal açıdan) incelenmiştir. Et ve et ürünlerinde bozulmayı tespit etmede önemli parametrelerden (besin, oksijen, mikroorganizma tipi, mikrobiyal yük, vb.) birisi de pH'dır. pH et ve et ürünlerinde mikrobiyal faaliyet sonucu meydana gelen değişimlerin/bozulmaların seviyesini tespit etmede bir gösterge olarak kullanılmaktadır. Pektaş (2013), depolama sürecinde meydana gelen biyokimyasal ve mikrobiyal olayların etlerin (kıyma) pH değerlerini önemli seviyelere taşıdığını ifade etmiştir. Bazı bakteriler gıda (et) bileşenlerini parçalayarak azotlu bileşikler (NH_3 , putresin, kadaverin vb.) açığa çıkarırken, bazı bakteri grupları ise gıda da bulunan karbonhidratları parçalayarak asit üretirler. Normal taze ete ait pH değerleri 5,5-6 arasında değişmektedir. Ancak azotlu bileşikler gıdayı bazik karakterli hale getirerek pH'nın 7-8 seviyesine çıkmasına, asitli bileşikler ise gıdanın pH'sını düşürerek asidik karakterli olmasına neden olur (Ray ve Bhunia 2016, Aksan 2017). Çalışmada köftelerin muhafaza günlerinde test edilen pH değerleri kekik ve zein grupları için 3. günde ufak bir artış gösterse de asıl yükselişin depolamanın 10. gününden itibaren olduğu görülmüştür. HYF ve SYF ile ambalajlanan köfte gruplarına ait pH değişimi 7. günden, KP ve KN gruplarında ise sırasıyla 5. ve 7. günlerden itibaren yükselişe geçtiği görülmüştür. Genel olarak gruplara ait pH değerleri ilk olarak düşüş sonrasında ise yükseliş ivmesi kazanmıştır. Ray ve Bhunia (2016), pH'daki düşüşü; mikroorganizmalar tarafından gıdada az miktarda bulunan karbonhidratların ilk sırada

parçalanmasıyla, karbonhidratların bitmesi durumunda ise ikinci sırada bulunan proteinli grupların (azotlu bileşikler, küçük peptitler vb.) kullanılmasıyla açıklamışlardır. Benzer şekilde bu durum köftelerde ilk zamanlar mikroorganizmalar tarafından glikozun parçalanması sonucu açığa çıkan asitlerin pH'yı 5,5 seviyelerine kadar düşürdüğü ve sonrasında azotlu bileşiklerin parçalanması ile tekrardan 7,3 seviyelerine kadar yükselttiği görülmüştür.

Mikroorganizma faaliyetleri sonucu değişen pH değerleri köftelerde arzu edilmeyen kokuşma reaksiyonlarının belirtisi olmuştur. Azotlu bileşiklerdeki artışla açığa çıkan kokuşma bileşikleri kimyasal yöntemler ile kısa sürede tespit edilebilirken, tüketici yönünden kokuşma kaynaklı kokunun algılanabilirliği başlangıçta mümkün olmamaktadır. Dolayısıyla Eber yöntemi ile yapılan kokuşma testi genellikle duyu analize göre kokuşmayı erken aşamalarda tespit edebilmektedir. Zira çalışmada 5. günde kontrol grupları kokuşma pozitifken 7. günde HYF, SYF ile ZYF-A ve 10. günde ise KYF-A, KYF-B ile ZYF-B kokuşma pozitif sonuç vermiştir. Duyusal analiz verilerine göre ise, kontrol grupları 5. günden, diğer gruplar (kekik grupları hariç) 10. günden itibaren kokuşma belirtileri göstermiştir, kekik gruplarında ise ancak 12. günde kokuşma belirtileri tespit edilmiştir. pH değerleri gruplara göre farklılık gösterse de pH'nın yükseldiği günlerde genellikle kokuşma testi de pozitif sonuç vermiştir.

Et ve et ürünlerinde mikrobiyal bozulma sonucu kötü koku, ekşimsi tat vb. gibi olumsuz durumlar gözlemlenebilmektedir (Dave ve Ghaly 2011). Özellikle kıyma ve kıyma benzeri ürünlerde görülen bozulmalar aerobik ve anaerobik koşullarda olmaktadır. *Pseudomonas* spp aerobik, *Brochothrix thermosphacta* ise anaerobik koşullar altında mikrobiyal bozulmaya neden olan bakteri gruplarından (Doulgeraki ve ark. 2012). Bu bakteri grupları normal olarak etin doğal florasında bulunabilir. Gıdaların bünyesinde farklı mikroorganizmalar farklı düzeyde yer alabilmektedir. Bu durum gıdanın bozulmasıyla mikroorganizmanın baskın mikroflora oluşturarak ortama hâkim olmasından ileri gelir. Genel olarak gıdalarda bozulmanın seviyesi, mikrobiyal yüke, mikroorganizmanın türüne bağlı olmakla birlikte 10^{6-8} kob/ml arasında değişmektedir (Aksan 2017). Çalışmada hamburger köftelere *E. coli* O157: H7 suşu McFarland 0,5'e göre ayarlanarak inoküle edilmiştir. Toplam 8 grup köfte hazırlanmış olup, bunların ikisi kontrol grubunu oluşturmaktadır. Kontrol grubu içerisinde de bir gruba (KP) bakteri inoküle edilmiştir. Farklı analiz günlerinde

köftelerden SMAC, VL, PCA besiyerlerine ekimler yapılmıştır. KN mikrobiyal yük açısından değerlendirildiğinde kendi doğal florasında bulunan mikroorganizmaların etkin olduğu ve kısa sürede hızla çoğalarak 10^{8-9} kob/g oranına yükseldiği görülmüştür. Benzer şekilde KP grubunda ise antimikrobiyal özelliğe sahip filmlerin kullanılmaması mikrobiyal yükü hızlı bir şekilde 10^{8-9} kob/g seviyelerine yükseltmiştir. Diğer gruplarda mikroorganizma yükünün kademeli olarak yükseldiği görülmüştür.

Deneme gruplarında kullanılan tüm filmlerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve kontrol grupları ile kıyaslandığında araştırılan tüm mikroorganizma gruplarında günlere göre değişmekle birlikte genellikle 10^2 civarında fark oluşturmıştır. Analiz sonuçları mezofil canlı sayısı yönünden incelendiğinde genellikle gruplarda 10^7 sayısına ulaşılan günlerde aynı zamanda duyuusal testlerde kokuşma sonuçlarının pozitif olduğu da belirlenmiştir. Kontrol gruplarının her ikisi de muhafazanın 5. gününde hem 10^7 'ye ulaşmış hem de kokuşma pozitif sonuç vermiştir. Kekik grupları hariç kalan diğer deneme gruplarında 10. günde kokuşma pozitifken kekik grubu 12. güne kadar dayanmıştır.

SYF'nin tek başına kullanıldığında diğer gruplar içerisinde antimikrobiyal etkisinin (az etkili) olduğu görülmüştür. Bu durum PSI kendi yapısında yer alan bileşenlerden (laktoferrin, lizozim, laktoperoksidaz) ileri gelmektedir. Nitekim, Min ve ark. (2005), *Salmonella enterica* ve *E. coli* O157: H7 karşı laktoperoksidaz sistemi içeren yenilebilir peynir altı suyu protein filmlerinin etkili olduğunu ve mikroorganizma gelişimini inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Proctor ve Cunningham (1988), Appelmelk ve ark. (1994) laktoferrin, lizozim ve laktoperoksidaz sistemlerin antimikrobiyal özelliğe sahip doğal biyoaktif bileşikler olduğunu bildirmişlerdir.

