

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKTEKİ YENİLEBİLİR FİLMLERİN TAZE
SIĞIR ETİNİN MİKROBİYOLOJİK VE RENK STABİLİTESİNE ETKİLERİ**

ZEHRA KARAGÖZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2007**

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Kezban CANDOĞAN danışmanlığında Zehra KARAGÖZ tarafından hazırlanan “**Antimikrobiyal Özellikteki Yenilebilir Filmlerin Taze Sığır Etinin Mikrobiyolojik ve Renk Stabilitesine Etkileri**” adlı tez çalışması 08 /06 /2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Kezban CANDOĞAN
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Nuray KOLSARICI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Halil VURAL
Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği A.B.D.

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKTEKİ YENİLEBİLİR FİLMLERİN TAZE SIĞIR ETİNİN MİKROBİYOLOJİK VE RENK STABİLİTESİNE ETKİLERİ

Zehra KARAGÖZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kezban CANDOĞAN

Bu çalışmada antimikrobiyal özellikteki iki farklı kekik uçucu yağı (mercanköşk- *Oreganum heracleoticum* L. ve bahçe kekiği- *Thymus vulgaris* L.) ilave edilerek hazırlanmış izole soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteleri ve soğuk muhafaza (4°C) boyunca taze sığır kıymasının mikrobiyolojik ve renk stabilitesi üzerine etkileri belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite % 0, 1, 2, 3, 4 ve 5 konsantrasyonlarda mercanköşk- *Oreganum heracleoticum* L. (OR) ve bahçe kekiği- *Thymus vulgaris* L. (TH) yağı içeren izole soya proteini bazlı film diskleri ile test mikroorganizması olarak *E. coli* Tip 1, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *L. plantarum* kullanılarak besiyeri ortamında inhibisyon zonu testi ile belirlenmiştir. Kekik yağlarını içeren filmlerin taze sığır kıyması üzerine etkilerini incelemek amacıyla inhibisyon zonu testi sonuçlarına göre %5 OR, TH ve OR:TH (1:1) (ORT) içeren yenilebilir filmlerin kullanılmasına karar verilmiştir. Yeni kesilmiş dana etinden elde edilen kıyma (%24 yağlı) hamburger köftesi şekli verildikten sonra %0 (ISP) ve % 5 OR, TH ve ORT kekik yağlarını içeren yenilebilir filmler köftenin alt ve üst yüzeyine uygulanmış ve vakum paketlenerek 4°C'de 12 gün muhafaza edilmiştir. Bir grup da kontrol (K) olarak ayrılmış ve yenilebilir film uygulanmadan vakum paketlenerek depolanmıştır. Kekik yağlarını içeren yenilebilir filmlerin ürün özelliklerine etkileri depolamanın 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerinde, mikrobiyolojik olarak toplam mezofilik aerobik, Koliform, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp. ve laktik asit bakteri sayılarının belirlenmesi ile, renk stabilitesine etkileri ise enstrümental CIE* parlaklık (L*), kırmızılık (a*) ve sarılık (b*) değerleri ile metmiyogloblin (MetMb) oranı saptanarak test edilmiştir. . Kekik yağı içeren filmlerin kıymanın duyuşsal özelliklerine etkisini tespit etmek amacıyla duyuşsal analiz yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analiz sonucunda OR, TH ve ORT içeren filmlerin uygulandığı kıymalarda K ve ISP gruplarına göre düşük koliform bakteri sayısı bulunmuş ancak sadece 10. günde ORT grubunun koliform bakteri sayılarının K grubundan istatistiksel olarak önemli ölçüde düşük olduğu saptanmıştır (p<0,05). *Pseudomonas* spp.'a ise TH ve ORT filmlerinin 12 günlük depolama boyunca etkili olduğu (p<0,05), kontrol grubuna kıyasla sadece OR içeren filmlerin *Staphylococcus* spp.'a karşı 3. güne kadar etkili olduğu (p<0,05) gözlenmiştir. Periyotlar boyunca yapılan renk analizleri sonuçlarına göre ise, yenilebilir filmlerin L* değeri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı (p>0,05), a* ve b* değerlerinde ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (p<0,05). Film uygulanmış örneklerin MetMb oranı 3. güne kadar kontrole göre düşük bulunurken (p<0,05), 3. günden sonra tüm grupların MetMb oranı benzer değerler göstermiştir. pH değerleri incelendiğinde kontrol örneklerinde görülen pH düşüşüne nazaran, film ile kaplanmış kıymalardaki pH düşüşü daha yavaş olmuştur ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Duyusal değerlendirme sonuçlarında ise, kekik yağı içeren yenilebilir film uygulanan OR, TH ve ORT gruplarında lezzet, koku ve genel beğeni parametrelerine ait puanların ISP ve K grubuna kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür (p<0,05).

2007, 86 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal ambalajlama, yenilebilir filmler, sığır kıyması, mikrobiyolojik stabilite, renk stabilitesi

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILMS ON MICROBIOLOGICAL AND COLOR STABILITY OF FRESH BEEF

Zehra KARAGÖZ

Ankara University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN

In this study, antimicrobial activity towards food borne pathogens and the effects on microbiological and color stability of fresh ground beef during cold storage (4°C) of isolated soy protein based edible films incorporated with two different types of thyme essential oils (Oregano- *Oreganum heracleoticum* L. and garden type thyme- *Thymus vulgaris* L.) were determined. Antimicrobial activity was determined by inhibition zone testing in the media plate by using film discs including 0, 1, 2, 3, 4 and 5% oregano-*Oreganum heracleoticum* L. (OR) and garden thyme- *Thymus vulgaris* L. (TH), and by using *E. coli* Type 1, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *L. plantarum* as test microorganism. according to inhibition zone testing results edible films containing 5% OR, TH and OR:TH (1:1) (ORT) were decided to be used in order to determine the effects of films incorporated with thyme oils on fresh ground beef. Ground beef obtained from recently slaughtered animals (24% fatty) was formed into hamburger patties and edible films containing 0% (ISP) and 5% OR, TH and ORT thyme oil were applied to upper and bottom surfaces of the patties. They were then vacuum packed and stored for 12 days at 4°C. Some of the patties were separated as the control group (C) and they were vacuum packed and stored without applying edible film. The effects of edible films containing OR, TH AND ORT on product characteristics were tested on days 0., 1., 3., 6., 8., 10. and 12 microbiologically for total mesophilic aerobic bacterial, Coliform, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp. and lactic acid bacteria counts; for color stability, brightness (L*), redness (a*) and yellowness (b*) values and metmyoglobin (MetMb) ratio. Sensory analyses were performed in order to determine the effects of edible films containing thyme oils on the sensory properties of ground beef.

As a result of the microbiological analysis, lower Coliform counts were obtained in ground beef incorporated with edible films containing OR, TH and ORT as compared with C or ISP group. However, only on day 10 Coliform count of ORT group was lower than C group ($p<0.05$). For *Pseudomonas* spp., TH and ORT films were effective over 12 day-storage. For *Staphylococcus* spp., films containing only OR were effective only for 3 days when compared with the control group ($p<0.05$). According to the instrumental color analyses, edible films did not have significant effect on brightness (L*) lower redness (a*) and yellowness (b*) values were determined in ground beef with edible films ($p<0.05$). For the samples treated with the edible films, MetMb ratio was in lower than the control ($p<0.05$) until day 3 whilst all groups showed similar MetMb ratio after day 3. There were a decrease in pH in all groups over the storage period ($p<0.05$). Control group had lower pH values than the other groups coated with edible films ($p<0.05$). In sensory evaluation samples coated with OR, TH and ORT containing edible films had lower scores as compared to K and ISP in terms of taste, odor and general acceptability characteristics ($p<0.05$).

2007, 86 pages

Key Words: Antimicrobial packaging, edible films, ground beef, microbiological stability, color stability

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, karşılaştığım her zorlukta yardımlarını ve manevi desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Kezban CANDOĞAN'a,

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri – 2006-0745-046 Nolu “Antimikrobiyal Özellikteki Yenilebilir Filmlerin Taze Sığır Etinin Mikrobiyolojik ve Renk Stabilitesine Etkileri” konulu proje kapsamında olan yüksek lisans tezimin çalışmaları süresince maddi katkılarından dolayı A.Ü. B.A.P. Fon Müdürlüğüne ve İzole Soya Proteini materyalini sağlayan Sayın Haluk HAYDAROĞLU'na,

Laboratuvar çalışmalarında tüm imkanlarını ve bilgisini esirgemeyen Sayın Prof.Dr. A. Kadir HALKMAN'a ve Araş.Gör. Gökçe POLAT'a,

Analizlerimde laboratuvar cihazlarını kullandığım Sayın Prof. Dr. Nuray KOLSARICI, Sayın Prof. Dr. Nezihe TUNAİL, ve Sayın Prof. Dr. Kamuran AYHAN'a yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Ali BAYRAK'a,

Analiz yöntemlerinde tecrübelerini paylaşan, Araş. Gör. Ülkü ÜZÜMCÜOĞLU, Araş. Gör. Eda ÇALIKOĞLU ve Araş. Gör. Mustafa KIRALAN'a,

Tez çalışmalarında en büyük yardımcım sevgili arkadaşım Gıda Müh. Betül KODAL'a

Laborant Önder YALÇIN ve Laborant Mustafa GAYRETLİ'ye,

Tez dönemi boyunca beni yalnız bırakmayan Sayın M.Barış EMİROĞLU'na ve tüm öğrenim hayatım süresince beni destekleyen ve hep yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Zehra KARAGÖZ

Ankara, Haziran 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1 Polisakkarit Bazlı Film ve Kaplamalar.....	10
2.2 Protein Bazlı Film ve Kaplamalar.....	13
2.3 Uçucu Yağlar ve Antimikrobiyal Etkileri.....	17
2.3.1 Kekik uçucu yağı.....	19
2.3.1.1 Thyme uçucu yağı.....	20
2.3.1.2 Oregano uçucu yağı.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1 Materyal.....	24
3.1.1 Et materyali.....	24
3.1.2 Yenilebilir film materyali ve antimikrobiyal maddeler.....	24
3.2 Yöntem.....	24
3.2.1 Yenilebilir film üretimi.....	24
3.2.2 Antibakteriyel aktivite tayini.....	25
3.2.3 Yenilebilir filmlerin kıyma üzerine uygulanması.....	26
3.2.4 Nem miktarının belirlenmesi.....	27
3.2.5 Yağ miktarının belirlenmesi.....	27
3.2.6 Protein miktarının belirlenmesi.....	27
3.2.7 Kül içeriğinin belirlenmesi.....	27
3.2.8 pH değerinin belirlenmesi.....	28
3.2.9 Metmiyoglobin oranı.....	28
3.2.10 Enstrümental renk tayini.....	28
3.2.11 Toplam aerobik mezofil bakteri sayısı.....	29

3.2.12 <i>Pseudomonas</i> spp. sayısı.....	29
3.2.13 <i>Staphylococcus</i> spp. sayısı.....	29
3.2.14 Koliform grup bakterilerin sayısı.....	30
3.2.15 Laktik asit bakterilerinin sayısı.....	30
3.2.16 Duyusal analiz.....	30
3.2.17 İstatistik analiz.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	32
4.1 Antibakteriyel Aktivite Tayini ve Etkin Antimikrobiyal Aktivite.....	32
4.2 Hammaddenin Kimyasal Bileşimi	38
4.3 Yenilebilir Filmin Kalınlık Değerleri.....	38
4.4 Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayıları.....	39
4.5 Koliform Grup Bakteri Sayıları.....	42
4.6 <i>Pseudomonas</i> spp. Sayıları.....	44
4.7 <i>Staphylococcus</i> spp. Sayıları.....	46
4.8 Laktik Asit Bakterileri Sayısı.....	48
4.9 pH Değeri.....	50
4.10 Metmyoglobin Oranı.....	51
4.11 Renk Değerleri.....	53
4.12 Duyusal Değerlendirme.....	57
5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR.....	62
EKLER.....	73
EK 1 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>S. aureus</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	74
EK 2 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>S. aureus</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	75
EK 3 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>E. coli</i> Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri.....	76
EK 4 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren	

soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>E. coli</i> Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri.....	77
EK 5 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>E. coli</i> O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri.....	78
EK 6 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>E. coli</i> O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri.....	79
EK 7 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>L. plantarum</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	80
EK 8 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>L. plantarum</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	81
EK 9 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>P. aeruginosa</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	82
EK 10 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin <i>P. aeruginosa</i> için inhibisyon zonu görüntüleri.....	83
EK 11 Hamburger Köftesi Duyusal Değerlendirme Formu.....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	86

KISALTMALAR DİZİNİ

K	Kontrol grubu
ISP	İzole soya proteini
OR	Oregano kekik yağı
TH	Thyme kekik yağı
ORT	Oregano ve Thyme kekik yağları karışımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları.....	41
Şekil 4.2 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince koliform grup bakteri sayıları.....	43
Şekil 4.3 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince <i>Pseudomonas</i> spp. sayıları.....	45
Şekil 4.4 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince <i>Staphylococcus</i> spp. sayıları.....	47
Şekil 4.5 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince laktik asit bakterileri sayıları.....	49
Şekil 4.6 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince metmyoglobin dönüşüm oranı.....	53
Şekil 4.7 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların duyuşal değerlendirme puanları.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Antimikrobiyal gıda ambalajlamada kullanılan biyopolimerler ve uygulanan etken maddeler.....	8
Çizelge 2.2 Soya proteini ve peyniraltı proteini izolatu filmlerinin fiziksel ve mekanik özellikleri.....	16
Çizelge 2.3 Kekik (thyme) uçucu yağı yüzde bileşimi.....	20
Çizelge 4.1 Farklı konsantrasyonlarda kekik yağı içeren ve kekik yağı içermeyen yenilebilir film disklerinin kalınlık (μm) ve ağırlık (mg) değerleri.....	33
Çizelge 4.2 <i>S. aureus</i> için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm).....	33
Çizelge 4.3 <i>Escherichia coli</i> Tip 1 için belirlenen inhibisyon zonu çapları.....	34
Çizelge 4.4 <i>Escherichia coli</i> O157:H7 için belirlenen inhibisyon zonu çapları.....	35
Çizelge 4.5 <i>Lactobacillus plantarum</i> için belirlenen inhibisyon zonu çapları.....	36
Çizelge 4.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> için belirlenen inhibisyon zonu çapları.....	37
Çizelge 4.7 Ham madde olarak kullanılan kıymanın kimyasal bileşimi.....	38
Çizelge 4.8 Kıymaların ambalajlandığı kekik yağı içeren ve içermeyen yenilebilir film gruplarının kalınlık değerleri.....	39
Çizelge 4.9 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları	40
Çizelge 4.10 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince koliform grup bakteri sayıları	42
Çizelge 4.11 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince <i>Pseudomonas</i> spp. sayıları.....	44
Çizelge 4.12 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince <i>Staphylococcus</i> spp. sayıları.....	46
Çizelge 4.13 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince laktik asit bakterileri sayıları.....	48
Çizelge 4.14 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince pH değerleri.....	50
Çizelge 4.15 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince metmyoglobin dönüşüm oranları.....	52

Çizelge 4.16 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE parlaklık (L^*) değerleri.....	54
Çizelge 4.17 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE kırmızılık (a^*) değerleri.....	55
Çizelge 4.18 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE sarılık (b^*) değerleri.....	57
Çizelge 4.19 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların duyuşal değerlendirme puanları.....	58

1. GİRİŞ

Dünyada ve Türkiye'de gıda güvenliği ve kalitesindeki başlıca ilerlemelerle birlikte, gıdaların sınır ötesi ticaretindeki engeller uzun süre dayanabilen, kolay hazırlanan, besleyici ve çok az işlem görmüş gıdalara olan ilgiyi artırmaktadır. Yeterli ve dengeli beslenme, metabolizmanın işleyişi için gereken temel besin maddelerini içeren gıdaları tüketmektir. Bu doğrultuda akla ilk gelen gıdalar içinde yer alan ve kolay bozulma eğiliminde olan et ve et ürünleri, tüketici talebinin artışıyla yüksek kalitede, modern, doğal ve güvenilir bir ambalaja gereksinim duymaktadır (Brody 2005).

Son yıllarda tüketicinin besin değeri yüksek, lezzetli ve doğal gıdalara olan talebi nedeniyle, gıda bilimi ve teknolojisi alanında yapılan araştırmaların büyük bir bölümü yeni koruma teknolojilerine odaklanmıştır (Devlighere *et al.* 2004). Bu teknolojiler ise az işlenmiş ve özellikle yapay katkı maddelerinden arındırılmış gıda üretimini amaçlamaktadır. Aktif ambalajlama gibi yeni ambalaj sistemleri bu teknolojiler içinde araştırmaların yoğunlaştığı uygulamalardan biri olarak dikkat çekmektedir. Aktif ambalajlama gıdayı sadece dış etkilere karşı korumakla kalmayıp, bünyesine katılan aktif ajanlarla raf ömründe uzama sağlayan bir inovasyondur. Aktif ambalajlamanın birçok formu mevcut olup bunlardan antimikrobiyal film ve kaplamaların kullanımı, gıdalarda ve özellikle taze et ürünleri ile süt ürünlerinde uygulama alanı bulan bir gıda koruma tekniğidir (Vermeiren *et al.* 1999).

Taze et ve işlenmiş et ürünlerinin depolanması esnasında, ürün kalitesinin bozulmasında etkili olan değişmelerden en önemlisi mikrobiyolojik değişmelerdir (Sallam *et al.* 2004). Ette mikrobiyal kontaminasyon yüzeyden başladığı ve yapısı gereği diğer birçok gıdadan daha kolay bozulma eğiliminde olduğu için depolama boyunca ürün özellikleri mikrobiyal gelişmelerden olumsuz yönde etkilenir. Bununla beraber, mikrobiyal gelişme, etin depolanması boyunca gerçekleşen ve istenmeyen organoleptik değişimleri indüklemektedir. Ayrıca et ve et ürünlerinde patojen mikroorganizmaların bulaşmasıyla ölümlere kadar gidebilen gıda zehirlenmeleri görülmektedir (Karagöz ve Candoğan 2007).

Et ve ürünlerinde yüzeydeki mikrobiyal gelişimin engellenmesi amacıyla püskürterek, daldırılarak ya da toz halde direkt katılarak uygulanan antimikrobiyal maddelerin etkinliği, gıda bileşenleriyle interaksiyon ve gıda içine fazla salınımdan kaynaklanan zamanla aktif konsantrasyondaki azalma sonucu kaybolur (Kolsarıcı and Candoğan 1995, Ha *et al.* 2001, Kim *et al.* 2002). Bu nedenle antimikrobiyal maddelerin gıda yüzeyine direkt uygulanması faydalarını sınırlandırır. Antimikrobiyal ajanların yenilebilir film materyalinden gıdaya kontrollü salınımın sağlanması ile bu sorunların üstesinden gelmek olasıdır (Kim *et al.* 2002). Bu şekilde antimikrobiyal maddelerin ambalajdan gıdaya salınımı uzun bir periyotta gerçekleştiğinden, ürünün depolanması ve taşınması esnasında aktivite de daha uzun süreli olur (Vermeiren *et al.* 1999, Quintavalla and Vicini 2002).

Doğada atık olarak biriken sentetik madde miktarının bertarafı için çevreci bir yaklaşım olarak geliştirilen biyobozunur özellikte film üretimi ile birlikte gıdalardaki kullanımı da araştırılmaktadır. Antimikrobiyal yenilebilir film üretiminde gelecekteki çalışmalar, doğrudan filme dahil edilebilen biyolojik türevli antimikrobiyal materyallerin daha etkin olacağı görüşü üzerinde odaklanmıştır (Brody 2005). Yenilebilir filmler protein, lipid ve karbonhidratlardan üretilmekte ve gıda ile birlikte tüketilebilmektedir.

Ette mikrobiyal gelişmeyi inhibe etmek, pigment oksidasyonu sonucu kötü renk oluşumunu engellemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yenilebilir film formulasyonuna yüksek antioksidan özellikleriyle bilinen bazı doğal pigment maddelerinin yanısıra, yüksek antimikrobiyal özellikteki uçucu yağlar, organik asitler ve bakteriyosinler de katılabilmektedir (Vermeiren *et al.* 2002). Baharat, çeşitli bitkilerin ekstraktları ve uçucu yağlar antimikrobiyal özelliklerinin yanında, doğaldırılar ve etkinlikleri de oldukça yüksektir (Shelef 1983). Ayrıca bitki ekstraktlarının bakteriler, mayalar ve küflere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları da araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Conner and Beuchat 1984).

Bu çalışmada, antimikrobiyal özellikteki iki farklı çeşit kekik yağı mercanköşk (Oregano- *Oreganum heracleoticum* L.) ve bahçe kekiği (Thyme- *Thymus vulgaris* L.)

ilave edilerek hazırlanmış soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin, soğuk muhafaza boyunca taze sığır kıymasının mikrobiyolojik ve renk stabilitesi üzerine etkileri belirlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Depolama boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve enzimatik değişimlere uğrayan gıdaların raf ömrü; yapılarındaki proteinlerin, karbonhidratların ve yağların ışık, nem ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden dolayı değişime uğramaları sonucu azalır. Gıdalardaki raf ömrü duyusal, besinsel ve mikrobiyolojik özellikler ya da ürün güvenliği açısından gıdanın kabul edilirliliğini koruduğu bir zaman dilimidir. (Labuza and Brene 1989, Balasubramaniam and Chinnan 1997).

Taze et soğukta (4°C) depolandığında 3 ile 5 gün arasında değişen raf ömrüne sahiptir. Bölgelere göre değişmekle beraber dünyada üretilen etin 1/3 ile 1/4'den fazlası bozulduğu için tüketilememektedir (Thakur and Singh 1994). Bunun yanında et ve et ürünlerinin, gıda kaynaklı hastalık nedeni olan *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7 ve *Y. enterocolitica* gibi patojen bakterilerle bulaşması olasıdır. Bu nedenle patojen bakteri gelişiminin engellenmesi et endüstrisi için önemli bir konudur.