Deneme gruplarının tüm analiz sonuçları incelendiğinde elde edilen yenilebilir filmlerin ve içine ilave edilen antimikrobiyal bileşenlerin (KUY, HÇ, ZP) *E. coli* O157: H7 üzerinde antimikrobiyal etkisinin farklı şekillerde olduğu anlaşılmıştır. Antimikrobiyal etkinin en yüksek olduğu kekik gruplarının 2 log oranında, diğer grupların ise 1 log oranında bakteri konsantrasyonunu azalttığı tespit edilmiştir.

Kekik grupları diğer gruplara göre koliform ve fekal koliform bakteri sayılarının azalmasında ve/veya üremenin yavaşlamasında diğer gruplara göre oldukça

etkili olmuştur. Kontrol gruplarında 5. günde ulaşılan bakteri sayısı kekik gruplarında 12. güne denk gelmektedir. Deneme gruplarının tüm analiz sonuçları incelendiğinde kekik gruplarının kontrol grubuna göre köfte raf ömrünü 7 gün uzattığı, diğer film gruplarının ise yine kontrol grubuna göre 5 gün daha uzun raf ömrü sağladığı tespit edilmiştir.

Kekik ve hibiskus bitkilerinden elde edilen bileşenlerin farklı dozlarının (hidrolizat veya uçucu yağ) aktif olarak kullanıldığı ve patojen mikroorganizmalar üzerindeki (özellikle *E. coli* O157: H7) etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Marino ve ark. 1999, Sağdıç 2003, Sağdıç ve Özcan 2003, De Feo ve ark. 2003, Dadaloğlu ve Evrendilek 2004, Olaleye 2007, Govaris ve ark. 2011, Sirag ve ark. 2013, Paim ve ark. 2017, Keskin ve ark. 2018).

Fullerton ve ark. (2011), *Hibiscus sabdariffa*'nın yerel marketten satın aldıkları birçok gıda numunesine (ıspanak, sebze ve kıyma) dış ortamdan bulaştırdıkları *E. coli* O157: H7 suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için araştırma yapmışlardır. Farklı dozlarda (%2,5, 5, 10) uygulanan bitki ekstraktlarının patojen üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği ifade edilmiştir. Özellikle yüksek dozun diğerlerine nazaran daha etkin olduğu görülmüştür.

Jung ve ark. (2013), *Hibiscus sabdariffa* L.'nin antibakteriyal ve antioksidan aktivitesini tespit etmek için yaptıkları çalışmada, bitki özütlerinin mikroorganizmalar üzerinde (*Bacillus subtilis*, *S. aureus* ve *E. coli*) antimikrobiyal aktivite gösterdiği özellikle 25 ve 50 mg/ml konsantrasyonlarının *E. coli* için güçlü bir etki gösterdiği ifade edilmiştir.

Li ve ark. (2021), KUY içeren antibakteriyal nanoemülsiyonların geliştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada, %1 (h/h) KUY'un *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı uzun depolama süresince inhibitör etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Çalışma süresince kullanılan yenilebilir filmlerin, köftelerin antimikrobiyal özelliklerini iyileştirmelerinin yanında yapısal özelliklerinden de faydalanılmıştır. Filmler köftelerin birbirine yapışmaması ve bütün olarak köfteyi örtmesi için ara malzeme olarak kullanılmıştır. Filmlerin dayanıklılığı, çözünürlüğü, kokusu, renk değişimleri vb. gibi durumlar çalışmanın başarılı olarak değerlendirilmesindeki önemli

parametrelerdendir. Depolama süresince filmlerin yapısında (ZYF-B hariç) parçalanma tespit edilmemiştir. Filmlerin köftelere temas etmesi sonucunda filmler köftenin nemini kendi bünyesine almıştır. Bu durum filmlerin yapısında yumuşamaya sebep olsa da deformasyon, kopma, çözünme gibi durumlar görülmemiştir. Kekik ve sade film gruplarında etin kırmızı rengi filmler üzerinde kızarıklığa neden olurken, hibiskus (eflatun) ve zein gruplarında (sarımtırak) film kendi rengini korumuştur. Özellikle HÇ ilaveli filmler bu anlamda ayrıcalıklı konumdadır. İçerdiği fenolik bileşikler sayesinde bulundukları ortamları renklendirme özelliğine sahiptir. Wu ve ark. (2018) hibiskusun parlak kırmızı renge sahip olduğunu, farklı pH değerlerinde mikrobiyal yükün artmasına bağlı olarak rengin değişkenlik gösterdiğini ilerleyen süreçlerde yeşil-mavi rengin açığa çıktığını vurgulamışlardır. Nitekim 7. gün ve sonrasındaki günlerde genel olarak pH'nın ve mikroorganizma yükünün artmasına bağlı olarak köftelerde kokuşma (Eber) pozitif sonuç vermiş ve açığa çıkan azotlu bileşikler filmin köfte ile temas ettiği yerlerde renk değişikliğine (yeşil) neden olmuştur.

Son yıllarda gıdanın özelliğine göre renk değiştirerek gıdanın tazeliği, güvenliği hakkında fikir veren akıllı ambalajlama tekniklerine olan ilginin arttığı görülebilmektedir (Roy ve Rhim 2020). Bu bağlamda renk indikatörü olarak çeşitli sentetik ve doğal maddeler kullanılabilmektedir. Hibiskus bitkisi sahip olduğu özellikleri sayesinde gıda ambalajlama teknolojisinde önemli bir yere sahiptir. Çalışmada kullanılan HÇ ilaveli filmlerde depolama süresince gözlenen renk değişikliği beraberinde bozulma sürecinde köftenin rengini etkilemiştir. Bu durum taze gıdaların depolanması, lojistiği gibi aşamalarda hibiskus gibi antosiyaninlerce zengin doğal bitkilerin hidrosollerinin kullanımını destekleyerek, elde edilecek filmlerin antimikrobiyal özelliklerini geliştirip bozulma indikatörü olarak kullanılabileceği anlamını taşımaktadır. Nitekim, Zhang ve ark. (2019), hibiskus antosiyanin içerikli biyobozunur bileşenlerden akıllı pH indikatör film elde ederek domuz etlerine uygulamış ve renk değişikliği ile etteki bozulmanın tespitini yapmışlardır.

Yapılan çalışmalar doğrultusunda; yenilebilir ambalajlama için çok sayıda araştırma yapılmış olsa da güncel ve dinamik olan ambalajlama alanında daha da detaylı çalışmalara ve denemelere ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Bu araştırmada elde

edilen bulgular yenilebilir ambalajlamanın hem gıda kalitesi ve raf ömrü üzerine hem de ambalajlama tekniği, pratikliği ve ekonomikliği yönünden kullanılabilirliğine dair pek çok veri sağlamıştır. Bu çalışmada yapılan tüm bulgular incelendiğinde başarılı çıkarımlar yapılabilir. Deneme gruplarının tüm analiz sonuçları incelendiğinde kekik gruplarının kontrol grubuna göre köfte raf ömrünü 7 gün uzattığı, diğer film gruplarının ise yine kontrol grubuna göre 5 gün daha uzun raf ömrü sağladığı tespit edilmiştir. *E. coli* O157: H7 üzerine filmlerin antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde kekik grubunun 10^2 (2 log) oranında yıkımlama yaptığı diğer gruplarda ise bu oranın 1 logaritmalık düşüş olarak tespit edildiği gözlenmiştir. Çalışmada KUY ile HÇ kullanılarak elde edilen filmlerde kekik bitkisinin uçucu yağının uçuculuk özelliği ile hibiskusun renk özellikleri dikkat çekmektedir. Kekik'in antimikrobiyal özelliği uçucu bileşenleri içerisinde saklı iken, hibiskusta bu durum daha farklı olup, etki edeceği gıda ile birebir temas halinde olması ile ortaya çıkmaktadır. Filmlerin hepsinin *E. coli* O157: H7 üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu, özellikle kekik gruplarının diğer filmlere göre çok daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Farklı karakterli proteinler ile kompozit film eldesi başlangıçta sinerjist bir etki gibi görünse de süreç itibarıyla antagonistik bir tutuma dönüşebilmektedir. Proteinlerin kendi karakteristik özelliklerine göre film proses süreci belirlenmelidir. Çok büyük yatırım gerektirmeyen basit düzenekler ile yenilebilir film elde edilebilir. Özellikle yörede çöpe giden çok kıymetli bileşenlere sahip sütçülük artığı olan PAS yenilebilir film için başarıyla kullanılabilir. Plastik filmlerin doğaya verdiği zararı azaltmak adına yenilebilir film başarıyla öne çıkabilir. PAS ile ekonomik, dayanıklı, insan ve çevre dostu ambalajların üretimi kolaylıkla sağlanabilmektedir. Bu doğa dostu ambalaj aynı zamanda gıda güvenliğinin sağlanmasında da aktif olarak kullanılabilir. Zira filmlerin bileşimine eklenecek antimikrobiyal etkili doğal bileşikler birçok gıda patojeni üzerine antimikrobiyal etkisi ile güven vermektedir.

5. KAYNAKLAR

Abbasi A, Emam-Djomeh Z, Mousavi MAE and Davoodi D: Stability of vitamin D3 encapsulated in nanoparticles of whey protein isolate. Food Chem, 143: 379-383, 2014.

Akbaba G: Yenilebilir ambalajlar. Bilim ve Teknik Dergisi, 30-32, 2006.

Akcan T: Doğal antioksidan katkılı yenilebilir filmlerin köfte tipi et ürünlerinde kullanımının araştırılması. Ege Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2013.

Akçay S: Antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmlerin dumanlanmış balığın kalitesine etkisi. İstanbul Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2012.

Akgül F ve Karaman A: Süt ürünlerinde serum protein izolatı kullanımı. ADÜ Ziraat Dergisi, 14(1): 95-99, 2017.

Akpınar AB, Özcan T and Yılmaz LE: Membrane processes in whey production. Mljekarstvo, 59(4): 282-288, 2009.

Aksan E: Gıdalarda Mikrobiyal Bozulmalar. **İçinde:** Erkmen O (Ed): Gıda Mikrobiyolojisi. 5. Baskı, Efil yayınevi, Ankara, s. 78-87, 2017.

Akyüz N: Süt endüstrisinde yan ürünlerin değerlendirilmesi ve önemi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(1-2): 207-216, 1979.

Aloğlu HŞ ve Öner Z: Peynir altı suyu proteinlerinin mikroenkapsülasyon teknolojisinde kaplama materyali olarak kullanım olanakları. Akademik Gıda, 8(3): 38-42, 2010.

Al-delaimy KS and Stiles ME: Microbial quality and shelf-life of raw ground beef. Can J. Pub. Health 66: 317-321, 1975.

Anker M, Stading M and Hermansson AM: Mechanical properties, water vapor permeability, and moisture contents of α -lactoglobulin and whey protein films using multivariate analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(5): 1820- 1829, 1998.

Anker M, Stading M and Hermansson AM: Relationship between the microstructure and the mechanical and barrier properties of whey protein films. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(9): 3806-3816, 2000.

Appelmek BJ, An YQ, Geerts M, Thijs BG, De Boer HA, Maclaren DM, De Graaff J and Nuijens J: Lactoferrin is the lipid A-binding protein. Infect Immun 62(2): 628-632, 1994.

Appendini P and Hotchkiss JH: Review of antimicrobial packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologie, 3: 113-126, 2002.

Atasever M ve Atasever M: Kıymalarda bazı patojenlerin izolasyon ve identifikasyonu. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 41(1): 60-68, 2015.

Avramescu SM, Butean C, Popa CV, Ortan A, Moraru I and Temocico G: Edible and functionalized films/coatings-performances and perspectives. *Coatings*, 10(7): 1-45, 2020.

Ayana B ve Turhan KN: Gıda ambalajlanmasında antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmler/kaplamalar ve uygulamaları. *Gıda Dergisi*, 35(2): 151-158, 2010.

Azevedo VM, Dias MV, De Siqueira Elias HH, Fukushima KL, Silva EK De Deus Souza Carneiro J, Borges SV: Effect of whey protein isolate films incorporated with montmorillonite and citric acid on the preservation of fresh-cut apples. *Food Research International*, 107: 306-313, 2018.

Badr KR, Ahmed ZS, Elgamel MS: Evaluation of the antimicrobial action of whey protein edible films incorporated with cinnamon, cumin and thyme against spoilage flora of fresh beef. *International Journal of Agricultural Research*, 9(5): 242-250, 2014.

Bagheri L, Madadlou A, Yarmand M, Mousavi ME: Nanoencapsulation of date palm pit extract in whey protein particles generated via desolvation method. *Food Res Int*, 51 (2): 866-871, 2013.

Baldwin EA: Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: Past, Present and Future, **In:** Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos- Carriedo M (Eds): *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. p. 25-64. CRC Press, Florida, 1994.

Balpetek D: Bazı et ürünlerinde *E. coli* O157: H7 varlığının araştırılması. Selçuk Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2009.

Baltic MZ and Boskovic M: When man met meat: Meat in human nutrition from ancient times till today. *Procedia Food Science*, 5: 6-9, 2015.

Baş M ve Merdol TK: Ankara piyasasında tüketime sunulan hamburgerlerde *E. coli* O157: H7 kontaminasyonu üzerine bir araştırma. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 31(1): 19-29, 2002.

Bayaz M: Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Akademik Gıda* 12(3): 45-53, 2014.

Baysal A: Türk mutfağında köfte, sarma ve dolmalar: türleri, özellikleri, besin değeri. Halıcı F (Ed): *Birinci milletlerarası yemek kongresi. Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayını*, Ankara, 1988.

Baysal T, Ersus S ve Apaydın E: Yenilebilir mısır zeini filmi kaplamanın orta nemli domates kalitesi üzerine etkisi. *Gıda Dergisi*, 34(6): 359-366, 2009.

Bekar E: Etlerde *Escherichia coli* O157: H7 varlığının araştırılması. Kafkas Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kars, 2019.

Bolivar-Monsalve J, Ramirez-Toro C, Bolivar G, Ceballos-Gonzalez C: Mechanisms of action of novel ingredients used in edible films to preserve microbial quality and oxidative stability in sausages-A Review. *Trends in Food Science and Technology*, 89: 100-109, 2019.

Bounous G, Batist G and Gold P: Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: Role of glutathione. *Clinical and Investigative Medicine*, 12(3): 154-161, 1989.

Bourtoom T: Edible films and coatings characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3): 237-248, 2008.

Bryant HE, Athar MA and Pai CH: Risk Factors for *Escherichia coli* O157: H7 Infection in an urban community. *The Journal of Infectious Diseases*. 160(5): 858-864, 1989.