Taze etin mikrobiyal yükü hayvanın türü, sağlık durumu, canlı hayvanın yetiştirilmesi, kesim esnasındaki uygulamalar, karkasın soğutulması, prosesteki sanitasyon koşulları ve kullanılan ambalaj tipi ve şekli gibi çok sayıda faktörden etkilenir. Kesimden ve işlemeden sonra gerek mikrobiyolojik ve gerekse biyokimyasal değişimlerin kontrol altına alınması amacıyla et ve ürünlerinin ambalajlanması günümüzde bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu amaçla ürüne bağlı olarak çok çeşitli ambalaj yöntemi ve ambalaj materyali geliştirilmiştir (Young *et al.* 1988).

Taze etlerin ambalajlanmasında genellikle su buharı geçirgenliği düşük, bununla birlikte oksijen ve karbondioksit geçirgenliği yüksek ambalajlar kullanılır. Yüksek gaz geçirgenliğine sahip materyallerle ambalajlama, üründe mikrobiyal gelişim için elverişli bir ortam sağlar. Eğer vakum ambalaj söz konusu değilse, soğuk muhafazada aerobik psikrotrof bakteriler baskın hale gelir. Bunlar içinde, etlerin bozulmasında *Pseudomonas*'lar etkili bakterilerdir. Vakum ambalaj ve oksijen geçirgenliği düşük ambalaj materyalleri *Pseudomonas* gelişimini inhibe edebilirler ancak, fakültatif

anaerob olan laktik asit bakterilerinin gelişimini engelleyemezler. Bu yüzden, taze etlerin depolama süresince bozulmayı geciktirerek korunması amacıyla geliştirilen modern ambalaj teknolojileri önem taşımaktadır (Quintavalla and Vicini 2002).

Son yıllarda, geleneksel olarak bir gıda ambalaj materyalinden beklenen korumanın yanında, ek avantajlar sağlayan çeşitli ambalaj materyalleri ve teknolojileri konusunda yeni yaklaşımlar üzerinde çalışılmaktadır (Chinnan and Cha 2004). Sadece bariyer özelliğinden dolayı basit bir koruma sağlayan klasik ambalajlama tekniklerine ek olarak günümüzde daha kaliteli ve güvenli gıda temini için istenen fonksiyonları karşılamada etkili “aktif ambalajlama” ya da “interaktif ambalajlama” teknolojileri giderek önem kazanmaktadır (Rooney 1995, Kerry *et al.* 2006).

Aktif ambalajlama, ambalaj materyaline uçucu veya uçucu olmayan çeşitli maddelerin ilavesiyle ambalaj iç atmosferinde değişim yaratarak, kaliteli ve güvenli gıdaların tüketiciye sunulmasını sağlayan yeni bir uygulamadır. Bu teknolojiye amaç, ürün güvenliğinin yanında beslenme ve duyu kalitenin de sürekliliğinin sağlanarak raf ömrünün uzatılmasıdır. Bu sistemde, gıda ile ambalaj materyali veya ambalaj atmosferi arasındaki etkileşim sayesinde ürün, dış çevreden kaynaklanan olumsuz etkilere aktif bir şekilde korunur. Ambalaj materyaline fonksiyonel özellikler kazandıran aktif ambalajlama sistemleri, uygulandığı gıdanın nitelikleri dikkate alınarak geliştirildiğinden her ürüne özgü farklı sistemlerin uygulanmasını gerektirir. Bu yüzden bir gıda için geliştirilen sistemin aynı şekilde diğer bir gıdaya uygulanması söz konusu değildir (Rooney 1995, Kerry *et al.* 2006).

Günümüzde uygulanan ve araştırmaların devam ettiği aktif ambalajlama uygulamalarına örnek olarak; oksijene duyarlı gıdalarda, ambalajlama sonrasında oksijen kalıntılarını absorbe eden oksijen tutucuların kullanımı ile kalite kaybının azaltılması, taze meyve ve sebzelerin depolanmasında ürün raf ömrünün uzatılması amacıyla ortamdaki etilenin uzaklaştırılması için etilen tutucuların kullanımı, gıdanın gerek kimyasal gerekse mikrobiyolojik kalitesinin korunması için karbondioksitin ambalaj atmosferinden uzaklaştırılması amacıyla karbondioksit düzenleyicilerin kullanımı, gıdalardaki

oksidatif reaksiyonların engellenmesi amacıyla antioksidan maddelerin ambalaj materyallerine ilave edilmesi (antioksidan ambalajlama) ve mikrobiyolojik bozulmanın ve patojenlerin kontrol altına alınması amacıyla antimikrobiyal özellikteki maddelerin ambalaj materyaline dahil edilmesi (antimikrobiyal ambalajlama) verilebilir (Appendini and Hotchkiss 2002).

Uygulamada özellikle et ve et ürünleri açısından büyük önem taşıyan antimikrobiyal ambalajlamanın temeli, difüzyon yoluyla gıdalara antimikrobiyal bileşiklerin göçünün kontrollü bir şekilde sağlanması olup, sonuçta sadece başlangıçtaki istenmeyen mikroorganizmalar inhibe edilmeyip aynı zamanda kalanların aktivitesi de engellenir. Antimikrobiyal ambalajlamada, ajanlar ambalaj materyaline doğrudan katılabilmekte veya gıda-ambalaj materyali arasındaki katmana eklenebilmektedir (Han 2000, Cooksey 2001, Cutter 2002).

Ambalaj materyaline antimikrobiyal ajanların uygulanması ile ambalaj içinde yeni bir ortam yaratılarak ürün yüzeyinde mikrobiyal çoğalma geciktirilir ve hatta önlenir. Antimikrobiyal ajanlar gıdayı etkileme şekline göre iki grupta değerlendirilir. İlk grup, antimikrobiyal madde içeren ambalaj materyalinden gıdaya doğru göç eden antimikrobiyal ajanları kapsar ve bu maddeler uçucu olduğundan böyle sistemlerde gıda ürünü ile ambalaj malzemesinin direkt teması gerekli değildir. Önemli olan nokta, ambalaj materyalinin antimikrobiyal ajanların gıda maddelerine doğru kontrollü geçişine izin verebilecek şekilde formüle edilmiş olmasıdır. Göç hızı hedef mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitenin etkisinin artışında kritik rol oynar. İkinci grup ise antimikrobiyal ajanın göçü olmaksızın gıda yüzeyindeki mikrobiyal gelişime karşı etkilidir ve bu antimikrobiyal ajanlar uçucu değilse mutlaka gıda yüzeyi ile temasta olmalıdırlar. Bu yüzden antimikrobiyal ajanlar yüzeye difüze olabilmekte ve sonuçta yüzey karakteristikleri ile difüzyon kinetiği önemli hale gelmektedir (Han 2000, Cooksey 2001, Cutter 2002).

Plastik ambalajlama materyallerine alternatif, çevreyle dost ambalaj materyali olarak biyobozunur (biyopolimer, biyo-bazlı) filmler antimikrobiyal ambalajlama içinde öne çıkmaktadır (Temiz ve Yeşilsu 2006).

Biyopolimerler bitkisel ve hayvansal materyalleri de kapsayan birçok kaynaktan üretilmektedir. Film şekillendirme, güçlülük ve esneklik özellikleri, molekül ünitelerinin çapraz bağlanmasını gerektirir ve bunun için biyopolimer filmlerin üretiminde en iyi bileşenler proteinler ve karbonhidratlardır (Dawson *et al.* 1995). Protein, lipit ve karbonhidrat bazlı yenilebilir ambalaj materyallerinin gıda ambalajlamada kullanılması, gıdalarda kalite kaybını ve kontaminasyonu kontrol altına almada araştırmaların yoğunlaştığı konuların başında gelmektedir (Gennadios and Weller 1991).

Yenilebilir özellikteki film ve kaplamalar asıl olarak oksijen, karbondioksit ve lipit transferini kontrol altında tutarak gıda sisteminin mekanik özelliklerini geliştirirler, tat ve aroma maddelerinin kaybını azaltırlar ve antioksidanları, antimikrobiyal maddeleri, pigmentleri, esmerleşme reaksiyonlarını durduran iyonları ve vitaminleri ürünün içerisinde tutarak gıda kalitesini ve raf ömrünü geliştirirler (Kaya and Kaya 2000, Guillard *et al.* 2003). Çizelge 2.1’de biyopolimer filmlerle kullanılan antimikrobiyal ajanlar ve uygulandıkları gıda maddeleri verilmiştir.

Yenilebilir filmlerin ambalajlama amacıyla kullanımına yönelik araştırmalar bu filmlerin gıdaların kalitesini ve güvenliğini artırıcı ayrıca raf ömrünü uzatıcı potansiyelleri nedeniyle önem kazanmıştır.

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdanın dış etkenlere karşı mekanik özelliklerinin korunmasını sağlarlar ve böylece gıdanın bütünlüğüne de katkıda bulunurlar. Yenilebilir film ve kaplamalar gıda ile birlikte tüketileceğinden yenilebilirlikleri, kullanım dozları ve sağlık güvenliği hususları temel alınmalıdır (Debeaufort *et al.* 1998).

Çizelge 2.1 Antimikrobiyal gıda ambalajlamada kullanılan biyopolimerler ve uygulanan etken maddeler (Chinnan and Cha 2004)

Biyopolimerler	Antimikrobiyal Ajanlar	Gıda
Polisakkaritler		
Nişasta ve Türevleri	Potasyum sorbat	Çilek
Selüloz ve Türevleri		
Selüloz	Pediosin	Et
Selüloz bazlı kağıt	Nisin/Lactisin	Peynir/Jambon
MC/HPMC-Yağ asitleri	Potasyum Sorbat	Su-Gliserol
MC/ Palmitik asit	Sorbik asit /Potasyum Sorbat	Su-Gliserol
HPMC/Yağ asitleri	Nisin	Besiyeri ortamı
HPMC	Ethanol/Sitrik-asetik-sorbik asit	Domates
Alginat	Glukoz oksidaz	Balık
	Nisin	Sığır eti
	Nisin	MRS Broth besiyeri
	Nisin	Kanatlı Etleri
	Nisin/EDTA/Lizozim/GFSE	Besiyeri ortamı
Karragenan	Klortetrasiklin/Oksitetrasiklin	Kanatlı Etleri
	Sorbistat/EDTA/Lizozim/GFSE	
Kitozan	Soyum Benzoat/Potasyum sorbat	Besiyeri ortamı
	Asetik/Propiyonik asit	Tampon
	Asetik/Propiyonik asit	Et
Agar	Nisin	Kanatlı Etleri
Proteinler		
Mısır zeini	Lizozim/Nisin	Besiyeri ortamı
	Nisin/Laurik asit/EDTA	Besiyeri ortamı
Soya Proteini izolatu	Lizozim/Nisin	Besiyeri ortamı
Peyniraltı suyu proteini izolatu	Potasyum sorbat	Su-Gliserol
	p-amino benzoik asit/sorbik asit	Besiyeri ortamı
Buğday gluteni	Sorbik asit	Etanol-Su

Film ya da kaplama materyalinin seçimi daha çok istenen fonksiyonları karşılama kapasitesine bağlıdır. Et ve et ürünlerinde yenilebilir film ve kaplamalar oldukça ilgi görmektedir ve bunların biyobozunurluk ve yenilebilirlik özelliklerinin yanında, oksidatif ve fiziksel strese karşı da iyi bir bariyer olabilmeleri tercih edilme sebepleri arasında sayılmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalar et ve et ürünleri, kanatlı etleri ve balık

endüstrisi için birçok avantaj sağlar. Taze ya da dondurulmuş et, depolama boyunca nem kaybı, tekstür, flavor ve renk değişimlerine diğer yandan da ağırlık kaybına uğrar. Yenilebilir kaplamalar iyi nem bariyerleme özelliklerinden dolayı, nem dolayısıyla ağırlık kaybını bir ölçüde azaltabilmektedirler (Gennadios *et al.* 1997).

Yenilebilir film ve kaplamaların diğer bir avantajı da perakende tepsilerde ambalajlanan taze kırmızı et, kanatlı etleri veya balık etlerinin ambalajlarında sorun yaratan sızıntı suyunu tutarak ambalaj içinde birikmesini önlemeleridir. Böylece tepsilerde ayrıca emici ped kullanımına gereksinim duyulmaz. Kırmızı et, kanatlı etleri ve su ürünlerinden uçucu lezzet bileşiklerinin kaybı ve ürüne dışardan istenmeyen koku bulaşması yenilebilir kaplamalarla sınırlandırılır. Yenilebilir film ve kaplamaların sağladığı bu faydalara ilaveten kızartılarak tüketilen balık, kanatlı etleri ve kırmızı etlerin kızartma boyunca yağ absorpsiyonunu azaltarak ürünün besleme değerinde de iyileşme sağlarlar (Park 1996).

Yenilebilir film ve kaplamalar nem kaybı, oksidasyon ve mikrobiyal bozulmalara karşı etkili olmaları ve nem, gaz ve diğer uçucu maddelerin difüzyonuna karşı bariyer özelliklerinin yanında tatlandırıcılar, antimikrobiyal maddeler, antioksidanlar, vitaminler ve renklendiricileri de içeren birçok katkı maddesi için taşıyıcı olarak da görev yapabilirler (Guillard *et al.* 2003).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, yağlar (katı yağlar, balmumları ya da sıvı yağlar), polisakkaritler (nişasta, alginat, selüloz eteri, kitozan, karragenan ya da pektin) ya da proteinlerden (kazein, peyniraltı suyu proteini, jelatin, fibrinojen, soya proteini, buğday gluteni, mısır zeini yada yumurta albumini) oluşan yenilebilir film ve kaplamaların et ve ürünlerinde teknolojik kaliteyi iyileştirmesinin yanı sıra gıdaların tazelik ve güvenliğini artırdığı, ileri işlem görmüş et ürünlerinde nem kaybını ve yağ oksidasyonunu azalttığı renk kaybını önlediği ve patojen mikroorganizmaları kontrol altına aldığı görülmüştür. Bunlar içerisinde gıda teknolojisinde en yaygın olarak kullanılanlar polisakkarit ve protein bazlı film ve kaplamalardır (Gennadios *et al.* 1997).

2.1 Polisakkarit Bazlı Film ve Kaplamalar

Doğada çeşitli kaynaklardan elde edilebilen yenilebilir film materyallerinin birçoğu genellikle toksik özellik göstermeyen polisakkarit bazlıdır. Polisakkarit bazlı film ve kaplamalar çok geniş kullanım alanına sahiptirler. Ayrıca oksijen ve karbondioksit geçirgenliklerinin uygun olması nedeniyle taze meyve ve sebzelerde solunumu ve dolayısıyla olgunlaşmayı geciktirirler. Polisakkarit bazlı filmler hidrofilik karakterde olduklarından belli şartlarda oksijen ve karbondioksite karşı çok iyi bariyerleme özelliği gösterirken, su buharı geçirgenliğindeki bariyerleme özelliğinin zayıf olmasından dolayı ambalaj içinde su yoğunlaşabilir ve bu da mikrobiyal bozulmalara sebep olabilir. Yenilebilir film ve kaplama yapımında yaygın olarak kullanılan polisakkaritler, nişasta, selüloz ve türevleri, alginatlar, kitozan ve agardır (Guilbert 1986, Park and Chinnan 1995).

Nişasta biyobozunur özellikte olan hidrofilik karakterde bir polisakkarittir. Nişastadan üretilen ambalaj materyallerinin gaz bariyerleme özellikleri zayıftır. Garcia *et al.* (1998), potasyum sorbat içeren nişasta bazlı yenilebilir kaplamalarla muamele edilen çileklerin, mikrobiyal yüklerinin azaldığını ve depolamada raf ömrünün de 14 günden 28 güne uzadığını bildirmişlerdir.

Selüloz ise doğada en yaygın polisakkarit olup, kimyasal yapısından dolayı kristal yapıda lifli ve çözünmez özelliktedir. Bu nedenle, özellikleri film ve kaplamalar için uygun selüloz türevleri tercih edilmektedir. Metil Selüloz (MS) ve hidroksipropil metil selüloz (HPMS) gibi selüloz türevleri suda çözünür özellikte daha güçlü ve daha esnek film üretimi için uygundur. Baldwin *et al.* (1996), karboksimetil selüloz bazlı yenilebilir kaplamaların, dilimlenmiş elma ve patatesin depolama ömrünü artırdığını saptamışlardır.

Polisakkarit bazlı yenilebilir kaplama üretiminde kullanılan diğer bir hidrokolloid olan alginat, kahverengi su yosunundan elde edilen aljinik asitin tuzu olan D-mannuronik ve L-guluronik asit monomerlerinin lineer kopolimeridir. Earle (1968), Ca-aljinat jeliyle

kaplanmış kanatlı etleri, kırmızı et ve balıklarda soğuk depolama boyunca renk oksidasyonuna ve su kaybına karşı bir koruma sağlandığını belirtmiş ve bu çalışmayla patent almıştır (Lazarus 1976).

Lazarus *et al.* (1976), Ca-aljinat ile kaplanan kuzu karkaslarında mikrobiyal kaliteyi inceledikleri bir çalışmada, aljinat ile kaplanmış kuzu karkasında soğukta 7 gün depolamadan sonra yüzeydeki toplam mikrobiyal sayının plastik bazlı ambalajlamaya kıyasla önemli derecede azaldığını ve yaptıkları bir diğer çalışmada da alginat kaplamaların, taze biftek dilimi, pirzola, derili tavuk butu ve kuzu karkaslarında nem kaybını azaltarak sululuk özelliklerinin iyileştirilmesinde etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Wanstedt *et al.* (1981), pişirilmiş ve dondurularak depolanmış alginat kaplı domuz köftelerinde, nem ve aroma maddelerinin kaybının azaltıldığını ve kaplama uygulanmış örneklerin duysal kalitesinin kontrol köftelerine kıyasla daha kabul edilebilir düzeyde olduğunu rapor etmişlerdir.

Deniz kabuklularından elde edilen kitozan ve agar da gıdalarda yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılmaktadır. Yapısı gereği doğal olarak antimikrobiyal özellikte olan ve yenilebilir ambalaj materyalleri üretiminde kullanım alanı bulan kitozan, deniz kabuklularının kitin tabakasından deasetilasyon yoluyla elde edilir ve selülozdan sonra doğada en fazla bulunan ikinci doğal biyopolimerdir. Bu biyopolimer, bakterilere, küflere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivite gösteren yenilebilir ve biyobozunur bir materyaldir. Gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki bariyer özelliklerini bozduğundan gıdaların korunmasında çok uygun bir antimikrobiyal maddedir. İyi film oluşturma özelliğinden dolayı kitozan film ya da kaplama şeklinde gıda ambalaj materyali olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Wang 1992, Caner *et al.* 1998, Vartiainen *et al.* 2004, Cooksey 2005). Campbell (2003), farklı şekillerde hazırlanan 6 çeşit kitozan filminin kültür ortamında *L. monocytogenes* gelişimini engellediğini bildirmiştir.

Tek başına antimikrobiyal etki gösteren kitozanın etkisini artırmak için film ya da kaplama içine uçucu yağlar, bakteriyosinler ve çeşitli organik asitler dahil edilerek kullanılan antimikrobiyal ajanların antimikrobiyal etkinliği, difüzyon süresi ve göç miktarı ölçümüne dayanan çalışmalar da yapılmıştır. Buzdolabı sıcaklığında vakum ambalajlı işlenmiş et ürünlerinin depolama boyunca korunmasında antimikrobiyal ajanların göç etme hızı ve miktarı üzerine tasarlanmış kitozan bazlı filmlerin etkinliğinin değerlendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada hazırlanan filmler, laurik asit ya da sinnamaldehit ilave edilerek ya da kitozan matriksi içine asetik asit veya propiyonik asit katılarak oluşturulmuştur. Hazırlanan bu filmler sosıs, jambon ve taze domuz etinin ambalajlanmasında kullanılmıştır. Depolama sonunda propiyonik asitin tamamının ürüne göç ettiği, kalıntı asetik asit miktarının ise %2-22 arasında olduğu tespit edilmiştir. En güçlü inhibisyon etkisi, kitozan matriksi içinde sinnamaldehit içeren ve asitin yavaş salındığı filmlerle ambalajlanan sosıslerin yüzeyinde gözlenmiştir (Ouattara 2000a,b).

Chen *et al.* (1996), seyreltik asetik asit çözeltileri ile üretilen kitozan filmlerinde doğrudan koloni oluşturan organizmaların üzerine uygulandığında *Rhodotorula rubra* ve *Penicillium notatum* küflerinin gelişiminin durduğunu bildirmişlerdir.

Zivanovic *et al.* (2005), gıdalarda önem taşıyan patojenlerden, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* ile inoküle edilen bologna dilimleri arasına yerleştirdikleri kitozan filmine ilave ettikleri anason, fesleğen, kişniş ve kekik (oregano) uçucu yağlarının tamamının antimikrobiyal aktivite sergilediğini ancak diğer uçucu yağlarla kıyaslandığında, her iki patojene karşı en güçlü inhibisyon etkisini kekik uçucu yağının gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ise, her birine 2×10^6 cfu bakteri inoküle edilmiş bologna dilimleri arasına yerleştirilen %2 kekik (oregano) uçucu yağı içeren kitozan filminin, 10°C 'de 5 gün depolamadan sonra bologna dilimlerinde *L. monocytogenes* sayısını 1.25×10^2 cfu, *E. coli* O157:H7 sayısını ise 2.51×10^2 cfu düzeyine indirdiğini bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Elgayyar *et al.* (2001), kitozan filmine uçucu yağların ilavesi ile yaptıkları in-vitro çalışmalarda oregano uçucu yağının *E. coli* bakterilerini tamamiyle inhibe ettiğini ve *L. monocytogenes*'e karşı da çok güçlü inhibisyon etkisi olduğunu, fesleğen uçucu yağının ise *E. coli*'ye karşı güçlü inhibisyon etkisi gösterirken *L. monocytogenes*'e karşı bu etkinin zayıf olduğunu bulmuşlardır.