Buldur PM: Encapsulation of food flavors via coacervation method. İstanbul Teknik Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2012.

Burt S: Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253, 2004.

Cagri A, Ustunol Z and Ryser ET: Inhibition of three pathogens on bologna and summer sausage using antimicrobial edible films. *Journal of Food Science*, 67(6): 2317-2324, 2002.

Carlin F, Gontard N, Reich M and Nguyen-The C: Utilization of zein coating and corbic acid to reduce *Listeria monocytogenes* growth on cooked sweet corn. *Journal Food Science*, 66(9): 1385-1389, 2001.

Carneiro-da-Cunha MG, Cerqueira MA, Souza BWS, Souza MP, Teixeira JA and Vicente AA: Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*, 95(3): 379-385, 2009.

Case RA, Bradley RL and Williams RR: Chemical and Physical Methods. In: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. GH Richardson (Ed): 15th Ed., 327-404, American Public Health Association, Baltimore, USA, 1985.

Cha DS and Chinnan MS: Biopolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Food Sci Nutr*, 44: 223-237, 2004.

Cid-Ortega S and Guerrero-Beltran JA: Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. *Journal of Food Science and Technology*. 52(11): 6859-6869, 2015.

Cisneros-Zevallos L and Krochta JM: Dependence of coating thickness on viscosity of coating solution applied to fruits and vegetables by dipping method. *Journal of Food Science*, 68(2): 503-510, 2003.

Cosler HB: Method of producing zein-coated confectionery. U.S Patent No. 2, 791, 509, 1957.

Cruz-Gálvez AM, Castro-Rosas J, Rodríguez-Marín ML, Cadena-Ramírez A, Tellez-Jurado A, Tovar-Jiménez X, and Gómez-Aldapa CA: Antimicrobial activity and physicochemical characterization of a potato starch-based film containing acetic and methanolic extracts of *Hibiscus sabdariffa* for use in sausage. *LWT*, 93: 300-305, 2018.

Cuvelier ME, Richard H and Berset C: Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(5): 645-652, 1996.

Çelebi N: Emülsiyonlar. **İçinde:** Modern Farmasötik Teknolojisi, 2. Baskı, p: 277-299, Mattek Matbaacılık, Ankara, 2009.

Çelik K ve Önür ZY: Peynir altı suyu ürünlerinin gıda endüstrisinde kullanımı. Sonçağ yayıncılık, Ankara, s. 1-10, 2016.

Çiçek YI: Properties and application of whey protein isolate based films containing clove and apricot essential oils. Gaziantep Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, 2011.

Çimen M: Fen ve Sağlık Alanlarında SPSS Uygulamalı Veri Analizi. Palme Yayıncılık, 2015.

D los Santos-Santos MA, Balois-Morales R, Jiménez-Zurita JO, Alia-Tejagal I, López-Guzmán GG, Palomino-Hermosillo YA, Berumen-Varela G and García-Paredes JD: Edible coating based on roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) mucilage applied to soursop fruits in postharvest storage. Journal of Food Quality.1-12, 2020

Dadaloğlu I and Evrendilek G: Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. J. Agric. Food Chem, 52(26): 8255-8260, 2004.

Dainelli D, Gontard N, Spyropoulos D, Zondervan-van den Beuken E and Tobback P: Active and intelligent food packaging: Legal aspects and safety concerns. Trends Food Science and Technology, 19: 103-112, 2008.

Dave D and Ghaly AE: Meat spoilage mechanisms and reservation techniques: A Critical Review. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 6 (4): 486-510, 2011.

Debeaufort F, Quezada-Gallo JA and Voilley A: Edible films and coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38(4): 299-313, 1998.

De Feo V, Bruno M, Tahiri B, Napolitano F and Senatore F: Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(13): 3849-3853, 2003.

De Mulder-Johnston C: Thermal analysis of and oil migration through films from, whey protein isolate. PhD thesis Univ Calif Davis, 58, 1999.

Demir E: Peynir Altı Suyu ve Değerlendirme Yöntemleri. Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi. 2016.

Demir M: Coğrafi işaret örneği olarak Kars kaşar peynirinin üretimi ve dağılımı. Kafkas Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi. 1: 61-81, 2016.

Dhanapal A, Sasikala P, Rajamani L, Kavitha V, Yazhini G and Shakila Banu M: Edible films from polysaccharides. Food Science and Quality Management, 3: 1-10, 2012.

Di Pierro P, Sorrentino A, Mariniello L, Giosafatto CVL and Porta R: Chitosan/whey protein film as active coating to extend ricotta cheese shelf-life. LWT- Food Science and Technology, 44(10): 2324-2327, 2011.

Dinçoğlu AH ve Ardıç M: Peynir altı suyunun beslenmemizdeki önemi ve kullanım olanakları. Harran Üniv Vet Fak Dergisi, 1(1): 54-60, 2012.

Doğru E ve Ulusoy S: Alfa-Pinen, Terpeneol, Sineol, Linelol ve Kamforun bakteriyel hücreler arası iletişim sistemi üzerine inhibitör etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(3): 558-565, 2016.

Donhowe IG and Fennema O: Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions and testing methods. **In:** Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos- Carriedo M (Eds): Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. p. 1-24. CRC Press, Florida, 1994.

Doulgeraki A, Ercolini D, Villani F and E-Nychas GJ: Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. International Journal of Food Microbiology, 157(2): 130-141, 2012.

Dröge W, Schulze-Osthoff K, Mihm S, Gaiter D, Schenk H, Eck H-P, Roth S and Gmunder H: Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. FASEBJ 8: 1131-1138, 1994.

Dursun S ve Erkan N: Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. Journal of Fisheries Sciences, 3(4): 352-373, 2009.

Duyar HA, Gargacı ve Yücel Y: Yenilebilir mısır zeini filmiyle kaplama ve vakum paketlemenin buzdolabında depolanan palamut balığının (Sarda sarda) raf ömrüne etkisi. Alınleri Zirai Bilimler Dergisi, 31(2): 77-83, 2016.

Ebel E, Schlosser W, Kause J, Orloski K, Roberts T, Narrod C, Malcolm S, Coleman M and Powell M: Draft Risk Assessment of the Public Health Impact of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef, Journal of Food Protection 67(9): 1991-1999, 2004.

Emiroğlu ZK, Yemiş GP, Coşkun BK and Candoğan K: Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. Meat Science, 86(2): 283-288, 2010.

Ergezer H ve Gökçe R: Tavuk etlerinde mikrobiyal dekontaminasyon yöntemleri. Akademik Gıda Dergisi, 1(5): 33-37, 2003.

Fabra MJ, Hambleton A, Talens P, Debeaufort F, Chiralt A and Voilley A: Influence of interactions on water and aroma permeabilities of ι-carrageenan-oleic acid-beeswax films used for flavour encapsulation. Carbohydrate Polymers, 76(2): 325-332, 2009.

Farag RS, Daw ZY, Hewedi FM and El-Baroty GSA: Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils, Journal of Food Protection, 52(9): 665-667, 1989a.

Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM and ElBaroty GSA: Antioxidant activity of some spices essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. Journal of the American Oil Chemists' Society 66(6): 792-799, 1989b.

Farajzadeh Sheikh A, Rostami S, Âmin M, Abbaspour A, Goudarzi H and Hashemzadeh M: Isolation and identification of *Escherichia coli* O157: H7 from ground beef hamburgers in Khuzestan Province, Iran, Afr J Microbiol Res. 7(5): 413-417, 2013.

Faydaoğlu E ve Sürücüoğlu MS: Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2): 233-265, 2013.