2.2 Protein Bazlı Film ve Kaplamalar

Yenilebilir film ve kaplama üretiminde yaygın olarak kullanılan proteinler, mısır zeini, peyniraltı suyu proteini ve soya proteinleridir. Mısır zeini mısır proteininin prolamin fraksiyonu olup, ticari olarak tabletlerin, şekerlemelerin ve kabuklu yemişlerin kaplanması için kullanılmaktadır. Zein, mısır endospermünde bulunan ve alkolde çözünen bir proteindir. Zein çözeltisiyle oluşturulmuş filmler ürün üzerinde sert, parlak, dayanıklı ve mikroorganizmalar için koruyucu bir tabaka oluşturmaktadır. Mısır zeini kaplaması çok iyi oksijen bariyerleme özelliğindedir. Zeinden yapılmış yenilebilir filmler kırılındıkları için dayanıklıdır. Bu nedenle esnekleştirilebilmeleri için plastikleştirilmeleri gerekmektedir (Temiz ve Yeşilsu 2006).

Padgett *et al.* (2000), laurik asit ve nisin ilave edilmiş mısır zeini filminin su buharı geçirgenliği ve bakteriyel gelişim üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yalnızca nisin ile mısır zeini bazlı yenilebilir filmin birlikte uygulanması sonucu toplam bakteri sayısının azaldığı görülmüştür. Hoffman *et al.* (2001), *L. monocytogenes* ve *S. enteritidis*'e karşı nisin, laurik asit ve EDTA ilave edilmiş mısır zeini filminin etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, *L. monocytogenes* sayısının, laurik asit ve sadece nisin içeren filmle 48 saat sonra 4 logaritma birimi azaldığı görülmüştür.

Peynir altı suyu proteini, son yıllarda yenilebilir film ve kaplamalar üzerine yapılan birçok araştırmanın konusunu teşkil etmektedir. Fang *et al.* (2002), peynir altı suyu protein oranı, kalsiyum, gliserol ve emülsiyon taneciklerinin filmin gerilme kuvveti ve bariyerleme özellikleri üzerine etkisini araştırmışlar ve protein oranının gerilme kuvveti, uzama oranı ve su buharı geçirgenliği üzerine çok az etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Cagri *et al.* (2001), p-amino benzoik asit ya da sorbik asit içeren düşük pH'lı (5,2) peynir altı suyu protein izolatu filminin antimikrobiyal etkinlik, mekaniki ve nem bariyerleme özellikleri üzerinde çalışmışlardır. % 1,5 p-amino benzoik asit ya da % 0,75 sorbik asit içeren antimikrobiyal filmler *L. monocytogenes*, *E.coli* 0157:H7 ve *S. typhimurium* DT104 bakterilerini inhibe etmiştir. Çalışmada, filmlere ilave edilen sorbik asitin ürün mekanik özelliklerini etkilediği bildirilmiştir.

Protein bazlı filmlere olan ilgiyle beraber soya proteinleri, yenilebilir filmlerin yapımında hammadde olarak yaygın bir şekilde kullanılan en önemli proteinlerden biri olmuştur. Soya proteini yenilebilen ürünler için uygulanabilen ve biyolojik olarak parçalanabilen çevre dostu bir üründür (Swain *et al.* 2004). Soya proteini bazlı film ağındaki protein molekülleri disülfid, hidrofobik ve hidrojen bağları vasıtasıyla birleşmiş durumdadır ve disülfid bağları asıl olarak protein polimerizasyonundan sorumludur (Cao and Chang 2001).

Bazı ülkelerde geleneksel soya filmi, soya sütünün düz bir yerde 90 °C ye ısıtılması ve yayılan filmin o formda toplanması ile elde edilir. Bazı filmler de açık havada kurutulurlar (Wu and Bates 1972a). Wu and Bates (1972b), bu tip filmlerin şekillendirilmesi üzerinde çalışmışlar ve çeşitli kompozisyonlarda başarılı filmler yapmışlardır. Soya proteininden film üretimi ilk kez 1970'lerde geliştirilmiş ve izole soya proteininden hazırlanan film düz bir zemine dökülerek fırında kurutulmuştur (Jaynes and Chou 1975). Bu işlem, izole soya proteini emülsiyonunun (pH 6,6) teflon kaplamalı fırın tavalarına dökme ve 100 °C'de 1 saat kurutma esasına dayanır. İzole soya proteini filmi plastikleştirici materyal olmadan yapıldığında işlemenin üzerine oldukça kırılgan ve gevrek bir yapı kazanmıştır. pH=6 da film formülasyonundaki soya proteininin çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı görünüş iyi olmamıştır. Soya proteini bazlı filme ılımlı alkali muamelesi sonucu filmin özellikleri ve görünümü iyileşmiştir (Shen 1976).

Gennadios and Weller (1991), %70 buğday gluteninden türetilmiş %70 oranında protein ve %30 oranında izole soya proteini ile plastikleştirici olarak gliserol de içeren protein

bazlı film hazırlamışlardır. Çözünmez partiküllere sahip olmasına rağmen soya filminin görünüşü düzgündür. Protein denaturasyonu şekilsel olarak globular protein formundan düz zincirli yapıya doğru bir değişim olarak bilinir. Teorik olarak protein-protein arasındaki reaksiyonlar arttıkça uzun zincirli yapı oluşumu da artmaktadır. Üretilen filmde protein-protein interaksiyonunun artışıyla geçirgenliğin azaldığını ve gerilme kuvvetinin arttığını bildirmişlerdir.

Soya proteini nötral pH değerlerinde globüler yapıdadır. %100 izole soya proteininden oluşan protein film üretirken, soya proteinini daha çözünür kılmak ve kısmi denaturasyona uğratmak için ılımlı alkali muamele uygulanmakta ve böylece elde edilen filmin özellikleri ve şekli iyileştirilebilmektedir. Yenilebilir filmin gerilme ve delinmeye karşı gösterdiği direncin en iyi pH=10'da olduğu araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır (Chao and Chang 2001). pH=10 değerinin altında ve üstünde filmin gösterdiği direnç azalmaktadır. pH=10 olduğunda protein molekülündeki sülfidril (SH) grupları ve hidrofobik gruplar, film oluşturma mekanizmasından sorumlu olduğu düşünülen disülfid formu ve hidrojen bağı oluşumuna en uygun yapıdadırlar (Gennadios *et al.* 1993). pH değerinin 10'un üzerine çıkmasıyla soya proteini filminin fiziksel özellikleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Çizelge 2.2'de soya proteini ile peyniraltı suyu proteini izolatu filmlerinin özellikleri verilerek karşılaştırma yapılmıştır. Alkali muamelesinin sonucu olarak kompozisyonel değişiklikler meydana gelmektedir. Moleküler açılma (denaturasyon) soya proteini içeren filmin oluşumu için elzemdir.

İzole soya proteini filmi son derece düşük oksijen geçirgenlik değerine sahiptir. Bu değer mısır ve buğday proteini bazlı filmlere göre daha düşüktür (Park and Chinnan 1990, Gennadios *et al.* 1993). Selüloz bazlı filmlere göre 200 kat ve birçok yaygın plastik bazlı filmlere göre ise (LDPE-düşük yoğunluklu polietilen, HDPE-yüksek yoğunluklu polietilen, PS-polistren) 325-1750 kat daha iyi bariyerleme özelliğine sahiptir. Alkali muamelesi uzama yüzdesinde % 35 artış sağlarken, oksijen geçirgenliği ve gerilme kuvvetini değiştirmemiştir. Yüksek uzama yüzdesi, film gerilime maruz kaldığında daha fazla esneyeceğini ve bu sayede de mekanizasyon ve işleme süresince mekaniksel zararlara dayanabileceğini göstermektedir (Billing 1989, Gennadios *et al.* 1993).

Çizelge 2.2 Soya proteini ve peyniraltı proteini izolatu filmlerinin fiziksel ve mekanik özellikleri (Temiz ve Yeşilsu 2006)

Özellikler	İzole Soya proteini	İzole Peyniraltı suyu proteini
Gerilme gücü (MPa)	8.5	6.9
Elastiklik modülü (MPa)	-	199
Uzama (%)	31.9	41
Su buharı geçirgenliği (% nispi nem)	3.76	4.96
Protein çözünürlüğü (%)	6.5	10
Toplam çözünür madde (%)	35.1	30

Pol *et al.* (2002), soya proteini izolatu/mısır zeininden oluşan lamine filmlerin geçirgenlik ve mekanik özelliklerini araştırmışlardır. Mısır zeininin doğal yapısından kaynaklanan hidrofobik özelliği lamine filmin su buharı geçirgenliğini iyileştirmekte oksijen bariyerleme özelliği değişmeden kalmaktadır.

Padgett *et al.* (1998), soya proteini izolatu filmine katılan gıda kaynaklı olan ve olmayan antimikrobiyal bileşenlerin (lizozim, nisin, EDTA (Etilen daimin tetra asetik asit)) inhibisyon etkisi üzerinde çalışmışlardır. Filme katılan lizozim *L. plantarum*'a karşı inhibisyon gösterirken, EDTA da *E. coli*'ye karşı filmin inhibisyonunu artırmıştır.

Shih (1994), soya proteini/alginat ya da soya proteini/propilenglikol alginatın (PGA) film üzerindeki etkisini araştırmıştır. Soya proteini ve polisakkarit interaksiyonunda kovalent bağlarla filmin çözünürlük ve emülsifikasyon aktivitesinde iyileşmeler gözlenmiştir. Soya proteini/PGA film kompleksi çabuk birleştirilen ve suyla hazırlanan soya proteini-alginat filmine göre daha iyi stabilite gösteren bir yapıya sahiptir. PGA eklenmesiyle soya proteini filminin rengi etkilenmiş, gerilme kuvveti de %17,5 oranında artmıştır. % 10'a kadar katılan PGA miktarına bağlı olarak da su buharı geçirgenliği ve suda çözünürlük özellikleri azalmıştır.

Soya protein izolatu, stearik asit ve pullulandan oluşan yenilebilir bir film elde edilmiş ve kivilerin korunması için kullanılmıştır. Kaplanmış kivilerde olgunlaşma işleminin yavaşladığı, 37 günlük depolama süresince kaplanmış ve kaplanmamış kivilerin yumuşama oranlarının sırasıyla %29-%100 olduğu ve böylece kivilerin kaplanmasıyla depolama sürelerinin 3 kattan fazla arttığı tespit edilmiştir (Xu *et al.* 2001).

Ou *et al.* (2005), yaptıkları çalışmada, soya protein esaslı yenilebilir filmin hazırlanmasında felurik asidin farklı konsantrasyonlarını kullanmışlar ve optimal bir felurik asit konsantrasyonunun filmin gerilme ve uzama kabiliyetini artırdığını ve ayrıca taze domuz yağlarının korunması için filmin antioksidan aktivitesini artırdığını belirlemişlerdir.

2.3 Uçucu Yağlar ve Antimikrobiyal Etkileri

Gıda ambalajlamada kullanılan doğal antimikrobiyal ajanlar, zayıf organik asitler, enzimler, bakteriyosinler, triklosan/GFSE (Greyfurt ekirdeği ekstraktı), EDTA, uçucu yağlar, fungusitler ve kitozandır. Bunlar içinde doğal antimikrobiyaller olarak uçucu yağların ve özellikle bitki ekstraktlarının gıdalarda kullanımı tüketiciler tarafından artan ilgiyle karşılanmaktadır. Son yıllarda biberiye, adaçayı ve kekik bitki ekstraktları et ve et ürünlerinde yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır (Haworth 2003).

Uçucu yağların yapısında alkol, aldehit, keton, eter, ester, fenol ve terpenler grubuna ait birçok bileşik bulunur. Örneğin; terpenler monoterpen, diterpen, seskiterpen ve seskiterpen laktonlar gibi biyoaktif özellikleri olan ve önemli uçucu unsurları içeren bileşiklerden oluşurlar (Russo *et al.* 1998). Genel olarak fenolikler ve terpenoidler uçucu yağların antimikrobiyal özellik göstermesinde etkili olan bileşenlerdir. Uçucu yağlar, güçlü antimikrobiyal aktiviteleri olduğu belirtilen monoterpenler, ojenol, sinnamaldehit, timol ve karvakrol gibi bileşikleri yüksek yüzdelerde bulundururlar (Lis-Balchin *et al.* 1997). Uçucu yağlar üzerinde yapılan çalışmalarda karvakrol'n n maddesi p-simen ile sinnamaldehit ve ojenol arasında sinerji olduğu rapor edilmiştir.

Burt (2004), uçucu yağlarda bulunan timol, karvakrol, sinnamik asit, ojenol, perillaldehit gibi etken maddelerin in-vitro koşullarda 5 µm/ml düzeyindeki inhibisyon konsantrasyonunun bakteriler üzerinde etkili olduğunu, ancak aynı etkinin gıdalarda da sağlanabilmesi için daha yüksek konsantrasyonlar gerektiğini belirtmiştir.

Uçucu yağların bileşiminde bulunan antimikrobiyal özellikteki bileşikler etkilerini bakteriyel hücreyi farklı şekillerde etkileyerek gerçekleştirirler. Uçucu yağların hidrofobisitesi, mitokondrilerin ve hücre membranı lipitlerinin parçalanmasını sağlayarak hücre zarı geçirgenliğini artırır ve hücre içi sıvı kaybına neden olur (Burt 2004). Uçucu yağların antimikrobiyal aktivite mekanizmasının esasta 3 şekilde olduğu bildirilmektedir (Frag *et al.* 1989):

- Hücre geçirgenliğinden sorumlu hücre membranının çift katmanlı fosfolipit tabakasına dahil olma,
- Hücresel enerji üretiminden ve yapısal komponentlerin sentezinden sorumlu çeşitli enzim sistemlerinin aktivitesine müdahale etme,
- Genetik materyale zarar verme.

Bitki ekstraktlarının bakteriler, küfler ve mayalara karşı antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır (Frag *et al.* 1989, Paster *et al.* 1990, Aureli *et al.* 1992, Pai and Platt 1995). Bunlar içinde kekik uçucu yağının antimikrobiyal özellikleri büyük oranda yüksek fenolik içeriği ile ilişkilendirilmiştir. Ouattara *et al.* (2000b), düşük dozda gamma ışını uygulaması ile kekik yağı/trans-sinamalaldehit içeren protein bazlı kaplamaların kombine edilmesi sonucu ön pişirme uygulanmış karidesin raf ömründeki uzamayı değerlendirmişlerdir. Karides %0,9 konsantrasyona kadar timol ile muamele edilmiş ve sonuçta görünüşü ve tadı değişmeksizin raf ömrü önemli ölçüde uzamıştır.

21 çeşit uçucu yağın 5 önemli gıda patojenine (*C. jejuni*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*) karşı aktiviteleri ölçülmüştür. Defne ağacı, tarçın, karanfil ve

kekik yağlarının her biri için %0,075 ya da daha düşük konsantrasyonun, patojenlerin tümüne inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Smith-Palmer *et al.* 1998).

Genel olarak Gram pozitif bakteriler (*S. aureus* ve *L. monocytogenes*), bitkisel uçucu yağlara karşı Gram negatif bakterilere (*C. jejuni*, *S. enteritidis*, *E. coli*) göre daha hassastırlar. % 0,01'in altındaki konsantrasyon bakteriyostatik ve % 0,05 konsantrasyon bakterisidal iken, sıcaklık 4°C'nin altına düştüğünde bakteriyostatik konsantrasyon %0,05'e yükselir, bakterisidal konsantrasyon ise %1'in üzerine çıkar (Smith-Palmer *et al.* 1998). Bu durum düşük sıcaklıklarda uçucu yağların etkinliğinin azalması ya da bakteriyel membranlardaki değişiklik sonucu uçucu yağların hücre içine penetrasyonundaki düşüş ile açıklanabilir. Gram negatif bakterilerin uçucu yağlara karşı olan direnci, bakteriyel yüzeyi belirleyen dış membranın hidrofobik yapısından dolayı güçlü geçirgenlik bariyerine sahip olması ile ilişkilendirilmektedir (Nikaido and Vaara 1985). Uçucu yağlar gıdalarda, in-vitro denemelerinde kullanılan konsantrasyondan daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılmaktadır (Farbood *et al.* 1976).

Bakteriyel gıda zehirlenmelerine karşı, uçucu yağların düşük bakteriyostatik ve bakterisidal konsantrasyonlarının etki düzeyi, özellikle yapay koruyuculardan kaçış ve doğal alternatiflere doğru yönelim dikkate alındığında gelecek için potansiyel konuları oluşturmaktadır.

2.3.1 Kekik uçucu yağı

İnsanlar kekiği yüzyıllardır, aroma verici ve ilaç yapımında temel bir bileşen olarak kullanmışlardır. Kekiğin kimyasal karakteri uçucu yağ ve uçucu olmayan polifenoller gibi ikincil ürünlerin iki ana sınıfı tarafından belirlenir (Stahl-Biskup 2002, Vilar 2002 Lawrence 2003). Günümüz analiz teknikleri kullanılarak bu her iki sınıf ve özellikle uçucu yağların kompozisyonları birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir. Bu doğrultuda, kekik uçucu yağının yüzde bileşimi Çizelge 2.3'de belirtilmiştir.

Uçucu yağ kekiğin tipik baharat aromasından sorumludur. Kurutulmuş kekik bitkisinin uçucu yağ içeriği %1-2,5 oranındadır. Kekik yağındaki en uçucu bileşen monoterpenler grubundan bir polifenolik monoterpen olan “timol” dür (%30-55). Timol yanında monoterpenlerden karvakrol (%1-5), p-simen (%15-20), izomer terpen fenol ve gama-terpinen (%5-10) oranında yer alır. Diğer monoterpenler ise, linalool (%1-5), (%0,5-1,5) borneol, küçük yüzdelerde camphor, limonene, myrcene, B-pinene, trans-sabinene hidrat, alfa-terpineol ve terpinen-4-ol’dür. Seskiterpenler kekik yağında çok önemli bileşikler değildir. Bunlar içinde sadece beta-caryophyllene (%1-3) önem taşır. Kekik uçucu yağının antifungal aktivitesi de yine timol ve karvakrolden kaynaklanmaktadır (Kintzios 2004).

Çizelge 2.3 Kekik (thyme) uçucu yağı yüzde bileşimi (Anonymous, 2002)

Bileşen	Miktar (%)
B-mirisin	1,0-3,0
γ -terpinen	5,0-10,0
p-simen	15,0-28,0
Linalool	4,0-6,5
Terpinen-4-o	0,2-3,5
Timol	36,0-55,0
Karvakrol	1,0-4,0

Kekik türleri içinde geniş flavonoid ve fenolik asit içeriğine sahip iki önemli çeşit *Thymus vulgaris* (bahçekekiği) ve *Oregano heracleoticum* (mercanköşk) dur. Güçlü antimikrobiyal ve antioksidan özelliğindeki timol ve karvakrol thyme ve oregano çeşitleri bileşiminin büyük bir kısmını oluştururlar (Kintzios 2004).

2.3.1.1 Thyme uçucu yağı

Kekik (thyme), en yaygın kullanımı *Thymus vulgaris* (bahçe kekiği) olmak üzere onun bütün tür ve cinslerini kapsar. Aromatik olması ve şifa vermesi yönünden değerlendirildiğinde, *T. vulgaris* en önemli türdür ve flavor ajanı olarak çok geniş

kullanım alanına sahiptir. Özellikle *T. zygis* L.(İspanyol kekiği), *T. serpyllum* L.(yabani kekik), *T. pulegioides* L.(iri yabani kekik) olmak üzere diğer kekik türleri de *T. vulgaris* ile aynı amaç doğrultusunda kullanılabilir ve yerine ikame edebilirler (Miura *et al.* 1989, Wang *et al.* 1998, Vilar 2002).

Kekik uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi söz konusu olduğunda monoterpenlerden, timol ve karvakrol önemli rol oynar. Bu terpenler bakteriyel membranın protein yapısındaki amin ve hidroksil amin gruplarına bağlanarak geçirgenliğini değiştirirler ve bakteriyel inhibisyon sağlarlar (Juven *et al.* 1994). Kim *et al.* (2002)'ye göre uçucu yağlardaki fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi hücrenin fosfolipit membranlarına karşı olan etki tarzının, geçirgenlik düzeyinin artışı ve sitoplazmadan sıvı kaybı şeklinde olurken, Farag *et al.* (1989), Wendakoon and Sakaguchi (1995)'ye göre bu aktivite, hücre duvarında lokalize olan enzimlerle olan interaksiyon ile açıklanmaktadır.

Kekikte bulunan serbest fenolik asitler ise, kafeik asit, p-kumarik asit, sirinjik asit ve felurik asit olarak belirlenmiştir. 1980'lerde, kekik uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal aktivitesi de yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Genel olarak Gram pozitif bakteriler, Gram negatif bakteriler ve *Pseudomonas*'dan daha hassas oldukları için kekik yağı tarafından inhibe edilmişlerdir (Blakeaway 1986, Farag *et al.* 1986, Deans and Ritchie 1987). Thyme uçucu yağı, antibiyotiğe direçli mikroorganizmalara karşı çok geniş antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Nelson 1997). Kekik yağının antifungal aktivitesi incelendiğinde; özellikle gıda zehirlenmesi yapan *Aspergillus* türleri (Conner and Beuchat 1984, Farag *et al.* 1986, 1989, Deans and Ritchie 1987) ve *Fusarium solani*'ye karşı etkili olduğu görülmüştür (Zambonelli *et al.* 1996). *Candida albicans* mayası da kekik uçucu yağı (*T. vulgaris* ve *T. zygis*) tarafından inhibe edilebilmiştir (Menghini *et al.* 1987).

Ousallah *et al.* (2004), %1 (W/v) kekik , %1 (W/v) yenibahar ya da kekik-yenibahar (1:1) uçucu yağ karışımlarını içeren peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmleri, 4 °C'de depolama boyunca raf ömrünü artırmak ve patojenik bakteri çoğalmasını kontrol

etmek amacıyla sığır eti dilimlerine uygulamışlardır. Film uygulanmış örnekler mikrobiyal ve kimyasal analiz için 7 gün boyunca periyodik olarak test edilmiştir. Yüzeyinde 10^3 cfu/cm² sayıda *Pseudomonas* ya da *E. coli* O157:H7 bulunduran ete uygulanan biyoaktif filmlerden kekik içeren film, yenibahar içeren filme kıyasla her iki bakteriye karşı daha etkili olmuştur.

Tsagarida *et al.* (2000), et yüzeyine %0.8 kekik uçucu yağı uygulamasının bakteriyel popülasyonun çoğunluğunda, başta 2-3 log birimi azalma sağladığını ve 5°C’de 10 gün sonra *L. monocytogenes*’in öldüğü sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde Lambert *et al.* (2001), yaptıkları çalışmada %0,5 kekik uçucu yağı kullanarak, 5°C’de normal ya da modifiye atmosferde depolanmış et üzerinde mikrobiyal gelişimi etkili bir şekilde geciktirmişlerdir.

2.3.1.2 Oregano uçucu yağı

Oregano adı altında 61 tür tanımlanmakla beraber tüm dünyada baharat olarak en çok kullanılan bitkilerden biridir. Bunlar içinde en fonksiyonel olan *Oregano heracleoticum*’dur. Oregano’dan izole edilen oldukça fazla kimyasal bileşik olmasına karşın, içeriğindeki uçucu yağ temel olarak terpenoidlerden oluşur. Farklı genotipler arasındaki bileşim önemli derecede değişiklik gösterse de oregano türleri fenolik monoterpenoidlerden olan karvakrol bakımından oldukça zengindir. İçerik olarak timol ise karvakrolden sonra ikinci sırada yer alır (Kintzios 2004).

Oregano genel olarak et ürünleri, salatalar ve soslarda aroma verici olarak kullanılmakla beraber, yağı da et ve et ürünleri ile alkollü içeceklerde kullanılmaktadır. Vitamin ve minerallerce zengin olup besleyici değeri çok yüksektir.

Oregano uçucu yağında antioksidan etkiden sorumlu olan başlıca bileşik karvakrol olup flavonoidler de bu etkiye katkıda bulunurlar (Vekiari *et al.* 1993). Oregano mayonez ve sos benzeri gıdalarda etkili antioksidan aktiviteye sahiptir (Baratta *et al.* 1998).

Antioksidan etkisi ile bağlantılı olarak oregano uçucu yağına ait mikrobiyel inhibisyon ile ilgili oldukça fazla araştırma yapılmıştır.

Birçok uygulamada, %2 konsantrasyonda öğütülmüş Oregano'nun *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Aspergillus* küflerine karşı çok güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Azzouz and Bullerman 1982, Schmitz *et al.* 1993). Özellikle monoterpenler fungal inhibisyona katkıda bulunmaktadır.

Oregano uçucu yağının, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *A. niger*, *G. candidum* ve *Rhodothorula*, mikroorganizmalarına karşı çok güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Conner and Beuchat 1984). Ayrıca, oregano uçucu yağının bazı Gram negatif bakteriler (*P. vulgaris*, *E. coli*) ile bazı Gram pozitif bakterilere (*S. aureus*, *B. subtilis*) karşı inhibisyon etkisi olduğu ispatlanmıştır (Biondi *et al.* 1993, Izzo *et al.* 1995).

Yapılan bir çalışmada, %1 Oregano uçucu yağı içeren kalsiyum kazeinat, karboksimetil selüloz (CMC) ve peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmin kırmızı et dilimlerinin yüzeyindeki *Pseudomonas spp.* ve *E. coli* O157:H7 bakterilerine karşı etkili olduğu bulunmuştur (Ousallah *et al.* 2004).

Seydim and Sarıkus (2005), kekik (oregano), biberiye ve sarımsak uçucu yağları ilave edilmiş peyniraltı proteini bazlı yenilebilir filmlerin in-vitro koşullarda antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada, film içinde kekik ve sarımsak uçucu yağlarının biberiye uçucu yağına kıyasla *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *L. plantarum*'a karşı etkin inhibisyon zonu verdiğini ve uçucu yağların peyniraltı proteini bazlı yenilebilir filmlerle birlikte kullanımının gelecek vadede bir uygulama olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Et materyali

Ankara piyasasından kesimi takiben satın alınan ve çalışmada materyal olarak kullanılan sığır but etleri ve kabuk yağları 48 saat 4°C’de muhafaza edildikten sonra, denemenin kurulacağı gün Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Et İşletmesinde ARI marka kıyma makinesi (Ari Torna Ltd., İstanbul) kullanılarak iki kez kıyma çekilmiştir. Kıyma materyalinin yağ içeriği yaklaşık %24-25 olacak şekilde kabuk yağı ilavesi yapılmıştır. Kıyma işleminden sonra kıyılmış et ve yağın homojenizasyonunu sağlamak amacıyla çelik küvetler içinde 2 dakika elle karıştırma yapılarak elde edilen karışım 5 eşit parçaya bölünmüş ve film uygulanana kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Yenilebilir film materyali ve antimikrobiyal maddeler

Çalışmada yenilebilir film materyali üretiminde kullanılan izole soya proteini (>%90 protein içeriği), GÜRHAK Gıda ve Kimyevi Maddeler San. Dış Tic. Ltd. Şti. (İstanbul)’nden temin edilmiştir. Antimikrobiyal madde olarak ise Timtaş Tarım İlaç ve Mahsulleri Ticaret A.Ş.(Mersin) ve Eyüp Sabri Tuncer Kozmetik Sanayi A.Ş.(Ankara)’den sağlanan Mercanköşk-Oregano (*Oreganum heracleoticum L.*) ve bahçe kekiği-Thyme (*Thymus vulgaris L.*) uçucu yağları kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Yenilebilir film üretimi

Soya proteini bazlı yenilebilir film hazırlanmasında, Choi *et al.* (2003) ve Zivanovic *et al.* (2005) tarafından önerilen yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla,

%5 (w/v) oranında izole soya proteini destile su içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırılarak yavaş yavaş eklenmiştir. Karışıma plastikleştirici olarak %3,5 oranında gliserol katılmıştır. Manyetik karıştırıcıda 5 dk orta devirde homojen hale getirilen karışımın pH sı 0,1 N NaOH ile pH=10'a ayarlanmıştır. Daha sonra 90°C deki su banyosunda 30 dk bekletilmiş ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Kekik yağı ilave edilmeyen izole soya protein bazlı kontrol filmi (ISP) üretiminde film çözeltisi 40°C'ye soğutulup, 4 kat peynir bezi ile vakum pompası kullanılarak süzölmüş ve elde edilen film çözeltisinden plastik petri kaplarına 15 ± 0,1 g tartılarak 30°C deki kurutma dolabında 72 saat kurutulmuştur. Diğer 2 grup film ise mercanköşk-Oregano (OR) ve bahçe kekiğı-Thyme (TH) % 1, 2, 3, 4 ve 5 oranında ilave edilerek hazırlanmıştır.

Kekik yağı içeren film üretiminde kekik yağları yukarıda belirtilen kontrol ISP film çözeltisi hazırlama aşamalarıyla aynı şekilde hazırlanan film çözeltisine eklenmiştir. Bu amaçla, 40 °C'ye soğutulan karışıma önceden hazırlanan % 0,5 oranındaki Tween 20 ile süspanse edilmiş kekik yağları (OR ya da TH) %1, 2, 3, 4 ve 5 oranında (w/v) ilave edilerek İka Marka Ultra-Turrax T25 model homojenizatörü ile 13.500 rpm'de 1 dk süreyle homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan sonra oluşan hava kabarcıkları 4 kat peynir bezi ile vakum pompası kullanılarak süzölmüş ve elde edilen film çözeltisinden plastik petri kaplarına 15 ± 0,1 g tartılarak 30°C'deki kurutma dolabında 72 saat kurutulmuştur. Bu şekilde hazırlanan filmlerin kalınlıkları Mitutoyo marka dijital mikrometre kullanılarak ölçölmüştür. Hazırlanan filmler antibakteriyel aktivite belirlene kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Antibakteriyel aktivite tayini

Araştırmada, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakölte Gıda Mühendisliğı Bölümü költür koleksiyonundan temin edilen *Escherichia coli* Tip 1, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Lactobacillus plantarum* bakteri költürleri kullanılmıştır.

Yenilebilir filmlerin antibakteriyel aktivitesi Pranoto *et al.* (2005) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılarak değerlendirilmiştir. Test mikroorganizmalarından *S. aureus*, *E. coli* Tip 1, *E. coli* O157:H7, ve *P. aeruginosa* Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) içerisinde; *L. plantarum* MRS Broth (Merck) içerisinde 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. TSB ve MRS Broth içerisindeki 18 saatlik bakteri kültürleri Mc Farland 0.5'e göre ayarlanmıştır. Standart bulanıklığı ayarlanmış bakteri kültürlerinden *Lactobacillus plantarum* steril swab ile MRS Agar (Merck) besiyerine; diğer test bakterileri ise steril swab ile Nutrient Agar (Merck) besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Oregano (*Oreganum heracleoticum* L.) ve Thyme (*Thymus vulgaris* L.) kekik yağlarını içeren filmler farklı konsantrasyonlarda (%1,2,3,4,5) hazırlanmış, 17 mm çapında kesilerek besiyerine yerleştirilmiş ve 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol amacıyla Oregano ve Thyme kekik yağlarını içermeyen izole soya proteini bazlı (ISP) filmler için de aynı yöntem uygulanmıştır. İnkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapı milimetre olarak ölçülmüştür.

3.2.3 Yenilebilir filmlerin kıyma üzerine uygulanması

5 farklı konsantrasyonda OR ve TH içeren film materyallerinin 5 farklı bakteriye karşı belirlenen antibakteriyel aktivite sonuçları ve yapılan ön denemeler sonunda, kıyma materyaline uygulanacak filmler için OR ve TH konsantrasyonun %5 olmasına karar verilmiştir. Ayrıca OR ve TH uçucu yağlarının birlikte etkisinin incelenmesi için 1:1 oranında OR:TH (ORT) içeren (%5) filmler de hazırlanmıştır. Hazırlanan filmler kıyma materyaline uygulanana kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde muhafaza edilmiştir.

Her grup için elde edilen kıyma materyalinden 9 cm çaplı steril plastik petri kutularının kapaklarına $50 \pm 0,5$ g tartılmış ve elle yassılaştırılarak şekil verilmiştir. Kontrol (K) grubu, film uygulanmadan plastik torbalara yerleştirilerek vakum paketlenmiştir. ISP, OR, TH ve ORT ilave edilmiş filmler K grubunda olduğu gibi hamburger köftesi şekli verilen kıymanın alt ve üst yüzeyine yerleştirilerek plastik torbalarda vakum paketlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan 5 grup kıyma örnekleri 4°C'de 12 gün muhafaza

edilerek depolama başlangıcından itibaren 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde örnekler alınarak mikrobiyolojik analizler, enstrümental renk tayini, metmiyogloblin oranı tayini ve pH analizleri yapılmıştır. Ayrıca 0. gün örneklerinde tüm grupların kimyasal kompozisyonunu belirlemek amacıyla nem, yağ, protein ve kül analizleri de yapılmıştır. Deneme 2 tekerrürlü yapılmıştır.

3.2.4 Nem miktarının belirlenmesi

Ham maddenin başlangıçtaki nem miktarını saptamak için, 105°C’de kurutulduktan sonra darası alınmış kuru madde kaplarına yaklaşık 5 g örnek tartılmış ve 105°C’deki kurutma dolabında sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş ve kuru madde kaplarının tartım farkından örnekteki % nem miktarı belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.2.5 Yağ miktarının belirlenmesi

Ham maddenin başlangıçtaki toplam yağ miktarı, sıcak ekstraksiyon yöntemi ile Soxhlet düzeneği kullanılarak belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.2.6 Protein miktarının belirlenmesi

Ham maddenin başlangıçtaki ham protein miktarı (%), Kjeldahl yöntemine göre örneklerin önce % azot miktarı belirlenmiş ve daha sonra da 6.25 faktörü ile çarpılarak saptanmıştır (Anonymous 1990).

3.2.7 Kül içeriğinin belirlenmesi

Ham maddenin başlangıçtaki ham kül miktarının belirlenmesi için, sabit ağırlığa getirilen porselen kül kapsüllerine yaklaşık 3-4g örnek tartılarak kül fırınına konmuştur. Sıcaklık kademeli olarak artırılarak 550-570°C’ye getirilmiş ve kül kapsülündeki örnek

rengi gri-beyaz olana kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Kül kapsüllerinin tartım farkından örnekteki % kül miktarı belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.2.8 pH değerinin belirlenmesi

10 g örnek destile su ile 1/10 oranında karıştırılıp İka Marka Ultra-Turrax T25 model homojenizatörde 1 dk süresince homojenize edilmiş ve pH değerleri Hanna HI 221 model pH metrede belirlenmiştir. Okumalardan önce pH metre, pH 4 ve 7 tampon çözeltileriyle ayarlanmıştır (Anonymous 1990).

3.2.9 Metmiyogloblin oranı

Polipropilen santrüfuj tüplerine (50 ml'lik) 5 g kıyma örneği tartılarak üzerine 25 ml 4°C'deki 40 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH 6.8) eklenmiştir. Bu karışımlar İka Marka Ultra-Turrax T25 model homojenizatörü ile 13.500 rpm'de 10 s homojenize edilmiştir. 4°C'de 1 h bekletilen örnekler, 4°C'de 5000 rpm'de 30 dk santrüfuj edilmiş (Sigma 3K 30 Model) ve supernatant Whatman No 1 filtre kağıdından süzölmüştür. Örneklerin absorbanları spektrofotometrede (Shimadzu® Model UV-2401 PC) 700, 572 ve 525 nm'de ölçölmüştür. Metmiyogloblin (MetMb) oranı ise aşğıdaki formöl kullanılarak hesaplanmıştır (Krzywicki 1982, Kannan *et al.* 2001).

$$\text{MetMb(\%)} = \left\{ 1.395 - \frac{A_{572} - A_{700}}{A_{525} - A_{700}} \right\}$$

3.2.10 Enstrümental renk tayini

Kıyma örneklerinin CIE L* (parlaklık), a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) değerleri örnek yüzeyinde Minolta Chrometer CR300 kullanılarak farklı noktalardan 6 ayrı okuma yapılarak belirlenmiştir (Candogan 2002).

3.2.11 Toplam aerobik mezofil bakteri sayısı

Kıyma örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Maximum Recovery Diluent ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığına kadar seyreltilmiştir. Plate Count Agar (Merck) besiyerine standart yayma plak yöntemi ile tüm seyreltilerden ekim yapılmış, 28 ± 2 °C'da 48 saat inkübasyon sonrasında petri kutularında oluşan kolonilerden 15 - 300 arasında olanlar sayılmıştır. Elde edilen sayım sonuçları $\log_{10}$ kob (koloni oluşturma birimi) / g olarak ifade edilmiştir (Anonim 2000).

3.2.12 *Pseudomonas* spp. sayısı

Kıyma örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Maximum Recovery Diluent ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığına kadar seyreltilmiştir. Glutamat Starch Phenol Red Agar (Merck) besiyerine standart yayma plak yöntemi ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığındaki tüm seyreltilerden ekim yapılmış, 28-30°C'da 2-3 gün inkübasyon sonunda petri kutularında 2-3 mm çapında mavi-menekşe renkli ve etrafında kırmızı-menekşe renkli zon olan koloniler *Pseudomonas* olarak kabul edilmiş ve kolonilerden 15-300 arasında olanlar sayılmıştır. Mikroorganizma sayısı, standart formül ile kıymanın gramında koloni oluşturan birim olarak hesaplanmıştır (Halkman 2005).

3.2.13 *Staphylococcus* spp. sayısı

Kıyma örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Maximum Recovery Diluent ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığına kadar seyreltilmiştir. Baird-Parker Agar bazal (Merck) besiyerine önceden oda sıcaklığına getirilmiş yumurta sarısı-tellurit emülsiyonu ilavesi 45-50°C sıcaklıkta yapılmıştır. Hazırlanan bu besiyerine standart yayma plak yöntemi ile tüm seyreltilerden ekim yapılmış, 37°C'da 24 saat inkübasyon sonunda petri kutularında etrafı saydam zonlu 1-1,5 mm çaplı siyah parlak koloniler *Staphylococcus* kolonileri olarak kabul edilmiş ve kolonilerden 15-300 arasında olanlar sayılmıştır. Sonuçlara göre mikroorganizma sayısı, standart formül ile kıymanın gramında koloni oluşturan birim (kob/g) olarak hesaplanmıştır (Anonim 2000).

3.2.14 Koliform grup bakterilerin sayısı

Koliform grup bakteriler denildiğinde; 37°C’da 48 saat içinde laktozdan asit ve gaz oluşturan, Gram negatif, sporsuz, çubuk şeklinde olan bakteriler anlaşılmaktadır. Kıyma örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Maximum Recovery Diluent ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığına kadar seyreltilmiştir. Violet Red Bile Agar (Merck) besiyerine standart yayma plak yöntemi ile tüm seyreltilerden ekim yapılmış ve besiyerinin sıvıyı emmesinden sonra 45-50°C’da tutulan 4-5 ml kadar erimiş VRB agar besiyeri ikinci kat olarak dökülmüştür. İkinci katın da tam olarak jelleşmesinden sonra petri kutuları kapakları üzerine çevrilmiş ve 32°C sıcaklıktaki inkübatörde 24 saat inkübasyon sonunda VRB Agar besiyerinde 1-2 mm çaplı koyu kırmızı renkli koloniler koliform grup bakteriler olarak kabul edilmiş ve kolonilerden 15-300 arasında olanlar sayılmıştır. Sonuçlara göre mikroorganizma sayısı, standart formül ile kıymanın gramında koloni oluşturan birim (kob/g) olarak hesaplanmıştır (Anonim 2000).

3.2.15 Laktik asit bakterilerinin sayısı

Kıyma örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Maximum Recovery Diluent ile 10^{-1} - 10^{-6} aralığına kadar seyreltilmiştir. MRS Agar (Merck) besiyerine standart yayma plak yöntemi ile tüm seyreltilerden ekim yapılmıştır. 28°C’da 48 saat inkübasyon sonunda besiyerinde krem renkli, iğ şeklinde (2 ucu sivri) tüm koloniler laktik asit bakterisi olarak kabul edilmiştir. Besiyerinde oluşan kolonilerden 15-300 arasında olanlar sayılarak standart formül ile kıymanın gramında koloni oluşturan birim hesaplanmıştır (Halkman 2005).

3.2.16 Duyusal analiz

Duyusal analiz için her gruptan 2. günde alınan örnekler, teflon tavalarda 10 dk süreyle pişirilmiş, oda sıcaklığına soğutulduktan sonra her örnek 6 eşit parçaya bölünerek, beyaz plastik kaplara ayrı ayrı yerleştirilmiştir. Örnek içeren kapların üstü Alüminyum folyo ile kapatılarak, rastgele 3’lü dijit kod sistemine göre kodlanmıştır. Duyusal

değerlendirme, ışıktandırılmış ve havalandırılmış bir odada 10 kişilik bir panelist grubu ile yapılmıştır. Örnekler panelistlere rastgele sıralama yapılarak sunulmuş, değerlendirme esnasında bir önceki örnekten ağızda kalan tadı gidermek amacıyla su ve kraker yenilmesi bildirilmiştir. Duyusal değerlendirmede panelistler pişmiş örneklerin görünüş, renk, koku, lezzet, yapı (tekstür) ve genel beğeni özelliklerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmede 9'lu hedonik sıkala (1: son derece kötü, 9: mükemmel) kullanılmıştır. Duyusal analizde kullanılan form EK 11'de sunulmuştur (Nadarajah *et al.* 2005).

3.2.17 İstatistik analiz

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi SAS paket programı kullanılarak yapılmıştır (SAS 1996). Grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) uygulanarak araştırılmıştır. ANOVA sonucunda gerekli olduğu zaman hangi grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olduğu LSD (Asgari Önemli Fark) testi uygulanarak belirlenmiştir ($p<0,05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Antibakteriyel Aktivite Tayini ve Etkin Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal maddelerin doğallığı, gıdaya salınımı ve etkinliği gibi özelliklere sahip olması oldukça önem taşımaktadır. Etkin antimikrobiyal aktivite ise; ilave edilen antimikrobiyal maddenin film ya da kaplama üretiminden sonra kullanıma hazır ambalaj materyali içinde gösterdiği aktivitedir (Han 2000).

Smith-Palmer *et al.* (1998), tarafından yapılan, 5 farklı gıda patojenine karşı uçucu yağların etkisinin incelendiği bir çalışmada, etkili konsantrasyonun bakteriyel gelişimin belli seviyede sınırlandırılması ile belirlendiği bildirilmiştir. Burada ifade edilen etkin antibakteriyel aktivite düzeyi, etken maddenin hedef bakteriye karşı en yüksek inhibisyonun görüldüğü sınır konsantrasyondur.