Fernández-Pan I, Carrión-Granda X, Maté JI: Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. *Food Control*, 36(1): 69-75, 2014.

Fitzsimons SM, Mulvihill DM and Morris ER: Denaturation and aggregation process in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. *Food Hydrocolloids*, 21(4): 638-644, 2007.

Franssen LR and Krochta JM: Edible coatings containing natural antimicrobials for processed foods. *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*, 250-262, 2003.

Fullerton M, Khatiwada J, Johnson JU, Davis S and Williams LL: Determination of antimicrobial activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) on *Escherichia coli* O157: H7 isolated from food, veterinary, and clinical samples. *Journal of Medicinal Food*, 14(9): 950-956, 2011.

Gaba ABM, Hassan MA, Abd EL-Tawab AA, Abdelmonem MA and Morsy MK: Protective impact of chitosan film loaded oregano and thyme essential oil on the microbial profile and quality attributes of beef meat. *Antibiotics*, 11(5): 583, 2022.

Gennadios A, Brandenburg AH, Weller CL and Testin RF: Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11): 1835-1839, 1993.

Gennadios A, McHugh TH, Weller CL and Krochta JM: Edible coatings and films based on proteins. **In:** *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO (Eds.): Technomic Publishing Company, USA, pp. 201-277, 1994.

Gennadios A: Edible films and coatings from proteins. *Proteins in Food Processing*, 442-467, 2004.

Ghaouth AE, Ponnampalam R, Castaigne F and Arul J: Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. *Hort Science*, 27(9): 1016-1018, 1992.

Ghasemi S, Javadi NHS, Moradi M and Khosravi-Darani K: Application of zein antimicrobial edible film incorporating zataria multiflora boiss essential oil for preservation of Iranian ultrafiltered feta cheese. *African Journal of Biotechnology*, 14(24): 2014-2021, 2015.

Giatrikou V, Ntzimani A and Savvaidis IN: Combined chitosan-thyme treatments with modified atmosphere packaging on a ready-to-cook poultry product. *Journal of Food Protection*. 73(4): 663-669, 2010.

Gol NB and Rao TVR: Influence of zein and gelatin coatings on the postharvest quality and shelf life extension of mango (*Mangifera indica* L.) *Journal Fruits*. 69(2): 101-115, 2014.

Gómez-Aldapa CA, Díaz-Cruz CA, Castro-Rosas J, Jiménez-Regalado EJ, Velazquez G, Gutierrez MC and Aguirre-Loredo RY: Development of antimicrobial biodegradable films based on corn starch with aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* L. *Starch- Stärke*, 73(1-2): 1-9, 2021.

Gontard N and Guilbert S: Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. Food Packaging and Preservation, 159-181, 1994.

Govaris A, Botsoglou E, Sergelidis D and Chatzopoulou PS: Antibacterial activity of oregano and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in feta cheese packaged under modified atmosphere. LWT- Food Science and Technology, 44(4): 1240-1244, 2011.

Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y ve Zorba Ö: Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. 3. Baskı Atatürk Üniv, Ziraat Fak, 318, Erzurum. s. 287, 1999.

Gökmen S, Palamutoğlu R ve Sarıçoban C: Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(1): 36-50, 2012.

Gönül N: Çok Fazlı Sistemler II. Süspansiyon ve Emülsiyon Teknolojisi. Ankara Üniv, Eczacılık Fakültesi Yayınları no:82. Ankara, 2000.

Gross RA and Kalra B: Biodegradable polymers for the environment. Science, 297(5582): 803- 807, 2002.

Guilbert S, Gontard N and Cuq B: Technology and applications of edible protective films. Packaging Technology and Science, 8(6): 339-346, 1995.

Guo M: Whey Protein Production, Chemistry, Functionality and Applications. Wiley, USA, 2019.

Gülseren İ, Fang Y and Corredig M: Zinc incorporation capacity of whey protein nanoparticles prepared with desolvation with ethanol. Food Chem, 135 (2): 770-774, 2012.

Gündoğdu E, Yıldız H ve Çakmakçı S: Süt bileşenleri üzerine ısıtılmanın etkileri ve besin değeri konusunda değerlendirmeler. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, 5(1): 162-165, 2012.

Gweyi-Onyango JP, Osei-Kwarteng M and Mahunu GK: Measurement and maintenance of *Hibiscus sabdariffa* quality. In: Mariod AA, Tahir HE, Mahunu GK (Eds): Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Chemistry, Production, Products and Utilization., p. 47-61. Academic Press, India, 2021.

Halkman AK, Noveir MR ve Doğan HB: *E. coli* O157: H7 serotipi. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü. Ankara. 2021.

Hall D: Edible coatings from lipids, waxes and resins. In: Baldwin EA, Hagenmaier R, Bai J (Eds): Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. p. 79-101. CRC Press, Boca Raton, London, New York, 2011.

Hamilton LA and Olcott HS: VIII. Autoxidation of oleic acid, methyl oleate, and oleyl alcohol. Industrial & Engineering Chemistry, 29(2): 217-223, 1937.

Hammann F and Schmid M: Determination and quantification of molecular interactions in protein films: a Review. Journal of Materials, 7(12): 7975-7996, 2014.

Hampikyan H ve Çolak H: Nisin ve gıdalardaki antimikrobiyal etkisi. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 6(2): 142- 147, 2007.

Han JH: Antimicrobial food packaging. Food Technol, 44: 63-67, 2000.

Harrigan, WF: Laboratory methods in food microbiology. Third edition, Academic press. California, USA, 1998.

Havea P: Studies on heat-induced interactions and gelation of whey protein. Massey University. 1998.

Holownia KI, Chinnan MS, Erikson MC and Mallikarjunan P: Quality evaluation of edible film-coated chicken strips and frying oils. Journal of Food Science, 65(6): 1087-1090, 2000.

Howard LR and Dewi T: Sensory, microbiological and chemical quality of mini-peeled carrots as affected by edible coating treatment. Journal of Food Science, 60(1): 142-144, 1995.

İyidoğan NF and Bayındırlı A: Effect of l-cysteine, kojic acid and 4-hexylresorcinol combination on inhibition of enzymatic browning in Amasya apple juice. Journal of Food Engineering, 62(3): 299-304, 2004.

Jäger W: Metabolism of Terpenoids in Animal Models and Humans. **In:** Başer KHC, Buchbauer G (Eds): Handbook of Essential Oils Science, Technology and Applications. p. 209-234. CRC Press, US, 2010.

Janes M, Kooshesh S and Johnson M: Control of *Listeria monocytogenes* on the surface of refrigerated, ready to eat chicken coated with edible zein film coatings containing nisin and/or calcium propionate. Journal of Food Science, 67(7): 2754-2757, 2002.

Janjarasskul T and Krochta JM: Edible packaging materials. Annual Review of Food Science and Technology, 1(1): 415-448, 2010.

Joya JAA, Zapata MAL, Perez OBA, León CT, Oropeza DEN, Sobrevilla JMV, Aguilar MA, Chacón XR, Rojas R, Aguiñaga MER and Aguilar CN: Basic and applied concepts of edible packaging for foods. Food packaging and preservation, Mexico. p. 12, 2018.

Jridi M, Souissi N, Mbarek A, Chadeyron G, Kammoun M and Nasri M: Comparative study of physico-mechanical and antioxidant properties of edible gelatin films from the skin of cuttlefish. International Journal of Biological Macromolecules 61: 17-25, 2013.

Jung E, Kim Y and Joo N: Physicochemical properties and antimicrobial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(15): 3769-3776, 2013.

Kader AA, Zagory D and Kerbel EL: Modified atmosphere packaging of fruit and vegetables. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28(1): 1-30, 1989.

Kalkan S: Farklı antimikrobiyal maddeler içeren yenilebilir film kaplamaların macar salamında kullanım olanakları ve *Listeria innocua* inaktivasyonu üzerine etkileri. Çukurova Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 2014.

Karabacak Ç ve Bayram Y: Kekik uçucu yağı ve farklı kullanım alanları. I. Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi (BILMES 2017). 2017.

Kavas G, Kavas N and Saygili D: The effects of thyme and clove essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of kashar cheese. *Journal of Food Quality*, 38(6): 405-412, 2015.

Kavrut E: Kıyma ve kıyma ile hazırlanan ürünlerde ‘Hamburger Hastalığı’ Olarak *E. coli* O157: H7’nin varlığı. *Bayburt Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2): 146-155, 2021.

Kayaardı S ve Akkara M: Yenilebilir filmler ve kaplamalar. VI. International Packaging Congress, 16-19, 2010.

Kayaardı S, Söbeli C, Uyarcan M ve Uyanık B: Yenilebilir ambalajlar. *Plastik ve Ambalaj Teknolojisi*, 224: 92-95, 2016.

Keleş F: Gıda Ambalajlama İlkeleri, 3. Baskı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları. No: 189, Erzurum. s. 1-3, 2002.

Kerry J and Butler P (Eds): *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. p. 1-325. John Wiley & Sons, Ltd., The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, 2008.

Keskin SN, Şin E, Akarca G ve Tomar O: Çeşitli bitki ekstraktlarının çiğ köfte üzerindeki antimikrobiyal etkisi. *Kocatepe Vet J*, 11(3): 266-278, 2018.

Khwalidia K, Perez C, Banon S, Desobry S and Hardy J: Milk proteins for edible films and coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4): 239-251, 2004.

Kılınç M, Tomar O ve Çağlar A: Biyobozunur gıda ambalaj malzemeleri. *AKU J. Sci. Eng*, 17(3): 988-996, 2017.

Kılınççeker O: Alabalık Filetolara ve Tavuk Bagetlere Uygulanan Bazı Yenilebilir Kaplama Malzemelerinin Raf Ömrü Boyunca Et ve Kızartma Yağı Kalitesine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, 2006.

Kızıllırmak Ö: Çeşitli plastik ambalajlardan gıdalara geçen toplam madde (toplam migrasyon) miktarlarının belirlenmesi. Ege Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 1996.

Kim SJ and Ustunol Z: Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9): 4388-4391, 2001a.

Kim SJ and Ustunol Z: Sensory attributes of whey protein isolate and candelilla wax emulsion edible films. *Journal of Food Science*, 66(6): 909-911, 2001b.

Kristo E, Koutsoumanis KP and Biliaderis CG: Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*, 22(3): 373-386, 2008.

Krochta JM and De Mulder-Johnston C: Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunities. *Food Technology*, 51(2): 61-74. 1997.

Krochta JM: Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. **In:** A Gennadios (Ed): Protein-Based Films and Coatings. p. 1-41. CRC Press, Boca Raton, FL, 2002.

Lai HM and Padua GW: Properties and microstructure of plasticized zein films. *Cereal Chemistry*, 74(6): 771-775, 1997.

Lechowich RV: Microbiology of Meat. **In:** Price JF and BS Schweigert, Freeman WH (Eds): The Science of Meat and Meat Products. Freeman and Company, San Francisco, 1971.

Lieberman ER and Gilbert SG: Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture and plasticizer content. *Journal of Polymer Science: Polymer Symposia*, 41(1): 33-43, 2007.

Li S, Sun J, Yan J, Zhang S, Shi C, McClements DJ, Liu X and Liu F: Development of antibacterial nanoemulsions incorporating thyme oil: Layer-by-layer self-assembly of whey protein isolate and chitosan hydrochloride. *Food Chemistry*, 339: 128016, 2021.

Luna-Valdez JG, Balandrán-Quintana RR, Azamar-Barrios JA, Ramos Clamont-Montfort G, Mendoza-Wilson AM, Mercado-Ruiz JN, Madera-Santana TJ, Rascon-Chu A and Chaquilla-Quilca G: Structural and physicochemical characterization of nanoparticles synthesized from an aqueous extract of wheat bran by a cold-set gelation/desolvation approach. *Food Hydrocol*, 62: 165-173, 2017.

Madan PL: Microencapsulation I. phase separation or coacervation. *Rug Development and Industrial Pharmacy*, 4(1): 95-116, 1978.

Mahadevan N, Kamboj S and P: *Hibiscus sabdariffa* Linn. –An overview. *Natural Product Radiance*, Vol. 8(1): 77-83, 2009.

Mahunu GK, Tahir HE, Osei-Kwarteng M, Mariod AA and Gweyi- Onyango JP: Food use of whole and extract of *Hibiscus sabdariffa*. **In:** Mariod AA, Tahir HE, Mahunu GK (Eds): *Roselle (Hibiscus sabdariffa) Chemistry, Production, Products and Utilization.*, p. 47-61. Academic Press, India, 2021.

Marino M, Bersani C and Comi G: Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *Journal of Food Protection*, 62(9): 1017-1023, 1999.

Marino M, Bersani C and Comi G: Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67(3): 187-195, 2001.

Mariod AA, Tahir HE, Mahunu GK (Eds): *Roselle (Hibiscus sabdariffa) Chemistry, Production, Products and Utilization.* p. 1-274. Academic Press, India, 2021.

Marshall K: Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev*, 9(2): 136-156, 2004.

McHugh TH and Krochta JM: Milk-protein-based edible films and coatings. *Food Technology*, 48: 97-103, 1994.

McHugh TH: Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung/Food*, 44(3): 148-151, 2000.

Mehdizadeh T, Tajik H, Rohani SMR and Oromiehie AR: Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *thymus kotschyanus* essential oil. Vet Res Forum, 3(3): 167-173, 2012.

Mehmetoğlu AÇ: Yenilebilir filmlerin ve kaplamaların özelliklerini etkileyen faktörler. Akademik Gıda, 8(5): 37-43, 2010.

Melgarejo-Flores, BG, Ortega-Ramirez LA, Silvaespiroza BA, Gonzalez-Aguilar GA, Miranda MRA, Ayala-Zavala JF: Antifungal protection and antioxidant enhancement of table grapes treated with emulsions, vapors, and coatings of cinnamon leaf oil. Postharvest Biology and Technology, Amsterdam, 86: 321-328, 2013.

Mercanoğlu B ve Aytaç SA: Taze etlerde mikrobiyal gelişmeler ve et işletmelerinde hijyen-sanitasyon. TMMOB Gıda Mühendisliği Dergisi, 8: 8-11, 2000.

Mermelstein NH: Controlling *E. coli* O157: H7 in meal. Food Technol, 47: 90-91, 1993.

Min S, Harris LJ and Krochta JM: Antimicrobial effects of lactoferrin, lysozyme, and the lactoperoxidase system and edible whey protein films incorporating the lactoperoxidase system against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157: H7. Journal of Food Science, 70(7): 332-338, 2005.

Mkandawire M and Aryee ANA: Resurfacing and modernization of edible packaging material technology. Current Opinion in Food Science, 19: 104-112, 2018.

Moreira B, Ponce AG, Del Valle CE and Roura, SI: Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT, 38: 565- 570, 2005.

Morillon V, Debeaufort F, Blond G, Capelle M and Voilley A: Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42(1): 67-89, 2002.