Antibakteriyel aktivite tayini çalışmasında kekik yağı içermeyen soya proteini bazlı yenilebilir film ile %1, %2, %3, %4 ve %5 konsantrasyonlarda Oregano (OR) ve Thyme (TH) uçucu kekik yağlarını içeren filmlerin kalınlık ve ağırlıkları ölçülerek elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’ de verilmiştir.

Yapılan antibakteriyel aktivite tayininde, farklı konsantrasyonlarda OR ve TH ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film diskleri ile kekik yağı içermeyen soya proteini bazlı yenilebilir film disklerinin *S. aureus* için verdiği inhibisyon zonu çapları Çizelge 4.2 ile EK 1 ve EK 2’de gösterilmiştir.

Staphylococcus aureus için, TH kekik yağını içeren filmlerden elde edilen inhibisyon zonu çapları arasındaki farkın %1 ve %2, %3 konsantrasyonları için önemli ($p<0,05$) ancak %4 ve %5 kekik yağı ihtiva eden filmlerin verdiği zon çapları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) ve antibakteriyel etkinin %3’ten yüksek konsantrasyonlarda bir değişim göstermediği görülmektedir (Çizelge 4.1). Diğer yandan

OR kekik yağı içeren filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları incelendiğinde, etkin antibakteriyel aktivite düzeyinin %3'lük konsantrasyonda görüldüğü belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı konsantrasyonlarda kekik yağı içeren ve kekik yağı içermeyen yenilebilir film disklerinin kalınlık (μm) ve ağırlık (mg) değerleri

Örnek	Kekik Yağı Konsantrasyonu (%)	Kalınlık * (μm)	Ağırlık * (mg)
ISP	0	0,200 $\pm$ 0,007	0,056 $\pm$ 0,001
OR	1	0,242 $\pm$ 0,018	0,074 $\pm$ 0,004
	2	0,224 $\pm$ 0,023	0,077 $\pm$ 0,006
	3	0,273 $\pm$ 0,021	0,093 $\pm$ 0,005
	4	0,370 $\pm$ 0,028	0,098 $\pm$ 0,005
	5	0,440 $\pm$ 0,044	0,134 $\pm$ 0,005
TH	1	0,236 $\pm$ 0,017	0,070 $\pm$ 0,003
	2	0,274 $\pm$ 0,015	0,079 $\pm$ 0,003
	3	0,347 $\pm$ 0,23	0,102 $\pm$ 0,003
	4	0,415 $\pm$ 0,027	0,119 $\pm$ 0,005
	5	0,332 $\pm$ 0,013	0,102 $\pm$ 0,003

* Ortalama $\pm$ standart hata

Çizelge 4.2 *S. aureus* için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm)

Film grubu	Konsantrasyon (%) [*]					
	0	1	2	3	4	5
OR	0	27,50 $\pm$ 0,50 ^d	42,00 $\pm$ 1,00 ^c	49,50 $\pm$ 1,00 ^a	45,50 $\pm$ 0,50 ^b	49,50 $\pm$ 0,50 ^a
TH	0	30,00 $\pm$ 0,00 ^d	38,00 $\pm$ 0,00 ^c	46,00 $\pm$ 1,00 ^b	48,00 $\pm$ 1,00 ^{ab}	49,50 $\pm$ 0,50 ^a

a-d $\Rightarrow$: Aynı örnek içindeki konsantrasyonlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

* Ortalama $\pm$ standart hata

Farklı konsantrasyonlarda OR ve TH ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film disklerinin *Escherichia coli* Tip 1 için verdiği inhibisyon zonu çapları Çizelge 4.3 ile EK 3 ve EK 4’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 *Escherichia coli* Tip 1 için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm)

Film grubu	Konsantrasyon (%) [*]					
	0	1	2	3	4	5
OR	0	32,00±0,00 ^d	42,00±0,00 ^c	44,00±1,00 ^{ab}	43,50±0,50 ^{bc}	45,50±0,50 ^a
TH	0	36,50±0,50 ^e	41,00±0,00 ^d	43,00±0,00 ^c	47,00±0,00 ^b	49,00±0,00 ^a

a-e ⇨ : Aynı örnek içindeki konsantrasyonlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Escherichia coli Tip 1 sonuçları incelendiğinde, TH uçucu yağını içeren filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları arasındaki farkın tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli bulunduğu ve *Escherichia coli* Tip 1’e karşı olan antibakteriyel aktivitenin konsantrasyon arttıkça artış gösterdiği gözlenmiştir (p<0,05). OR uçucu yağını içeren filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları arasındaki farkın %4 ve %5 konsantrasyonlar arasında önemli olduğu ve OR uçucu yağı içeren film disklerinin *Escherichia coli* Tip 1’e karşı etkin antibakteriyel aktivite düzeyinin %3’lük konsantrasyonda ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda OR ve TH ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film disklerinin *Escherichia coli* O157:H7 için verdiği inhibisyon zonu çapları Çizelge 4.4 ile EK 5 ve EK 6’da gösterilmiştir.

Escherichia coli O157:H7 sonuçları değerlendirildiğinde, TH uçucu yağı içeren filmlerin verdiği inhibisyon etkisinin *Escherichia coli* Tip 1'e karşı olan antibakteriyel etkinliğe benzer düzeyde olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4 *Escherichia coli* O157:H7 için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm)

Film grubu	Konsantrasyon (%) [*]					
	0	1	2	3	4	5
OR	0	35,50±0,50 ^d	41,00±1,00 ^c	44,50±0,50 ^b	49,50±0,50 ^a	50,50±0,50 ^a
TH	0	36,50±0,50 ^e	40,50±0,50 ^d	42,50±0,50 ^c	45,50±0,50 ^b	49,50±0,50 ^a

a-e → : Aynı örnek içindeki konsantrasyonlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

TH uçucu yağı içeren film diskleri arasındaki farkın yine konsantrasyon arttıkça önemli olduğu (p<0,05) belirlenmiştir. OR uçucu yağı içeren filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları arasındaki farkın, %1, %2 ve %3 konsantrasyonlar içinde önemli olduğu (p<0,05), %4 ve %5 konsantrasyonlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı (p>0,05) ve antibakteriyel aktivite düzeyinin değişmediği görülmektedir.

Farklı konsantrasyonlarda OR ve TH ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film disklerinin *Lactobacillus plantarum* için verdiği inhibisyon zonu çapları Çizelge 4.5 ile EK 7 ve EK 8'de gösterilmiştir.

Lactobacillus plantarum sonuçları incelendiğinde, TH ve OR uçucu kekik yağlarını içeren filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları arasındaki farklar değerlendirildiğinde her iki film için de %3, %4 ve %5 konsantrasyonları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu (p<0,05) konsantrasyon arttıkça antibakteriyel aktivitenin arttığı

sonucuna varılmaktadır. Ancak çalışmada diğer bakterilerden elde edilen zon çapları ile kıyaslandığında *L. plantarum*'un kekik yağına karşı daha dirençli olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5 *Lactobacillus plantarum* için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm)

Film grubu	Konsantrasyon (%) [*]					
	0	1	2	3	4	5
OR	0	22,50±0,50 ^d	23,50±0,50 ^d	30,00±0,00 ^c	35,00±0,00 ^b	37,00±0,00 ^a
TH	0	20,50±0,50 ^d	29,50±0,50 ^{cd}	30,50±0,50 ^c	32,50±0,50 ^b	36,50±0,50 ^a

a-d $\Rightarrow$: Aynı örnek içindeki konsantrasyonlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama $\pm$ standart hata

Farklı konsantrasyonlarda OR ve TH ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film disklerinin *Pseudomonas aeruginosa* için verdiği inhibisyon zonu çapları Çizelge 4.6 ile EK 9 ve EK 10'da gösterilmiştir.

Pseudomonas aeruginosa ile elde edilen sonuçlarda, TH ve OR uçucu kekik yağlarını içeren yenilebilir film disklerinin verdiği inhibisyon zonu çapları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, TH uçucu yağını içeren filmlerde konsantrasyon artışına paralel olarak antibakteriyel aktivitenin değişmediği gözlemlenmiş, %2, %3, %4 ve %5 konsantrasyon düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varılmıştır (p>0,05). Bu sonuçlara göre, *Pseudomonas aeruginosa*'nın etkin konsantrasyon değerinin %3 veya %4 olduğu söylenebilir. *Pseudomonas aeruginosa*'nın da uçucu kekik yağına karşı dirençli bir bakteri olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.6 *Pseudomanas aeruginosa* için belirlenen inhibisyon zonu çapları (mm)

Film grubu	Konsantrasyon (%) [*]					
	0	1	2	3	4	5
OR	0	27,00±1,00 ^d	34,50±0,50 ^c	37,00±1,00 ^{bc}	40,00±0,00 ^a	39,50±0,50 ^{ab}
TH	0	32,50±1,50 ^b	40,00±0,00 ^a	40,00±0,00 ^a	41,00±1,00 ^a	42,00±1,00 ^a

a-d $\Rightarrow$: Aynı örnek içindeki konsantrasyonlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Shuang (2004)'e göre, kekik yağı laktik asit bakterileri ve *L. monocytogenes*'e karşı gözle görülür bir azalma sağlarken, Gram negatif bazı *Pseudomanas* suşları üzerinde etkisi olmamıştır. Etin bozulmasında önemli etkisi olan *Pseudomanas*'ların bazı suşlarının antimikrobiyel maddelere karşı daha dirençli olduğu yapılan diğer çalışmalarla da ispatlanmıştır (Paster *et al.* 1990). Nitekim antibakteriyel aktivite çalışmasında, *Pseudomanas aeruginosa*'ya ait zon çapının diğer bakterilere göre nispeten daha az olduğu belirlenmiş ve artan uçucu yağ konsantrasyonu ile beraber antibakteriyel aktivitesinde de oransal bir artış olmadığı sonucuna varılmıştır.

Oregano uçucu yağının, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *A. niger*, *G. candidum* ve *Rhodothorula*, mikroorganizmalarına karşı çok güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından ispatlanmıştır (Conner and Beuchat 1984). Seydim and Sarıkus (2005), *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes* ve *L. plantarum* gibi 5 gıda patojeni ile yaptıkları antibakteriyel aktivite çalışmasında, farklı baharat ekstraktları içeren peyniraltı suyu proteininden üretilmiş film disklerini besiyeri üzerine uygulamışlar ve oluşan inhibisyon zonlarını ölçmüşlerdir. %2 konsantrasyon düzeyindeki Oregano uçucu yağını içeren filmin, biberiye ve sarımsak uçucu yağını içeren filmlerle kıyaslandığında bu bakterilere karşı daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

Genel bir değerlendirme yapıldığında ISP filminin hiçbir şeklilde inhibisyon zone vermediği, kekik içeren filmlerin ise bakterilerin çoğunda belli bir etkin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

4.2 Hammaddenin Kimyasal Bileşimi

Kıymanın kimyasal bileşimini belirlemek amacıyla nem, protein, yağ ve kül analizleri yapılmış ve sonuçlar izelge 4.7’de verilmiştir.

TS 11566 kıyma standardı ve TS 10580 hamburger köfte standardında yer alan kimyasal bileşim sonuçlarına göre, sığır kıymasının protein oranı en az %16, yağ oranı en çok %29 ve nem oranı en çok %65’tir (Anonim 1995, 2002). Yapılan çalışmada ise hammaddenin protein oranı %16,84, yağ oranı %23,91 ve nem oranı %57,90 bulunmuştur ve bu değerler standartlarda belirtilen düzeylerdedir.

Çizelge 4.7 Ham madde olarak kullanılan kıymanın kimyasal bileşimi (%)

Kimyasal Bileşim	%*
Nem	57,90±0,60
Protein	16,84±0,17
Yağ	23,91±0,91
Kül	1,15±0,04

* Ortalama ± standart hata

4.3 Yenilebilir Filmin Kalınlık Değerleri

Yapılan çalışmada, kıymalara uygulanan soya bazlı yenilebilir film gruplarının ortalama kalınlık değerleri izelge 4.8’ de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Kıymaların ambalajlandığı kekik yağı içeren ve içermeyen yenilebilir film gruplarının kalınlık değerleri (mm)

Örnek	Film Kalınlığı*
ISP	0,238±0,006
OR	0,262±0,008
TH	0,248±0,006
ORT	0,260±0,004

* Ortalama ± standart hata

Seydim and Sarıkus (2005), yaptıkları antibakteriyel aktivite tayini çalışmasında kullandıkları %2 konsantrasyonda uçucu yağ içeren film disklerinin ortalama kalınlıklarını 0,245 mm olarak bildirmişlerdir. Bu değer gerek antibakteriyel aktivite testinde gerekse kıymalara uygulanan filmlerle yapılan çalışmada kekik yağı ilave edilmiş filmlerin kalınlıkları ile uyum içindedir.

4.4 Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayıları

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı aynı periyot içindeki örnekler arasında genel olarak istatistiksel açıdan önemli değilse de 8. günde K grubu ile ORT grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak bu fark K grubunun aksine ORT grubunda istenen düzeyde gerçekleşmemiştir. Bunu takip eden 10. ve 12. günlerde elde edilen sonuçlara göre ise kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.9 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları (log₁₀ kob/g)

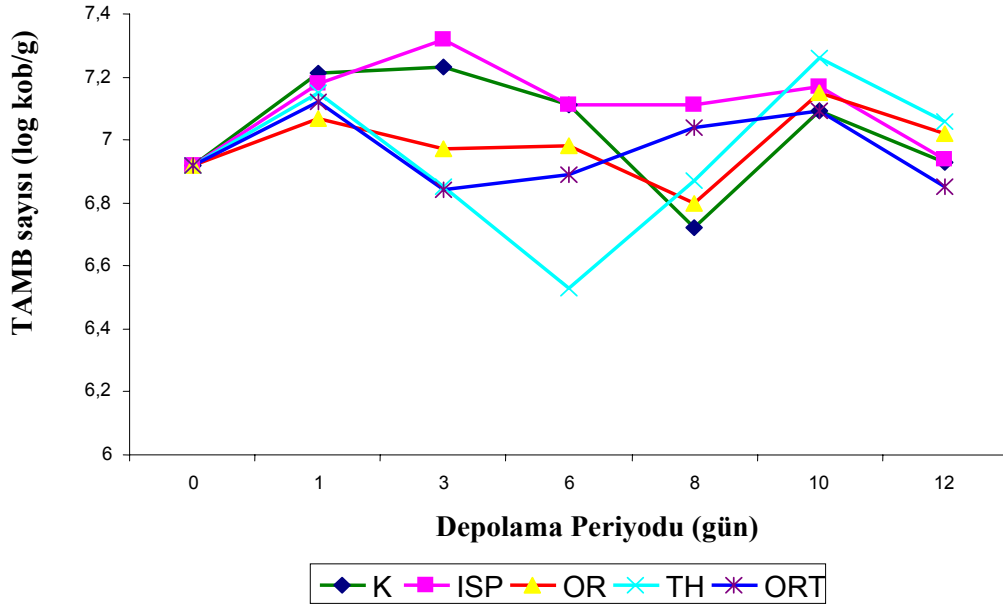
Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	6,92±0,07	6,92±0,07	6,92±0,07	6,92±0,07	6,92±0,07
1	7,21±0,10	7,18±0,15	7,07±0,15	7,15±0,02	7,12±0,02
3	7,23±0,36	7,32±0,22	6,97±0,33	6,85±0,52	6,84±0,38
6	7,11±0,03	7,11±0,05	6,98±0,02	6,53±0,52	6,89±0,17
8	6,72±0,13 ^c	7,11±0,005 ^a	6,80±0,09 ^{bc}	6,87±0,04 ^{abc}	7,04±0,08 ^{ab}
10	7,09±0,28	7,17±0,11	7,15±0,33	7,26±0,44	7,09±0,01
12	6,93±0,12	6,94±0,35	7,02±0,04	7,06±0,01	6,85±0,13

a-c ⇒ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Yapılan antibakteriyel aktivite çalışmasında kekik yağı içeren yenilebilir film diski, besiyerine inoküle edilen bakterilerin çoğunda inhibisyon zonu oluşturmalarına rağmen, kıyma üzerine uygulandığında toplam bakteri sayısında istatistiksel olarak önemli bir azalma sağlanmadığı gözlenmiştir (p>0,05).

Seydim and Sarikus (2005), yaptıkları çalışmada peyniraltı proteini bazlı yenilebilir filme dahil edilen kekik yağı ve sarımsak uçucu yağının 5 önemli gıda patojeni olan, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes* ve *L. plantarum*'a karşı oldukça etkili düzeyde inhibisyon sağlamalarına rağmen, biberiye uçucu yağının bu bakterilere karşı hiç etki göstermediğini bulmuşlardır.



Şekil 4.1 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları (log₁₀ kob/g)

Doğal antimikrobiyal nitelikteki bileşiklerle (nisin, lizozim), aromatik bitkilerin yapısındaki uçucu karakterli bileşiklerin antibakteriyel aktivitesi ve sağlık açısından da güvenli olmaları araştırmacılar tarafından ispatlanmış bir gerçektir (Weng and Hotchkiss 1992, Tharanathan 2003). Ancak aromatik bitkiler fenolik bileşiklerce zengin olmalarına karşın antimikrobiyal etkinliklerinin tüm bakteri cinslerinde ve bunların alt türlerinde eşit düzeyde olması beklenmemelidir. Sonuç olarak da yaptığımız çalışmada kıymanın doğal florasındaki tüm bakterilerin inhibisyonunun mümkün olamayacağı açıktır.

Ayrıca yapılan antibakteriyel aktivite çalışmasının sonuçlarından da görüleceği üzere, uçucu kekik yağının *L. plantarum* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkisinin düşük olduğu bulunmuştur. Bunun yanında *L. plantarum* ve *P. aeruginosa*'nın et ve et ürünleri mikroflorası içerisinde Toplam Aerobik Mezofilik Bakteriler içinde baskın flora oldukları bilinmektedir. Psikrofil *Pseudomonas* suşları soğuk depolamada etkili olup ette bozulmalara neden olurken, vakum ambalajlamada da anaerobik *Lactobacillus*

susları aktif hale geçmektedir. Yapılan çalışmada ise uçucu kekik yağının Toplam Aerobik Mezofilik Bakteriler'e karşı herhangi bir antibakteriyel aktivitesinin bulunmadığı ortaya konmuştur.

4.5 Koliform Grup Bakteri Sayıları

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen koliform grup bakteri sayıları Çizelge 4.10 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince koliform grup bakteri sayıları (log₁₀ kob/g)

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	4,70±0,37 ^B	4,70±0,37	4,70±0,37	4,70±0,37 ^{AB}	4,70±0,37 ^{AB}
1	5,69±0,07 ^{AB}	5,54±0,72	6,12±0,11	6,41±0,03 ^A	6,29±0,05 ^A
3	6,30±0,07 ^A	5,91±0,49	5,14±0,88	5,15±1,02 ^{AB}	4,83±1,09 ^{AB}
6	5,61±0,31 ^{AB}	5,46±0,19	5,28±0,15	5,12±0,21 ^{AB}	5,14±0,12 ^{AB}
8	5,62±0,35 ^{AB}	6,02±0,20	4,89±0,86	4,52±0,68 ^B	4,84±0,69 ^{AB}
10	5,13±0,18 ^{abAB}	5,19±0,09 ^a	4,49±0,17 ^{abc}	4,41±0,01 ^{bcB}	4,39±0,35 ^{cB}
12	5,25±0,59 ^{AB}	5,44±0,46	4,92±0,45	4,77±0,69 ^{AB}	4,93±0,49 ^{AB}

A,B $\Downarrow$: Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

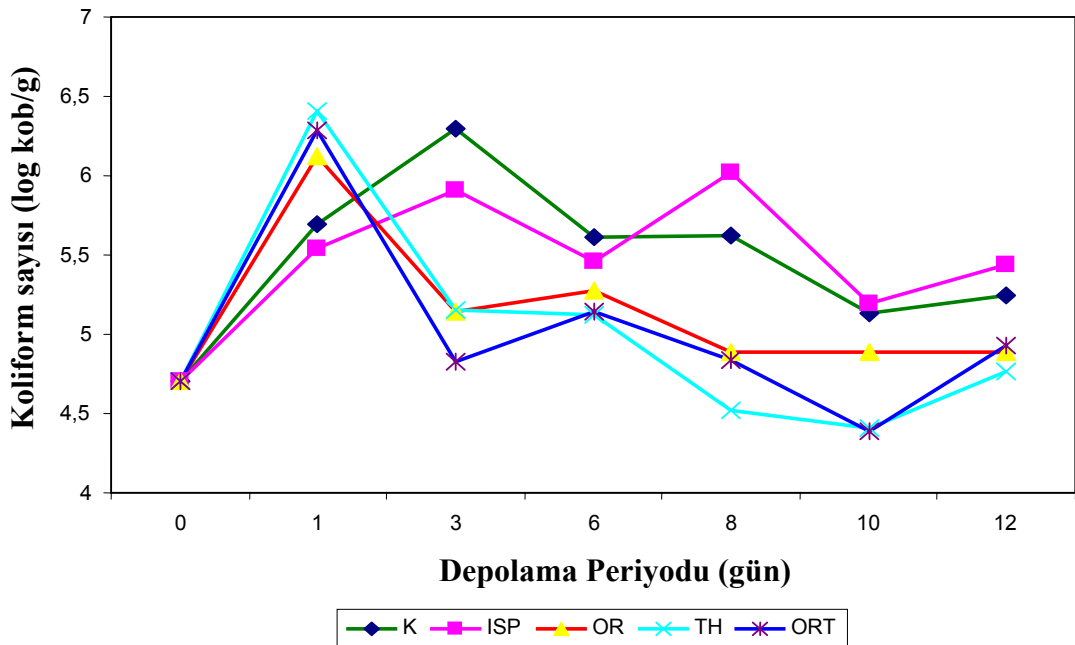
a-c $\Rightarrow$: Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Koliform grubu bakterilerden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, 1. günde bakteri sayısının arttığı ancak onu takip eden günlerde uçucu kekik yağının kıymanın

derinliklerine doğru göç etmesi ile birlikte bakteriyel yükün tüm periyotlar boyunca azalma eğilimine girdiği gözlenmiştir. Ancak bu azalma istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde, aynı örnek içindeki periyotlar arasındaki fark önemli bulunmazken ($p>0,05$), aynı periyot içindeki örnekler arasında özellikle 10. günde, OR ve TH değerleri için de sayısal bir indirgenme olmasına rağmen sadece ORT grubu ile K ve ISP grubu arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Zivanovic *et al.* (2005) yaptıkları çalışmada, bologna dilimlerinde 10°C’de 5 gün depolama boyunca, sadece kitozan filmi uygulamasıyla patojen sayısında 1-3 logaritma birimi azalma sağlarken, %1 ve %2 oregano uçucu yağı ilave edilmiş kitozan bazlı yenilebilir filmin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 sayısında 4 logaritma birimi azalma sağladığını bulmuşlardır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip olan doğal bir madde olan kitozan, kekik uçucu yağı ile desteklendiğinde sinerjetik bir etkiyle koliform grup içindeki önemli gıda patojenlerinden *E. coli* O157:H7’nin inhibisyonunda daha başarılı sonuçlar vermiştir.



Şekil 4.2 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince koliform grup bakteri sayıları (log₁₀ kob/g)

Oregano ve thyme uçucu yağlarının in-vitro koşullarda, bazı bakterilere ve özellikle de *S. aureus* ve *E. coli* üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (Burt 2004). Antimikrobiyel aktivite tayini çalışmasında da görüldüğü üzere koliform grubu içinde *E. coli* Tip1 ve *E. coli* O157:H7 suşlarının verdiği inhibisyon zon çapı belli konsantrasyona kadar artmış, ancak, özellikle %4 ve %5 kekik uçucu yağı içeren yenilebilir filmlerin verdiği inhibisyon zonu çapları değerleri birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur.

4.6 *Pseudomanas* spp. Sayıları

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen *Pseudomanas* spp. sayıları Çizelge 4.11 ve Şekil 4.3’de verilmiştir.

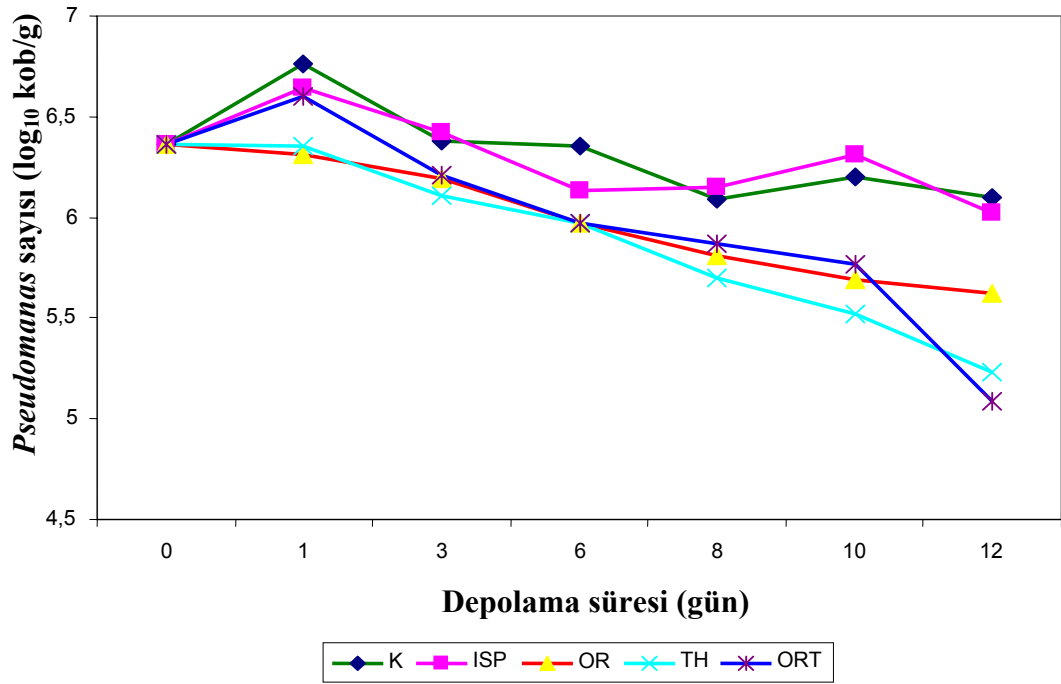
Çizelge 4.11 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince *Pseudomanas* spp. sayıları (log₁₀ kob/g)

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	6,36±0,18 ^{AB}	6,36±0,18	6,36±0,18	6,36±0,18 ^A	6,36±0,18 ^A
1	6,76±0,28 ^A	6,64±0,24	6,31±0,04	6,35±0,04 ^A	6,60±0,25 ^A
3	6,38±0,11 ^{AB}	6,42±0,01	6,19±0,21	6,11±0,21 ^{AB}	6,21±0,21 ^{AB}
6	6,35±0,19 ^{AB}	6,13±0,17	5,97±0,10	5,97±0,13 ^{AB}	5,97±0,03 ^{AB}
8	6,09±0,23 ^B	6,15±0,23	5,81±0,35	5,70±0,32 ^{AB}	5,87±0,19 ^{AB}
10	6,20±0,14 ^{AB}	6,31±0,30	5,69±0,27	5,52±0,12 ^{AB}	5,77±0,33 ^{AB}
12	6,10±0,19 ^B	6,02±0,20	5,62±0,42	5,23±0,53 ^B	5,09±0,74 ^B

A,B ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Periyotlar ilerledikçe zamana bağlı olarak özellikle TH ve ORT grubunda başlangıç değerine göre 12. gün sonunda *Pseudomanas* sayısındaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). OR grubunda *Pseudomanas* sayısında azalma görülse de başlangıç değerine göre değerlendirildiğinde bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). Ancak son periyotta TH ve ORT grubunda istatistiksel olarak önemli bir farkın ortaya çıkması yenilebilir filmde kıymanın dokularına doğru antimikrobiyal özellikteki uçucu yağların göç hızının yavaş olması ile açıklanabilir. Katı gıdalarda etken maddenin difüzyon hızının özellikle düşük depolama sıcaklıklarında yavaşladığı yapılan çalışmalarla da gösterilmiştir (Han 2000).



Şekil 4.3 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince *Pseudomanas* spp. sayıları ($\log_{10}$ kob/g)

Shuang (2004), laktik asit bakterileri ve *L. monocytogenes*'in kekik yağına karşı gözle görülür bir azalma sağlarken, Gram negatif bazı *Pseudomanas* suşlarının direnç gösterdiğini bildirmiştir. Yapılan bir diğer çalışma ile de *Pseudomanas*'ların bazı suşlarının antimikrobiyel maddelere karşı daha dirençli olduğu ispatlanmıştır (Paster *et al.* 1990). Nitekim antibakteriyel aktivite çalışmasında, *Pseudomanas aeruginosa* 'ya ait zon çapının diğer bakterilere göre daha az olduğu belirlenmiş ve artan uçucu yağ

konsantrasyonu ile birlikte antibakteriyel aktivitesinde de oransal bir artış olmadığı görülmüştür. Yapılan çalışmada ise %5 konsantrasyonda TH ve ORT içeren yenilebilir film uygulanmış kıymalarda *Pseudomonas* spp. sayısında 12. gün sonunda yaklaşık 1 logaritmik birim azalma sağlanmıştır.

4.7 *Staphylococcus* spp. Sayıları

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen *Staphylococcus* spp. sayıları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

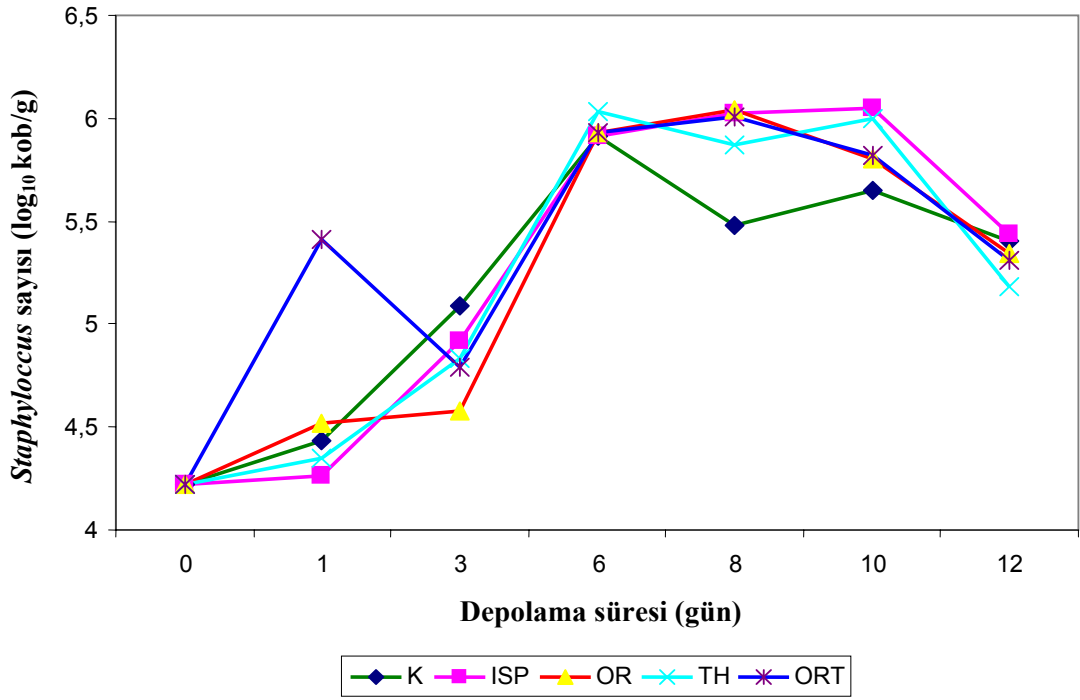
Çizelge 4.12 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince *Staphylococcus* spp. sayıları (log₁₀ kob/g)

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	4,22±0,28 ^B	4,22±0,28 ^B	4,22±0,28 ^B	4,22±0,28	4,22±0,28
1	4,43±0,48 ^B	4,26±0,78 ^B	4,52±0,44 ^{AB}	4,35±0,39	5,41±0,38
3	5,09±0,13 ^{aAB}	4,92±0,21 ^{abAB}	4,58±0,10 ^{bAB}	4,83±0,05 ^{ab}	4,79±0,08 ^{ab}
6	5,91±0,04 ^A	5,91±0,06 ^{AB}	5,93±0,02 ^A	6,03±0,21	5,93±0,10
8	5,48±0,35 ^{AB}	6,02±0,46 ^A	6,04±0,45 ^A	5,87±0,90	6,01±0,96
10	5,65±0,47 ^{AB}	6,05±0,48 ^A	5,80±0,80 ^{AB}	6,00±0,74	5,82±0,67
12	5,40±0,80 ^{AB}	5,44±0,83 ^{AB}	5,34±0,69 ^{AB}	5,18±0,95	5,31±0,83

A,B ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

a,b ⇨ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata



Şekil 4.4 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince *Staphylococcus* spp. sayıları (log₁₀ kob/g)

Antibakteriyel aktivite tayininde kekik uçucu yağı, *S. aureus*'a karşı inhibisyon etki göstermesine karşın yapılan bu çalışmada kıyma materyalinin doğal florası birçok türü birlikte bulundurduğundan, antibakteriyel aktivite çalışmasına benzer bulgular elde edilememiştir. Bunun sebebinin de, kekik yağına karşı *Staphylococcus* cinsi alt türlerinin, kendine özgü farklı direnç mekanizmaları olduğu düşünülmektedir.

Oregano uçucu yağının, Gram negatif bakterilerden *E. coli* ve Gram pozitiflerden de *S. aureus*'a karşı inhibisyon etkisi olduğu birçok araştırmacı tarafından ispatlanmıştır. (Biondi *et al.* 1993, Izzo *et al.* 1995). Ancak standart bir suş ile ulaşılan bu sonuç, *Staphylococcus* cinsi içindeki tüm bakteriler için kekik uçucu yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların soğukta 12 gün depolanması sonucu elde ettiğimiz bulgularla uyum içinde değildir.

4.8 Laktik Asit Bakterileri Sayısı

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen laktik asit bakterilerinin sayısı Çizelge 4.13 ve Şekil 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.13 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince laktik asit bakterileri sayıları (log₁₀ kob/g)

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	4,24±0,49 ^B	4,24±0,49 ^C	4,24±0,49 ^C	4,24±0,49 ^C	4,24±0,49 ^C
1	4,74±0,50 ^{AB}	4,66±0,58 ^C	4,52±0,48 ^{BC}	4,56±0,60 ^C	4,60±0,64 ^C
3	5,16±0,12 ^{AB}	5,26±0,04 ^{BC}	5,06±0,07 ^{ABC}	5,06±0,05 ^{BC}	5,12±0,24 ^{BC}
6	6,11±0,66 ^A	6,35±0,28 ^{AB}	6,35±0,38 ^A	5,79±0,23 ^{AB}	6,38±0,37 ^A
8	5,44±0,40 ^{AB}	5,97±0,18 ^{AB}	5,77±0,30 ^{AB}	5,82±0,26 ^{AB}	5,92±0,32 ^{AB}
10	5,82±0,25 ^{ba}	6,61±0,23 ^{aA}	6,31±0,13 ^{abA}	6,24±0,10 ^{abA}	6,32±0,06 ^{abAB}
12	5,91±0,37 ^A	6,70±0,05 ^A	5,95±0,66 ^A	6,13±0,17 ^{AB}	6,29±0,12 ^{AB}

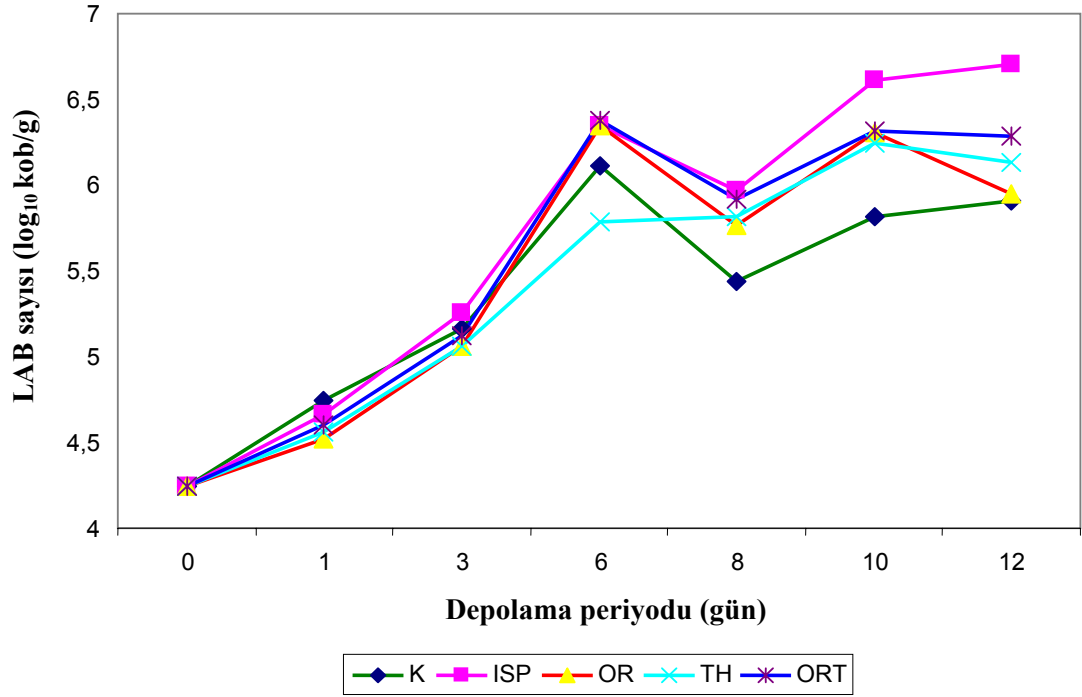
A-C ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

a,b ⇨ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Aynı örnek içindeki periyotlar arasında laktik asit bakterilerinin sayısı değerlendirildiğinde başlangıç değeri ile 12. gün arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Gerek kekik yağı içeren gruplar ve gerekse sadece izole soya proteini içeren grup ile kontrol grubu kıyaslandığında yenilebilir filmin yüksek oksijen bariyerleme özelliğinden dolayı oluşan anaerobik ortamın laktik asit bakterilerinin gelişimini desteklediği görülmüştür. Buradan hareketle, 10. günde ISP, OR, TH ve ORT

gruplarının laktik asit bakterileri sayısı K grubunda daha yüksek ($p>0,05$) olmasına rağmen, sadece ISP grubu ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.5 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince laktik asit bakterileri sayıları ($\log_{10}$ kob/g)

Seydim and Sarıkus (2005), yaptıkları çalışmada peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filme dahil edilen kekik yağı ve sarımsak uçucu yağının 5 önemli gıda patojeni olan, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*'e karşı artan uçucu yağ konsantrasyonu ile beraber oldukça etkin bir inhibisyon zonu oluştururken, *L. plantarum*'a karşı etkinliğinin yaklaşık olarak 3 kat daha az olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızdaki sonuçlarla kıyaslandığında, *Lactobacillus* cinsi bakterilerin genelinde uçucu yağlara karşı etkin bir direncin olduğu görülmektedir.

Padgett *et al.* (1998), soya proteini izolatu filmine katılan gıda kaynaklı olan ve olmayan antimikrobiyal bileşenlerin (lizozim, nisin, EDTA) inhibisyon etkisi üzerinde

çalışmışlardır. Filme katılan lizozim *L. plantarum*'a karşı inhibisyon etki gösterirken, EDTA da *E. coli*'ye karşı filmin inhibisyonunu artırmıştır.

4.9 pH Değeri

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen pH değerleri Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince pH değerleri

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	5,87±0,02 ^{aA}	5,87±0,02 ^{aB}	5,87±0,02 ^{aC}	5,87±0,02 ^{aB}	5,87±0,02 ^{aB}
1	5,83±0,01 ^{bA}	5,99±0,04 ^{aA}	6,09±0,04 ^{aA}	6,03±0,03 ^{aA}	5,99±0,01 ^{aA}
3	5,81±0,01 ^{bA}	5,81±0,03 ^{bB}	5,98±0,01 ^{aB}	5,97±0,01 ^{aA}	5,94±0,02 ^{aAB}
6	5,50±0,03 ^{cB}	5,72±0,02 ^{bC}	5,89±0,01 ^{aC}	5,88±0,02 ^{aB}	5,92±0,02 ^{aB}
8	5,44±0,05 ^{cB}	5,62±0,01 ^{bD}	5,75±0,03 ^{aD}	5,74±0,01 ^{aC}	5,74±0,04 ^{aC}
10	5,43±0,02 ^{bB}	5,53±0,03 ^{aE}	5,56±0,02 ^{aE}	5,62±0,05 ^{aD}	5,61±0,02 ^{aD}
12	5,47±0,01 ^{dB}	5,51±0,02 ^{cdE}	5,56±0,01 ^{bcE}	5,59±0,01 ^{bD}	5,69±0,01 ^{aC}

A-E $\Downarrow$: Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

a-d $\Rightarrow$: Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

* Ortalama $\pm$ standart hata

Sonuçlardan da görüleceği üzere, 0. gün ve 1. gün kıyaslandığında, 1. gün kontrol grubunda pH düşerken yenilebilir film ile ambalajlanan gruplarda pH önce yükselmiş ve daha sonra düzenli olarak düşüş göstermiştir. Yenilebilir film ile ambalajlanan

örneklerde filmin bazik karakterde olmasından dolayı örneklerin pH'sı kontrol grubuna göre yüksek değerlerde kalmıştır. Ancak yine de tüm periyotlar boyunca, pH daki bu düşüş kontrol grubuna kıyasla yenilebilir film ile ambalajlanan gruplarda daha az olmuş ve kontrol grubu ile kekik içeren diğer gruplar arasındaki pH farkı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). ISP grubuna ait kıymaların pH değerleri ile kontrol grubu arasındaki pH değeri farkı istatistiksel açıdan genel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tüm örneklerdeki pH'daki zamana bağlı olarak görülen düşüş, mikrobiyolojik faaliyetlerin bir sonucu olmakla beraber, özellikle laktik asit bakterilerindeki çoğalmanın ortam pH'sı üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Genel olarak ise tüm gruplarda başlangıç değeri ile son periyot arasındaki pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$) ve pH değerinde gözle görülür bir düşüş yaşanmıştır.