Mor-Mur M and Yuste J: Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: An Overview. Food Bioprocess Technology, 3: 24-35, 2010.

Motalebi AA, Hasanzati Rostami A, Khanipour AA and Soltani M: Impacts of whey protein edible coating on chemical and microbial factors of gutted Kilka during frozen storage. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(2): 255-264, 2010.

Nie X, Gong Y, Wang N and Meng X: Preparation and characterization of edible myofibrillar protein-based film incorporated with grape seed procyanidins and green tea, LWT-Food Science and Technology, 64, 1042-1046, 2015.

Ningsih P, Rahmawati S, Santi NMN, Suherman, Diah AWM: Making edible film from Jackfruit seed starch (*Artocarpus Heterophyllus*) with the addition of rosella flower extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) as antioxidant. International Journal of Design & Nature and Ecodynamics, 16(6): 691-699, 2021.

Nostro A, Germano MP, D'Angelo V, Marino A and Cannatelli MA: Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, 30(5): 379-384, 2000.

Olaleye MT: Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Medicinal Plants Research, 1(1): 9-13, 2007.

Oussalah M, Caillet S, Salmié S, Saucier L and Lacroix M: Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(18): 5598-5605, 2004.

Oysun G: Peynir altı suyunu değerlendirme olanakları. Gıda Dergisi, 8(6): 313-316, 1983.

Özcan T ve Delikanlı B: Gıdaların tekstürel özelliklerinin geliştirilmesinde peynir altı suyu protein katkılarının fonksiyonel etkileri. U.Ü Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(2): 77-88, 2011.

Padua GW and Wang Q: Formation and Properties of Corn Zein Films and Coatings. **In:** Gennadios A (Ed): Protein-Based Films and Coatings. p. 44. CRC Press, Boca Raton, FL, 2002.

Paim MP, Maciel MJ, Weschenfelder S, Bergmann GP and Avancini CAM: Anti-*Escherichia coli* effect of *Hibiscus sabdariffa* L. in a meat model. Food Science and Technology, 37(4): 647-650, 2017.

Paliwal R and Palakurthi S: Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. Journal of Controlled Release, 189: 108-122, 2014.

Pan K and Zhong Q: Low energy, organic solvent-free co-assembly of zein and caseinate to prepare stable dispersions. Food Hydrocolloids, 52: 600-606, 2016.

Pandit VA and Shelef A: Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Food Microbiology, 11(1): 57-63, 1994.

Park HJ, Chinnan MS and Shewfelt RL: Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes. Journal of Food Science, 59(3): 568-570, 1994a.

Park HJ, Bunn JM, Vergano PJ and Testin RF: Gas permeation and thickness of the sucrose polyesters, semperfresh™ coatings on apples. Journal of Food Processing and Preservation, 18(5): 349-358, 1994b.

Parlak S: Yenilebilir filmle kaplanmış kestane şekerinin bazı özelliklerinin belirlenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, 2005.

Pascat B: Study of some factors affecting permeability. **In:** Mathlouthi M (Ed): Food Packaging and Preservation. p. 7-24. Elsevier Applied Science Publishes, London and New York, 1986.

Pavlath AE and Orts W: Edible films and coatings: Why, What, and How? Edible Films and Coatings for Food Applications, 1-23, 2009.

Pektaş S: Soğuk depolamada farklı sıcaklık ve ambalajlama koşullarının kıymanın kalite parametrelerine etkisi. İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2013.

Pena-Serna C, Penna ALB and Lopes Filho JF: Zein-based blend coatings: Impact on the quality of a model cheese of short ripening period. Journal of Food Engineering, 171: 208-213, 2016.

Perez-Gago MB, Nadaud P and Krochta JM: Water Vapor permeability, solubility and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. *Journal of Food Science*, 64(6): 1034-1037, 1999.

Perez-Gago MB, González-Aguilar GA and Olivas GI: Edible coatings for fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 6(3): 1-14, 2010.

Pires C, Ramos C, Teixeira B, Batista I, Nunes ML, Marques A: Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, Mechanical, Antioxidant and Antibacterial Properties. *Food Hydrocolloids*, Oxford, 30(1): 224-231, 2013.

Ponce AG, Roura SI, Del Valle CE and Moreira MR: Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In Vitro and in Vivo Studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 294-300, 2008.

PRAC-Institute of Medicine (U.S.): Committee on the Review of the USDA *E. coli* O157: H7 Farm-to-Table Process Risk Assessment (PRAC 2002).

Proctor VA and Cunningham FE: The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 26(4): 359-395, 1988.

Quesada J, Sendra E, Navarro C and Sayas-Barberá E: Antimicrobial active packaging including chitosan films with *thymus vulgaris* L. essential oil for ready-to-eat meat. *Foods*, 5(4): 57, 2016.

Rakotonirainy AM, Wang Q and Padua GW: Evaluation of zein films as modified atmosphere packaging for fresh broccoli. *Journal Food Science*, 66(8): 1108-1111, 2008.

Ramos ÓL, Fernandes JC, Silva SI, Pintado ME and Malcata, FX: Edible films and coatings from whey proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6): 533-552, 2012a.

Ramos ÓL, Pereira JO, Silva SI, Fernandes JC, Franco MI, Lopes-da-Silva JA and Malcata FX: Evaluation of antimicrobial edible coatings from a whey protein isolate base to improve the shelf life of cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(11): 6282-6292, 2012b.

Ray B and Bhunia A: *Fundamental Food Microbiology*. Temel Gıda Mikrobiyolojisi, 5. Baskı, Heperkan D. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 2016.

Richard FC, Goupy PM, and Nicolas JJ: Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2. Kinetic studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11): 2108-2114, 1992.

Ríos JL and Recio MC: Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2): 80-84, 2005.

Robertson, GL: *Food Packaging: Principles and Practice*, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, London, New York. p. 49-90, 2012.

Rojas-Grau MA, Avena-Bustillos RJ, Friedman M, Henika PR, Martin-Belloso O and McHugh TH: Mechanical, barrier and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24): 9262-9267, 2006.

Rossi-Marquez G, Di Pierro P, Mariniello L, Esposito M, Giosafatto CVL and Porta R: Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. LWT, 75: 124-130, 2017.

Roy S and Rhim J-W: Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61(14): 2297-2325, 2020.

Ruelas-Chacon X, Aguilar-González A, De la Luz Reyes-Vega M, Peralta-Rodríguez RD, Corona-Flores J, Rebolloso-Padilla, ON and Aguilera-Carbo AF: Bioactive protecting coating of guar gum with thyme oil to extend shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. Polymers, 12(12): 3019, 2020.

Ruiz J, Guerreiro L, Arnau J, Guardia MD and Esteve-Garcia E: Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamin E or β - carotene as antioxidants and different supplemental fats. Poult. Sci, 80: 976-982, 2001.

Sağdıç O: Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. LWT- Food Science and Technology, 36(5): 467-473, 2003.

Sağdıç O and Özcan M: Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Control, 14 (3): 141-143, 2003.

Sarıkuş G: Farklı antimikrobiyal maddeler içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyal inaktivasyona etkisi. Süleyman Demirel Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 2006.

Saygılı D: Mersin uçucu yağı içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyal inaktivasyona etkisi. Ege Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2015.

Schelz Z, Molnar J and Hohmann J: Antimicrobial and antiplasmod activities of essential oils. Fitoterapia, 77(4): 279-285, 2006.

Seydim AC ve Sarikus G: Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International, 39(5): 639-644, 2006.