4.10 Metmiyoglobin Oranı

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen metmiyoglobin değerleri Çizelge 4.15'de ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

Örnekler arasında 1. günde K grubu ile film içeren diğer gruplar arasında oldukça önemli fark olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Zamanla K grubunda da miyoglobindeki dönüşüm diğer gruplarla aynı düzeyde olmuştur. Ancak yenilebilir filmin direnci ve uçucu yağın etkisiyle diğer gruplardaki metmiyoglobin dönüşüm oranı 12. gün sonunda K grubuna kıyasla daha az olmuştur. Aynı örnek içinde periyotlar arasındaki fark, tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.15 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince metmiyogloblin dönüşüm oranları (%)

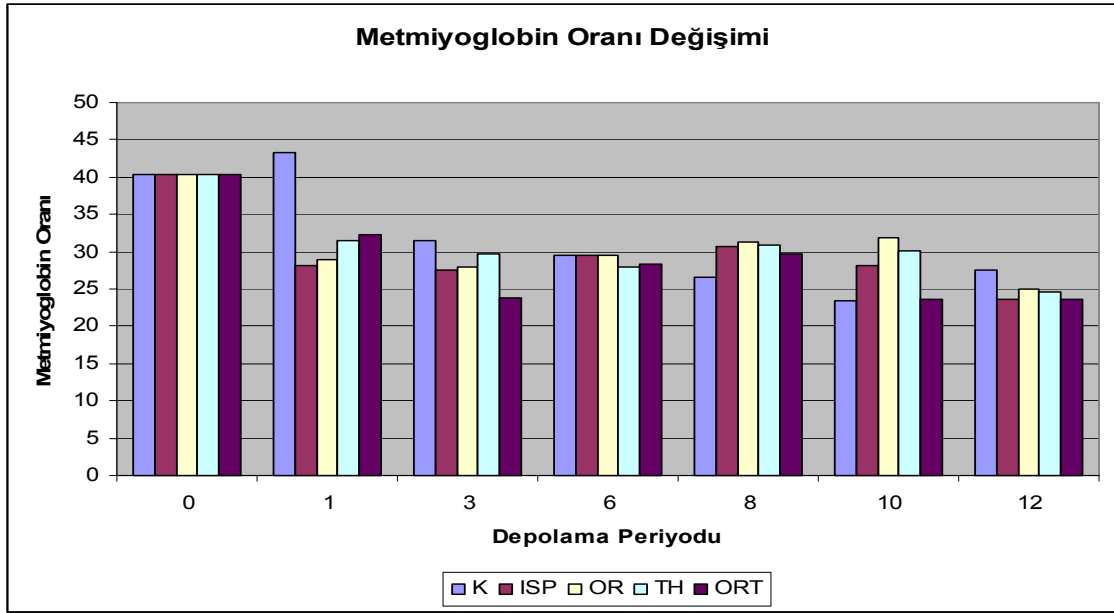
Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	40,36±1,04 ^A	40,36±1,04 ^A	40,36±1,04 ^A	40,36±1,04 ^A	40,36±1,04 ^A
1	43,30±1,58 ^{aA}	28,09±1,58 ^{bB}	29,02±2,83 ^{bBC}	31,53±2,38 ^{bB}	32,27±1,26 ^{bB}
3	31,43±2,48 ^{aB}	27,57±2,26 ^{abCB}	27,93±1,99 ^{abBC}	29,73±1,59 ^{aBC}	23,74±0,59 ^{bD}
6	29,55±1,56 ^B	29,59±1,23 ^B	29,49±1,30 ^{BC}	27,91±1,15 ^{BC}	28,39±2,63 ^C
8	26,51±1,39 ^{BC}	30,80±1,53 ^B	31,29±3,19 ^B	30,95±3,23 ^B	29,75±1,02 ^{BC}
10	23,51±1,04 ^{bC}	28,21±1,07 ^{aB}	31,90±2,19 ^{aB}	30,18±1,69 ^{aB}	23,69±1,11 ^{bD}
12	27,47±3,37 ^{BC}	23,63±0,34 ^C	25,08±1,68 ^C	24,56±1,05 ^C	23,71±0,73 ^D

A-D ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

a,b ⇨ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Cross *et al.* (1986), keçi karkasının 8 gün depolama boyunca metmiyogloblin yüzdesinde önemli artışlar olduğunu onu takip eden günlerde ise metmiyogloblinde meydana gelen değişimlerin dikkate değer olmadığını ve yine TBA reaktif maddelerindeki artışın da metmiyogloblindeki ile benzer olduğunu bulmuşlardır. Etin içeriğindeki farklı yağ asiti kompozisyonlarının oksidasyon düzeyini etkilediği araştırmacılar tarafından ispatlanmıştır (Decker *et al.* 1998). Hutchins *et al.* (1967) ve Faustman *et al.* (1989), tarafından kırmızı et ile yapılan çalışmalarda lipit oksidasyonu ile pigment oksidasyonu arasında yakın bir ilişki olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.6 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince metmiyogloblin dönüşüm oranı

Başlangıç periyodu baz alındığında metmiyogloblin oranında zamanla gözle görülür bir dönüşüm yaşanmıştır. Bu dönüşüm oranı her ne kadar istatistiksel olarak önemli bulunmadıysa da kontrol grubunda diğer gruplara kıyasla daha fazla olmuştur. Yani miyogloblin pigmenti, K grubunda daha fazla oksidasyona uğramıştır. Bu durum yenilebilir filmin sıcaklık, nisbi nem, oksijen, ışık gibi çevresel faktörlere karşı geçirgenlik direnci ve sağlamlığı ile açıklanabilmektedir.

Earle (1968), yenilebilir özellikteki Ca-aljinat jeliyle kaplamanın kanatlı etleri, kırmızı et ve balıklarda soğuk depolama boyunca renk oksidasyonuna ve su kaybına karşı bir koruma sağladığını belirtmiştir.

4.11 Enstrümental Renk Değerleri

Yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların ve kontrol grubunun soğuk depolama (4°C) boyunca 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde belirlenen CIE L*(parlaklık) değerleri ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE L* (parlaklık) değerleri.

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	52,85±0,75	52,85±0,75 ^A	52,85±0,75 ^C	52,85±0,75 ^{AB}	52,85±0,75
1	53,20±0,84	52,07±0,97 ^{AB}	53,78±0,77 ^{BC}	54,00±0,74 ^{AB}	53,26±0,87
3	51,54±0,58	51,27±1,03 ^{AB}	53,16±0,81 ^{BC}	52,52±0,86 ^B	52,04±0,94
6	53,78±0,88 ^b	51,30±0,57 ^{cAB}	56,24±0,49 ^{aA}	54,90±0,55 ^{abA}	53,82±0,76 ^b
8	53,96±0,59 ^a	50,58±0,58 ^{bAB}	55,16±0,80 ^{aAB}	53,80±0,79 ^{aAB}	53,54±0,77 ^a
10	52,40±0,89 ^{bc}	50,20±0,82 ^{cB}	52,46±0,79 ^{bc}	54,96±0,72 ^{aA}	53,38±0,38 ^{ab}
12	54,45±0,56 ^b	50,18±0,97 ^{cB}	56,78±0,74 ^{aA}	53,82±0,99 ^{bB}	53,60±0,68 ^b

A,B ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

a-c → : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Aynı örnek içindeki periyotlar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede, kontrol grubu ile kekik yağı içeren TH ve ORT gruplarında L* (parlaklık) değerinin depolama süresince önemli bir değişim göstermediği gözlenmiştir.(p>0,05). Kekik yağı içermeyen yenilebilir filmle kaplanan ISP grubu ile kekik yağı içeren OR grubunda L* değerinin başlangıç değeri ile son periyot arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). L* değeri, aynı periyot içinde örneklerdeki değişim açısından incelendiğinde, ISP grubu depolama boyunca diğer tüm gruplardan daha düşük L* değeri gösterirken 6. günden sonra istatistiksel olarak farklı L* değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir.

Yapılan renk analizleri sonunda a*(kırmızılık) değerleri ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE a*(kırmızılık) değerleri

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	20,44±0,58 ^{AB}	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A
1	20,44±0,58 ^{AB}	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A	20,44±0,58 ^A
3	19,42±0,59 ^{aABC}	18,13±0,54 ^{abcB}	17,38±0,69 ^{bcB}	16,87±0,32 ^{cB}	18,64±0,63 ^{abB}
6	20,45±0,80 ^{aAB}	17,48±0,4 ^{bBC}	12,87±0,32 ^{dE}	14,31±0,31 ^{dC}	15,81±0,63 ^{cC}
8	18,84±0,51 ^{aBC}	16,32±0,47 ^{bC}	14,19±0,65 ^{cCD}	13,83±0,44 ^{cC}	14,22±0,21 ^{cDE}
10	20,62±0,46 ^{aA}	17,22±0,56 ^{bBC}	14,77±0,73 ^{cC}	14,22±0,35 ^{cC}	15,21±0,80 ^{cCD}
12	17,98±0,41 ^{aC}	17,15±0,87 ^{aBC}	11,31±0,52 ^{cE}	11,91±0,32 ^{bcD}	13,03±0,41 ^{bE}

A-D ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

a-c ⇒ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

* Ortalama ± standart hata

Aynı örnek içindeki periyotlar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede, a*(kırmızılık) değerinin tüm gruplarda depolama süresince önemli ölçüde düşüş gösterdiği saptanmıştır (p<0,05). Fakat K grubu ile kekik yağı içermeyen izole soya proteini bazlı yenilebilir filmle ambalajlanmış kıyma olan ISP grubuna ait a* değerlerindeki azalma yenilebilir film uygulanan diğer örnek gruplarına göre nispeten daha az olmuştur.

Depolama süresi, özellikle et ve et ürünlerinin a* değerini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Cannon *et al.* (1996), perakende halde satılan taze domuz etinde a* değerinin 3 gün sonra düştüğünü rapor ederken, Zhu and Brewer (1998), yine domuz etinin perakende satışı esnasında ilk gün a* değerinin yükseldiğini daha sonra aşamalı olarak düştüğünü ve 4. günde en düşük seviyelerde ölçüldüğünü bildirmişlerdir.

Buradaki a^* değeriindeki azalmanın da sıcaklık, ışık, metal iyonları gibi çevresel faktörlerden dolayı metmiyoglobinin oksidasyonundan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Kannan *et al.* (2001)'in yaptıkları bir diğer çalışmada ise; et rengi ile lipit oksidasyonu arasında yakın bir ilişki olduğunu bulmuşlar ve et renginin lipit oksidasyonundaki artışla beraber kırmızıdan sapma eğiliminde olduğunu belirtmişlerdir. Böylelikle, metmiyoglobin yüzdesi ile hem a^* hem de renk berraklığı değerleri arasında negatif bir korelasyon olduğunu ve metmiyoglobindeki dönüşüm oranı arttıkça a^* değerinin azaldığını bulmuşlardır.

Tüm periyotlar boyunca örnekler arasındaki a^* değeri incelendiğinde yine başlangıca göre, kekik yağı içermeyen kontrol grubu ve ISP grubu ile kekik yağı içeren yenilebilir film uygulanmış OR, TH, ORT grupları arasındaki fark istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun nedeninin, kekik yağı içeren yenilebilir filmin oksijen bariyerleme özelliğinin yüksek olması ve ortamda var olan az miktardaki oksijenin ise aerobik bakterilerce kullanılmasının ardından miyoglobinin parlak kırmızı renginin, oksimiyoglobine dönüşüm oranı azalmakta ve böylece a^* değeri de diğer gruplara göre daha düşük olmaktadır.

Yapılan renk analizleri sonunda bir diğer renk parametresi olan b^* (sarılık) değerleri ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.18'de verilmiştir.

b^* (sarılık) değeri incelendiğinde, 3. güne kadar gerek K grubu ve gerekse ISP grubu ile kekik yağı içeren yenilebilir film uygulanmış örnek gruplarında depolama boyunca b^* değerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ancak aynı örnek içindeki periyotlar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede ise, başlangıca göre depolama süresince tüm gruplarda önemli ölçüde azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). 12. günde aynı periyot içindeki örnekler arasındaki farklar değerlendirildiğinde de K grubu ile yenilebilir film uygulanmış ORT grubu arasındaki fark önemsiz iken, yine K grubu ile ISP, OR ve TH grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.18. Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların soğuk depolama (4°C) süresince CIE b*(sarılık) değerleri

Depolama Periyodu (gün)	Örnek				
	K	ISP	OR	TH	ORT
0	13,97±0,18 ^A	13,97±0,18 ^A	13,97±0,18 ^A	13,97±0,18 ^A	13,97±0,18 ^A
1	10,41±0,21 ^C	10,10±0,35 ^B	10,40±0,50 ^B	10,42±0,40 ^B	10,40±0,25 ^{BC}
3	10,39±0,038 ^C	10,03±0,43 ^B	10,49±0,51 ^B	10,10±0,22 ^{BC}	10,75±0,23 ^B
6	11,53±0,68 ^{aB}	8,97±0,37 ^{bcC}	8,90±0,23 ^{cC}	9,65±0,29 ^{bcBCD}	9,96±0,19 ^{bD}
8	10,55±0,44 ^{aBC}	9,04±0,33 ^{cC}	10,13±0,25 ^{abB}	9,40±0,21 ^{bcCD}	9,54±0,22 ^{bcD}
10	11,03±0,38 ^{aBC}	10,24±0,31 ^{aB}	10,46±0,23 ^{aB}	10,13±0,35 ^{aBC}	10,17±0,38 ^{aBCD}
12	10,11±0,27 ^{aC}	8,79±1,18 ^{cC}	8,96±0,24 ^{bcC}	9,12±0,16 ^{bcD}	9,65±0,19 ^{abD}

A-D ↓ : Aynı örnek içindeki periyotlar arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05)

a-c ⇒ : Aynı periyot içindeki örnekler arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05)

* Ortalama ± standart hata

4.12 Duyusal Değerlendirme

Gıdaların kalite ve besleyiciliğinin yanı sıra, ürünlerin duyusal olarak da tüketiciye hitab etmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmada, kekik yağı içeren yenilebilir film uygulamasının ürün duyusal özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan duyusal değerlendirme sonuçları Çizelge 4.19’da ve Şekil 4.7’de verilmiştir.

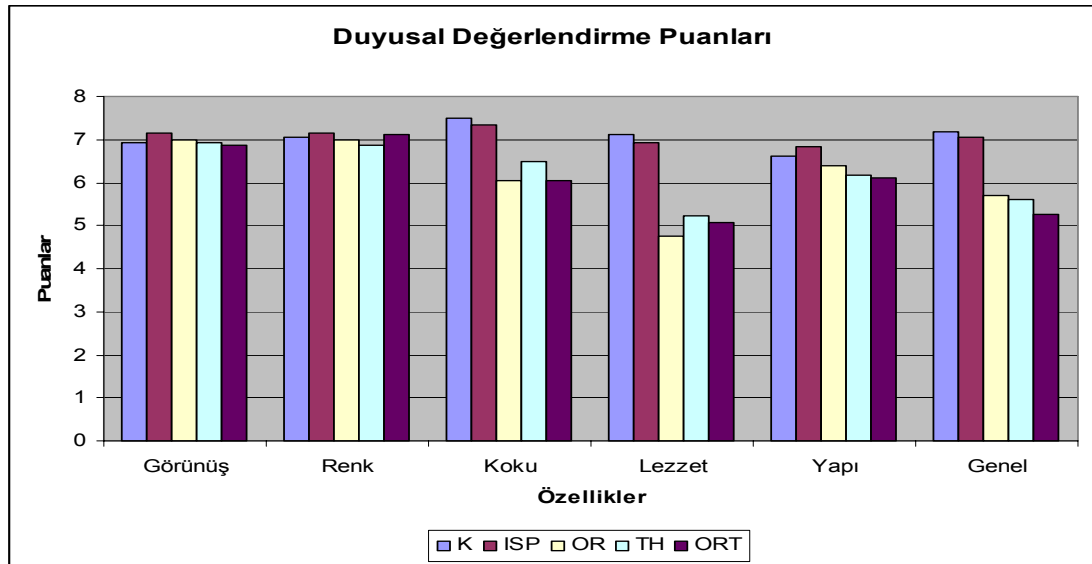
Koku ve lezzet parametreleri değerlendirildiğinde, kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanan OR, TH ve ORT grupları, koku için sırasıyla 6.05, 6.50, 6.05 puan lezzet için ise yine sırasıyla 4.77, 5.23, 5.06 puan alarak K ve ISP gruplarına göre daha az beğenilmiştir.

Çizelge 4.19 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların duysal değerlendirme puanları

	K	ISP	OR	TH	ORT
Görünüş	6,94±0,23 ^a	7,16±0,18 ^a	7,00±0,22 ^a	6,94±0,27 ^a	6,88±0,25 ^a
Renk	7,05±0,20 ^a	7,16±0,20 ^a	7,00±0,19 ^a	6,88±0,25 ^a	7,11±0,21 ^a
Koku	7,50±0,24 ^a	7,33±0,25 ^{ab}	6,05±0,39 ^c	6,50±0,28 ^{bc}	6,05±0,39 ^c
Lezzet	7,11±0,30 ^a	6,94±0,33 ^a	4,77±0,29 ^b	5,23±0,45 ^b	5,06±0,34 ^b
Yapı	6,61±0,28 ^{ab}	6,83±0,21 ^a	6,38±0,20 ^{ab}	6,16±0,28 ^{ab}	6,11±0,26 ^b
Genel	7,19±0,31 ^a	7,05±0,28 ^a	5,69±0,27 ^b	5,61±0,36 ^b	5,27±0,31 ^b

a, b $\Rightarrow$: Farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$)
1: son derece kötü, 9: mükemmel

Kekik yağını içeren ve içermeyen gruplar içinde koku ve lezzet parametreleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Örnekler yapı açısından değerlendirildiğinde, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Renk ve görünüş olarak tüm gruplar arasında önemli bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 4.7 Kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanmış kıymaların duysal değerlendirme puanları

Tüm gruplar için genel değerlendirme puanlarının birbirine yakın olduğu ancak aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). OR, TH ve ORT grupları K ve ISP gruplarına kıyasla daha düşük puanlar almış olmasına rağmen puanlar kabul edilebilir düzeylerde kalmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genel bir değerlendirme yapıldığında, 5 farklı konsantrasyonda bahçe kekiği (thyme) ve mercanköşk (oregano) yağı içeren soya bazlı yenilebilir filmlerin çalışmada denenilen 5 patojen bakteriye karşı Antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ancak, kekik yağı içeren yenilebilir filmlerle ambalajlanan kıymaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için yapılan değerlendirmelerde bahçe kekiği (thyme), mercanköşk (oregano) ve ikisinin karışımını %5 konsantrasyon düzeyinde içeren yenilebilir filmlerin *Pseudomonas* ve Koliform bakterilerinin haricinde, diğer tüm bakteriler üzerinde yeterli düzeyde inhibisyon etkisinin olmadığı görülmüştür.

Yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda elde edilen bulgulara göre doğal antimikrobiyal madde olarak kullanılan kekik uçucu yağının tek başına değil diğer bazı etkili doğal antimikrobiyal ajanlarla kombine halde kullanımının, mikrofloranın çeşitliliği ve suşların gösterdiği direncin farklı oluşu göz önünde bulundurulduğunda daha iyi sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Ayrıca bakterilerin kıyma matriksi içinde yağ globülleri arasında kalarak uçucu yağın antibakteriyel etkisinden korunduğu da varsayılmaktadır.

Kıymada tüm periyotlar boyunca ölçülen renk değerleri dikkate alındığında, yenilebilir filmlerin taze etin L* (parlaklık) değeri üzerine herhangi bir etkiye bulunmazken a* (kırmızılık) değeri film uygulanan örneklerde azalarak kırmızı renk daha açık tonlara doğru değişim göstermiştir. b* (sarılık) değeri de yine film uygulanan örneklerde azalmıştır.

Metmiyogloblin dönüşüm oranları incelendiğinde ise kontrol grubuna kıyasla kekik içeren yenilebilir film ile ambalajlanan kıymaların daha az renk oksidasyonuna uğradığı sonucuna varılmıştır. Örnekler içinde depolama süresi boyunca mikrobiyolojik faaliyetin istenen düzeylere indirelememesi sonucunda pH değerinde önemli oranda düşüş olduğu belirlenmiştir.

Yenilebilir film ile katı bir gıdanın ambalajlanması; aktif ajanın özellikle düşük sıcaklık derecelerinde gıdanın dokularına kadar difüzyonunun güçlüğü ve materyalin yağlı olması sonucu bakterilerle temasın kısmen engellenmesi gibi dezavantajlara sahiptir. Yenilebilir filme bir alternatif olarak, gıda ile temas yüzeyinin daha fazla olması ve gıda ile ambalaj materyali arasındaki hava boşluğunun bertaraf edilmesi gibi avantajları nedeniyle yenilebilir kaplamaların et ve et ürünleri ambalajlamada kullanımı üzerine araştırmaların yapılması önerilebilir.

Genel bir değerlendirme yapıldığında, taze sığır etinin yenilebilir film uygulanarak ambalajlanmasının, teknolojik yeniliklerle kombine edildiğinde gelecek vaad eden bir uygulama olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonymous. 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Chemists, 15th Edi., AOAC Inc., Arlington, VA.
- Anonim. 1995. TS 11566, Kırmızı etler-Hazır kıyma standardı. Türk Standartları Enstitüsü yayınları, 18 s., Ankara.
- Anonim. 2000. Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları 522 s., Ankara.
- Anonim. 2002. TS 10580, Hamburger köfte standardı. Türk Standartları Enstitüsü yayınları, 16 s., Ankara.
- Appendini, P. and Hotckiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologies 3, 113-126.
- Aureli, P., Constantini, A. and Zolea, S. 1992. Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection. 55, 334-348.
- Azzouz, M.A. and Bullerman, L.B. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices plant components and commercial antifungal agents. Journal of Food Protection 45, 1298-301.
- Balasubramaniam, V.M. and Chinnan, M.S. 1997. Role of packaging in quality preservation of frozen foods. In Quality In Frozen Food. pp, 296-309. Erickson M.C. and Hung Y.C. Eds. Chapter 15. Chapman and Hall. New York. N.Y.
- Baldwin, E.A., Nisperos, M.O., Chen, X. and Hagenmaier, R.D. 1996. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. Postharvest Biol. Technol., 9, 151-163.
- Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M. and Ruberto, G. 1998. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. J. Ess. Oil Res., 10(6), 618-27.
- Billing, O. 1989. Flexible Packaging. Akerlung and Rausing, Lund, Sweden.
- Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G. and Piattelli, M. 1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour Fragrance J., 8(6), 331-7.
- Blakeaway, J. 1986. The antimicrobial properties of essential oils. Soap Perfume

- Cosmet., 59, 201-3.
- Brody, A.L. 2005. Active packaging becomes more active. *Food Technol.*, 59(12), 82-84.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223– 253.
- Cagri, A., Ustunol, Z. and Ryser, E.T. 2001. Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey protein based edible films containing p-amino benzoic acid or sorbic acids. *J. Food Sci.* 66(6), 865-870.
- Candogan, K. 2002. The effect of tomato paste on some quality characteristics of beef patties during refrigerated storage. *European Food Research and Tech.*, 215, 305-309.
- Caner, C., Vergano, P.J. and Wiles, J.L. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *J. Food Sci.*, 63(6), 1049-1053.
- Cao, Y.M. and Chang, K.C. 2001. Edible films prepared from water extract of soybeans. *Journal of Food Science*. 67(4), 1449-1454.
- Campbell, MA. 2003. Characterization of chitosan as an antimicrobial solution and packaging film. Msc Thesis. Clemson, SC, Clemson University, U.S.A.
- Cannon, J.E., Morgan, J.B., Schmidt, G.R., Tatum, J.D., Sofos, J.N., Smith, G.C., Delmore, R.J. and Williams, S.N. 1996. Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with Vitamin E. *J. Anim. Sci.* 74, 98-105.
- Chen, M.C., Yeh, G.H.C. and Chiang, B.H. 1996. Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *J. Food Proc. Preserv.* 20, 379-390.
- Chinnan, M.S. and Cha, D.S. 2004. Primary packaging. In: *Food Packaging*. Dr. Dennis Heldmen. Ed. *Encyclopedia of Food and Agricultural Engineering*. Marcel and Dekker. Inc. N.Y. (accepted)
- Choi, S.G., Kim, K.M., Hanna, M.A., Weller, C.L. and Kerr, W.L. 2003. Molecular Dynamics of soy-protein isolate films Plasticized by water and glycerol. *Journal of Food Science*, 68(8), 2516-2522.
- Conner, D.E. and Beuchat, R.L. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Sci.*, 49, 429-34.