Seydim AC, Seydim Z, Ekinçi FY, Demir N ve Özdemir N: Peynir altı suyu proteini içeren aktif yenilebilir ambalaj geliştirilmesi ve kaşar peyniri ambalajı olarak kullanılması. TUBİTAK Projesi, Proje No: TOVAG-3343, Haziran, 2007.

Sezgin E ve Kök F: Aydın'da tüketime sunulan kıyma ve hamburger köftelerde *Escherichia coli* O157: H7 varlığının araştırılması. Manas Journal of Engineering, 3(1): 58-69, 2015.

Shahidi F (Ed): Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6nd ed. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2005.

Shelef LA: Antimicrobial effects of spices. Journal of Food Safety, 6(1): 29-44, 1984.

Shukla R and Cheryan M: Zein: The industrial protein from corn. Industrial Crops and Products, 13: 171-192, 2001.

Siracusa V, Rocculi P, Romani S and Dalla Rosa M: Trends in Food Science and Technology, 19(12): 634-643, 2008.

Sirag N, Elhadi MA, Algaili MA and Hassan HM: Antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) calyx extract. International Journal of Indigenous Medicinal Plants, 46(4): 1487-1491, 2013.

Soni A, Gurunathan K, Mendiratta SK, Talukder S, Jaiswal RK and Sharma H: Effect of essential oils incorporated edible film on quality and storage stability of chicken patties at refrigeration temperature (4 ± 1 °C). Journal of Food Science and Technology, 55(9): 3538-3546, 2018.

Stahl-Biskup E and Venskutonis, RP: Thyme Handbook of Herbs and Spices, 2nd ed. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, England. p. 499-525, 2012.

Stuchell YM and Krochta JM: Edible coatings on frozen king salmon: Effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. Journal of Food Science, 60(1): 28-31, 1995.

Stucky BN: Antioxidants as Food Stabilizers. In: Thomas E. Furia (Ed): CRC Handbook of Food Additives, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 1972.

Sulistiyani H, Fujita M, Miyakawa H and Nakazawa F: Effect of roselle calyx extract on in vitro viability and biofilm formation ability of oral pathogenic bacteria. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 9(2): 119-124, 2016.

Tanker N ve Tanker M: Farmakognozi. II. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 58. 1990.

Temiz H ve Yeşilsu AF: Bitkisel protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, (2): 41-50, 2006.

TGK: Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği, (Tebliğ No: 2018/52), Resmî Gazete: 29.01.2019- 30670, 2019.

Tharanathan R: Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. Trends in Food Science & Technology, 14(3): 71-78, 2003.

Tokur B and Aksun ET: The effect of frozen storage on chemical and sensory quality of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) coated whey protein isolate enriched with thyme essential oil. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 35(3): 295-304, 2018.

Tongnuanchan P, Benjakul S, Prodpran T: Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. Journal of Food Engineering, Essex, 117(3): 350-360, 2013.

Topuz FC ve Boran G: Jelatin bazlı yenilebilir film ve kaplamalar. Akademik Gıda, 16(3): 332-339, 2018.

Trezza TA and Vergano PJ: Grease resistance of corn zein coated paper. Journal Food Science, 59(4): 912-915, 1994.

Trezza TA and Krochta JM: Color stability of edible coatings during prolonged storage. *Journal of Food Science*, 65(7): 1166-1169, 2000.

Tural S, Sarıcaoğlu FT ve Turhan S: Yenilebilir film ve kaplamalar: Üretimleri, uygulama yöntemleri, fonksiyonları ve kaslı gıdalarda kullanımları. *Akademik Gıda*, 15(1): 84-94, 2017.

Uçan F ve Mercimek HA: Gıda endüstrisinde kitosan filmlerin önemi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(2): 79-85, 2013.

Umaraw P and Verma AK: Comprehensive review on application of edible film on meat and meat products: An Eco-Friendly Approach. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6): 1270-1279, 2017.

Ünalın İU, Arcan İ, Korel F and Yemenicioğlu A: Application of active zein-based films with controlled release properties to control *Listeria monocytogenes* growth and lipid oxidation in fresh kashar cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20: 208-214, 2013.

Van Tuil R, Fowler P, Lawther M and Weber CJ: Properties of biobased packaging materials. **In:** Weber CJ (Ed): *Biobased Packaging Materials for the Food Industry: Status and Perspectives*. p. 8-33. Department of Dairy and Food Science, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, 2000.

Vekiari SA, Oreopoulou V, Tzia C and Thomopoulos CD: Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 70(5): 483-487, 1993.

Vial SL, Doerscher DR, Hedberg CW, Stone WA, WhıSenant SJ and Schroder CM: Microbiological testing results of boneless and ground beef purchased for the U.S. National school lunch program, school years 2015 to 2018. *Journal of Food Protection*, 82(10): 1761-1768, 2019.

Vural N: *Besin Analizleri*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Yayın No: 69. Ankara. Türkiye. 1992.

Wagh YR, Pushpadass HA, Emerald FME and Nath BS: Preparation and characterization of milk protein films and their application for packaging of cheddar cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12): 3767-3775, 2013.

Wong YC, Herald TJ and Hachmeister KA: Evaluation of mechanical and barrier properties of protein coatings on shell eggs. *Poultry Science*, 75(3): 417-422, 1996.

Woods JL: Moisture loss from fruits and vegetables. *Postharvest News and Information*. 1: 195-199, 1990.

Wu H, Yang K and Yu Çan P: Roselle Anthocyanins: Antioxidant properties and stability to heat and pH. *Molecules*, 23(6): 1357-1370, 2018.

Wu LC and Bates RP: Soy protein-lipid films. Studies on the film formation phenomenon. *Journal of Food Science*, 37(1): 36-39, 1972.

Wu Y, Weller CL, Hamouz E, Cuppett S and Schnepf M: Moisture loss and lipid oxidation for precooked ground-beef patties packaged in edible starch-alginate-based composite films. *Journal of Food Science*, 66(3): 486-493, 2001.

Yaman F: Asit ve Tuza Adapte Edilmiş *Escherichia coli* O157: H7 ve *Listeria monocytogenes* 'in Türk Sucuklarında Yaşama Düzeylerinin Belirlenmesi. Ankara Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2010.

Yang T: The use of films as suitable packaging materials for minimally processed foods: A review. Army Natick Laboratories, 47(1): 151-167, 1994.

Yangılar F: Chitosan/whey protein (CWP) edible films efficiency for controlling mould growth and on microbiological, chemical and sensory properties during storage of göbek kashar cheese. Korean Society for Food Science of Animal Resources, 35(2): 216-224, 2015.

Yıldırım E and Barutçu-Mazı I: Effect of zein coating enriched by addition of functional constituents on the lipid oxidation of roasted hazelnuts. Journal Food Process Engineering, 40(4): 00-00, 2016.

Yıldız A, Karaca T, Çakmak Ö, Yörük M ve Ruhtan B: İstanbul'da tüketime sunulan köftelerin histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. YYÜ Vet Fak Derg, 15 (1-2): 53-57, 2004.

Zapata PJ, Guillén F, Martínez Romero D, Castillo S, Valero D and Serrano M: Use of alginate or zein as edible coatings to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill) quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(7): 1287-1293, 2008.

Zhang J, Zou X, Zhai X, Huang X, Jiang C and Holmes M: Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. Food Chemistry, 272: 306-312, 2019.

Zivanovic S, Chi S and Draughon AF: Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. Journal of Food Science, 70(1): 45-51, 2006.

6. ÖZGEÇMİŞ