- Cooksey, K. 2001. Antimicrobial food packaging materials. Elsevier Science, 6-10.
- CSIRO., 1994. DFST Fact Sheet. Active Packaging. DFST Information Services, Australia.
- Cooksey, K. 2005. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. *Food Add. and Cont.*, 22(10), 980–987.
- Cross, H.R., Durland, P.R. and Seideman, S.C. 1986. Sensory qualities of meat. In: Bechtel, P.J. (Ed.), *Muscle as Food*, Academic Press, New York, USA, pp. 279-320.
- Cutter, N.C. 2002. Incorporation of antimicrobials into packaging materials. *Fresh Meat/Packaging II. Proceedings of the 55th Reciprocal Meat Conference*.
- Dawson, P.L., Acton, J.C., Han, I.Y., Padgett, T., Orr, R. and Larsen, T. 1995. Incorporation of antibacterial compounds into edible and biodegradable packaging films. pp. 203-210. *Activities report of the R&D Associated for Military Food and Packaging Systems, Inc., San Antonio, TX*.
- Deans, G.G. and Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 5, 80-165.
- Debeaufort, F., Gallo, J.A.Q. and Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.
- Decker, E.A., Chan, W.K.M. and Faustman, C. 1998. TBA as an index of oxidative rancidity in muscle foods. In: *Proceedings of the 51st Annual Reciprocal Meat Conference*, Storrs, CT, 66 p.. USA.
- Devlighere, F., Vermeiren, L. and Debevere, J. 2004. New preservation Technologies: possibilities and limitations. *Int. Dairy Journal*, 14, 273-285.
- Earle, R.D. 1968. Meat and fish coatings: Alginat coatings. In: *Edible coatings and soluble packaging* pp. 188-196. Daniels R.Ed.Noyes Data Corp.Park Ridge N.J.
- Elgayyar, M., Draughon, FA., Golden, DA. and Mount, JR. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Prot.*, 64, 1019-24.
- Anonymous 2002. Suppl. 4.1 2002 and 4.3 2003, 4th Ed. Council of Europe, Strasbourg.

- Fang, Y., Tung, M.A., Briu, I.J., Yada, S. and Dalgleish, D.G. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *J. Food Sci.* 67(1), 188-193.
- Farag, R.S., Salem, H., Badei, A.Z.M.A. and Hassanein, D.E. 1986. Biochemical studies on the essential oils of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichu.* 88, 69-72.
- Farag, R.S., Daw, Z.Y. and Abo-Raya, S.H. 1989. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a sythetic medium. *J. Food Prot.*, 54, 74-6.
- Farbood, M.I., Macneil, J.H. and Ostovar, K. 1976. Effect of rosemary spice extractive on growth of microorganisms in milk. *Journal of Milk and Food Technology*, 39, 675-679.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Schaefer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N. and Scheller, K.K. 1989. Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer by dietary supplementation with Vitamin E. *J. Food Sci.* 54, 858-862.
- Garcia, M.A., Martino M.O. and Zaritzky, N.E. 1998. Plasticised starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria-Ananassa*) quality and stability. *J. Agric. Food Chem.*, 46(9), 3758-3767.
- Gennadios, A. and Weller, C.L. 1991. Edible films and coatings from soymilk and soyprotein. *Cereal Foods World*, 36(12), 1004.
- Gennadios, A., Weller, C.L. and Testin, R.F. 1993. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein based films. *J. Food Sci.* 58, 112.
- Gennadios, A., Hanna, M.A. and Kurth, L.B. 1997. Application edible coatings on meats, poultry and seafoods:a review. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 30, 337-350.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films. In food packaging and preservation-theory and practise. pp. 371-394. Mathlouthi, M., Ed.Elsevier Applied Science Publishers co. London, England.
- Guillard, V., Broyart, B., Bonazzi, C., Guilbert, S. and Gontard, N. 2003. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: Experimental and mathematical study. *Journal of Food Science*, 68(7).

- Ha, J.U., Kim, Y.M. and Lee, D.S. 2001. Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. *Packag. Technol. Sci.*, 15, 55-62.
- Halkman, A.K. 2005. Merck gıda mikrobiyolojisi. 450 s., Ankara.
- Han, J. 2000. Antimicrobial food packaging. *Food Technol.* 54, 56-65.
- Haworth, J.E. 2003. Natural antioxidants. Proceedings of the 56th American Meat Science Association Reciprocal Meat Conference, pp. 95-98, June 15-18, Columbia, USA.
- Hoffman, K.L., Han I.Y. and Dawson, P.L. 2001. Antimicrobial effect of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid and EDTA. *J. Food Prot.*, 64, 885-889.
- Hutchins, B.K., Liu, T.H.P. and Watts, B.M., 1967. Effect of additives and refrigeration on reducing activity, metmyoglobin, and melonaldehyde of raw ground beef. *J. Food Sci.* 32, 214-217.
- Izzo, A.A., Carlo, G., Biscardi, D., Fusco, R., Mascolo, N., Borrelli, F., Capasso, F., Fasulo, M.P. and Autore, G. 1995. Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytotherapy Res.*, 9(4), 281-6.
- Jane, J. and Wang, S. 1996. Soy protein based thermoplastic composition for preparing molded articles. US Patent Number, 5, 523, 293.
- Jaynes, H.O. and Chou, W.N. 1975. New method to produce soy protein-lipid films. *Food Prod. Dev.* 9(4), 86.
- Juven, B.J., Kanner, J., Schued, F. and Weisslowicz, H. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.*, 76, 626-31.
- Kannan, G., Kouakou, B. and Gelaye, S. 2001. Color changes reflecting myoglobin and lipid oxidation in chevon cuts during refrigerates display. *Small Ruminant Research*, 42, 67-75.
- Karagöz, Z. ve Candoğan, K. 2007. Et teknolojisinde antimikrobiyal ambalajlama. *Gıda, (baskıda)*, Ankara.
- Kaya, S. and Kaya, A. 2000. Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *Journal of Food Engineering*, 43, 91-96.
- Kerry, J.P., O'Grady, M.N and Hogan, S.A. 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science.*, 74, 113-130.

- Kim, Y.M., An, D.S., Park, H.J., Park, J.M. and Lee, D.S. 2002. Properties of nisin incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging materials. *Packag. Technol. Sci.*, 15, 27-254.
- Kintzios, K.E. 2004. Handbook of herbs and spices. Vol. 2. Agricultural University of Athens, Greece.
- Kolsarıcı, N. and Candogan, K. 1995. Effects of potassium sorbate and lactic acid on the shelf life of vacuum-packed chicken meats. *Poultry Science*, 74(11), 1884-1894.
- Krzywicki, K. 1982. The determination of heme pigments in meat. *Meat Sci.* 7, 29-36.
- Labuza, T.P. and Breene, W.M. 1989. Application of “active packaging” for improvement of shelf life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. *J. Food. Proc. Preserv.*, 13, 1-69.
- Lambert, RJW., Skandamis. PN., Coote PJ. and Nychas, J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 453–62.
- Lawrence, B.M. 2003. Progress in essential oils-Thyme oil. *Flav. Fragr.*, 28(2), 52-7.
- Lazarus, C.R., West, R.L., Oblinger, J.L. and Palmer, A.Z. 1976. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. *J. Food Sci.* 41, 639-641.
- Lis-Balchin, M., Deans, S.G. and Eaglesham, E. 1997. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour Fragr. J.*, 13(2), 98-104.
- Menghini, A., Savino, A., Lollini, M.N. and Caprio, A. 1987. Activité antimicrobienne en contact direct et en microatmosphère de certaines huiles essentielles. *Plant Méd. Phytothèr*, 42, 21-36.
- Miura, K., Nagaki, T. and Nakatani, N. 1989. Structure and activity of new deodorant biphenyl compounds from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 1816-9.
- Nadarajah, D., Han, J.H. and Holley, R.A. 2005. Use of mustard flour to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef under nitrogen flushed packaging. *International Journal of Food Microbiology*. 99, 257-267.

- Nelson, R.R. 1997. In vitro activities of five plants essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. J. Antimicrob. Chemother., 40, 305-6.
- Nikaido, H. and Vaara, M. 1985. Molecular basis of bacterial on membrane permeability. Microbiology Reviews, 49, 1-32.
- Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C. and Jackson, M.G. 2005. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. Journal of Food Engineering, 70, 205-210.
- Ouattara, B., Simard, E.R., Piette, G., Begin, A. and Holley, A.R. 2000a. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. Int. J. Food Micro., 62, 139-148.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Begin, A. and Holley, A.R. 2000b. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. J. Food Sci., 65(5), 768-786.
- Ousallah, M., Caillet, S. Salmieri, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. J. Agric. Food Chem., 52, 5598-5605.
- Padgett, T., Han, I.Y. and Dawson, P.L. 1998. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. Journal of Food Protection, 61, 1330-1335.
- Padgett, T., Han I.Y. and Dawson, P.L. 2000. Effect of lauric acid in addition on the antimicrobial efficacy and water permeability of corn zein films containing nisin. Journal of Food Processing and Preservation, 24, 423-432.
- Pai, S.T and Platt, M.W. 1995. Antifungal effects of *Allium sativa* (garlic) extract against the *Aspergillus* species involved in mycosis. Letters in Applied Microbiology, 20, 14-18.
- Park, H.J. and Chinnan, M.S. 1990. Properties of edible coatings for fruits and vegetables. Paper No. 90-6510, presented at the 1990. International winter meeting of American Society of Agricultural Engineers, Chicago, pp. 18-21.
- Park, H.J. and Chinnan, M.S. 1995. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. J. Food Eng., 25, 497-507.

- Park, H.J. 1996. Gas and mechanical barrier properties of carrageenan-based biopolymer films. *Food Science and Industry*, 23, 47-53.
- Paster, N., Juven, B.J. and Shaaya, E. 1990. Inhibitory effects oregano and thyme essential oils on moulds and food born bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 11, 33-37.
- Pol, H., Dawson, P., Action, J. and Ogaic, A. 2002. Soy protein isolate/corn zein laminated films. Transport and mechanical properties. *J. Food Sci.* 67(1), 212-217.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K. and Salokhe, V.M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT* 38, 859-865.
- Quintavalla, S and Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Sci.*, 62, 373-380.
- Rooney, M.L. 1995. In: Rooney, M.L., Ed. *Active food packaging*. Blackie Academic and Professional, New York, pp. 74-110.
- Russo, M., Galletti, G.C., Bocchini, P. and Carnacini, A. 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis: 1. Inflorescences. *J. Agr. Food Chem.*, 46, 3741-3746.
- Schmitz, S., Weidenborner, M. and Kunz, B. 1993. Herbs and spices as selective inhibitors of mould growth. *Chem. Microbiol. Technol. Lebensm.*, 15(6):175-7.
- Sallam, K.I., Ishioroshi, M. and Samejima, K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausages. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37(8), 849-855.
- SAS 1996. *SAS/STAT User's Guide*. Release 6.12. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute, Inc.
- Seydim, A.C. and Sarikus G. 2005. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International* (2006), 39, 639-644.
- Shelef, L.A. 1983. Antimicrobial effects of spices. *J. Food Sci.*, 6, 29-44.

- Shen, J.L. 1976. Solubility profile, intrinsic viscosity and optical rotation studies of acid precipitated soy protein and of commercial soy isolate. *J. Agric. Food Chem.*, 24, 784.
- Shih, F.F. 1994. Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. *JAOCS*. 71(11), 1281-1285.
- Shuang, C. 2004. Development and characterization of antimicrobial food coatings based on chitosan and essential oils. Msc. Thesis, The University of Tennessee, Knoxville, USA.
- Smith-Palmer, A., Steward, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 118-22.
- Stahl-Biskupe, E. 2002. Essential oil chemistry of the genus. *Thymus a global view*, in Stahl-Biskupe, E. and Saez, F., *Thyme-The Genus Thymus*, Taylor and Francis, London, pp. 75-124.
- Swain, S.N., Biswal, S.M., Nanda, P.K. and Nayak, P.L. 2004. Biodegradable soy-based plastics: Opportunities and challenges. *Journal of Polymers and the Environment*, 12(1), 35-42.
- Temiz, H. ve Yeşilsu, A.F. 2006. Bitkisel protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar. *Teknolojik Araştırmalar, GTED*, 49(2), 41-50.
- Thakur, B.R. and Singh, R.K. 1994. Food irradiation, chemistry and application. *Food Research Int.*, 10, 437-473.
- Tharanathan, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science Technology*, 14, 71-78.
- Tsigarida, E., Skandamis, P. and Nychas, GJE. 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5°C. *J Appl Microbiol.*, 89, 901-909.
- Vartiainen, J., Motion, R., Kulonen, H., Rättö, M., Skyttä, E. and Ahvenainen, R. 2004. Chitosan-coated paper: effects of nisin and different acids on the antimicrobial activity. *Journal of Applied Polymer Sci.*, 94, 986-993.
- Vekiari, S.A., Oreopoulou, V., Tsia, C. and Thomopoulos, C.D. 1993. Oregano flavonoids as lipid oxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70(5), 483-7.

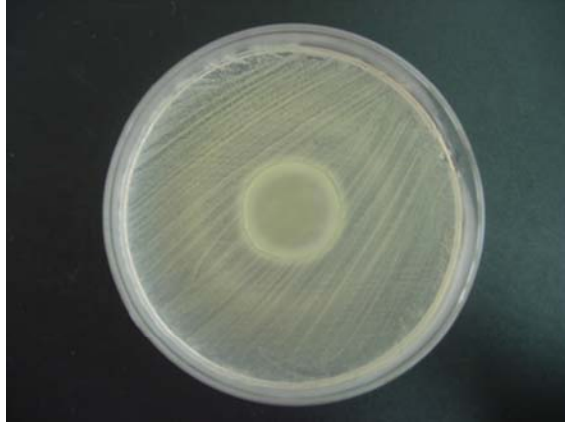
- Vermeiren, L., Devlignere, F., Van Beest, M., de Kruijf, N. and Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Sci. and Techn.*, 10, 77-86.
- Vermeiren, L., Devlignere, F. and Debevere, J. 2002. Effectiveness of some antimicrobial packaging concepts. *Food Addit. Contam.*, 19 Suppl., pp. 163-171.
- Vilar, H. 2002. Flavonoids and further polyphenols in the genus *Thymus* in Stahl-Biskupe E. and Saez F., *Thyme-The Genus Thymus*, Taylor and Francis, London, pp. 144-76.
- Wang, M., Li, J., Ho, G.S., Peng, X. and Ho, C-T. 1998. Isolation and identification of antioxidative flavonoid glycosides from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *J. Food Lipids*, 5, 313-21.
- Wang, G.H. 1992. Research Note: Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Prot.*, 55, 916-919.
- Wanstedt, KG, Seideman, SC, Donnelly, L.S and Quenzer, N.M. 1981. Sensory attributes of precooked, calcium alginate-coated pork patties. *J. Food Prot.*, 44, 732-735.
- Wendakoon, C.N. and Sakaguchi, M. 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active component in spices. *J. Food Prot.*, 58, 280-3.
- Weng, Y.M. and Hotchkiss, J.H. 1992. Inhibition of surface molds on cheese by polyethylene containing the antimycotic imazalil. *Journal of Food Protection*, 55, 367-369.
- Wu, L.C. and Bates, R.P. 1972a. Soy protein-lipid films. 1. Studies on the film formation phenomenon. *J. Food Sci.*, pp. 36-37.
- Wu, L.C. and Bates, R.P. 1972b. Soy protein-lipid films. 1. Optimization of the film formation. *J. Food Sci.*, pp. 37-40.
- Xu, S., Chen, X. and Sun, D.W. 2001. Preservation of kiwi fruit coated with an edible film at ambient temperature. *Journal of Food Engineering*, 50, 211-216.
- Young, L.L., Reveire, R.D. and Cole, A.B. 1988. Fresh red meats: A place to apply modified atmospheres. *Food Technology*, 42(9), 64-66, 68-69.
- Zambonelli, A., Daulerio, A.Z., Bianchi, A. and Albasini, A. 1996. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *J. Phytopathol.*, 144, 491-4.

- Zhu, L.G. and Brewer, M.S. 1998. Discoloration of fresh pork as related to muscle and display conditions. *J. Food Sci.* 63, 763-767
- Zivanovic, S., Chi, S. and Draughon, A.F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, 70 (1), 45-5.

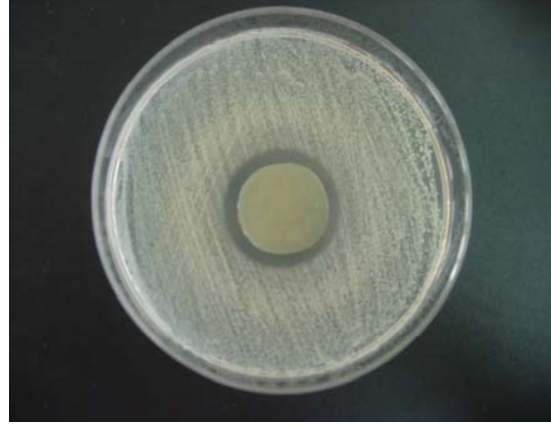
EKLER

- EK 1 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *S. aureus* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 2 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *S. aureus* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 3 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E. coli* Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 4 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E. coli* Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 5 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E. coli* O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 6 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E. coli* O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 7 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *L. plantarum* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 8 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *L. plantarum* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 9 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *P. aeruginosa* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 10 %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *P. aeruginosa* için inhibisyon zonu görüntüleri
- EK 11 Hamburger Köftesi Duyusal Değerlendirme Formu

EK 1. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *S. aureus* için inhibisyon zonu görüntüleri



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

EK 2. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *S. aureus* için inhibisyon zonu görüntüleri



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

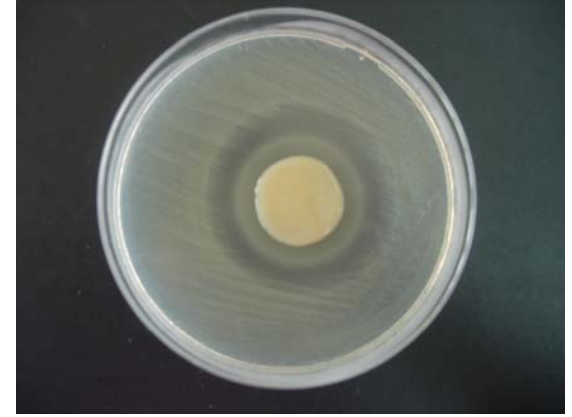
EK 3. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E.coli* Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri



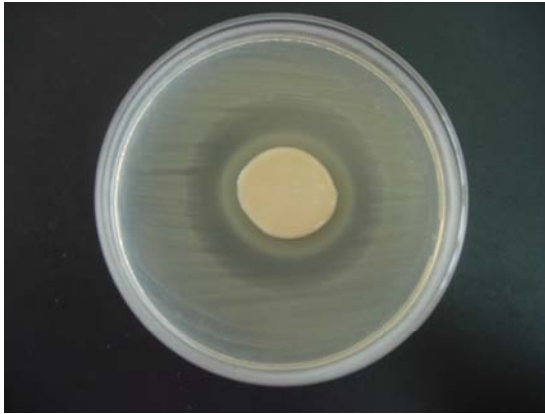
(A)



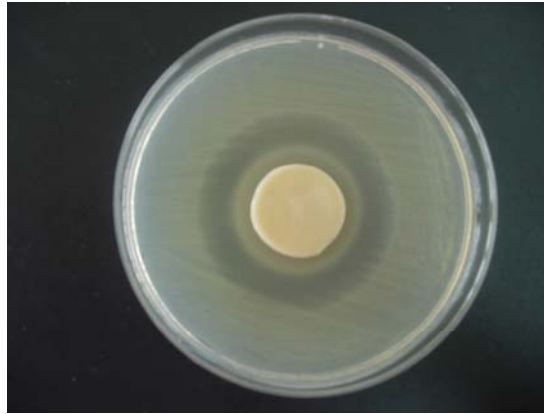
(B)



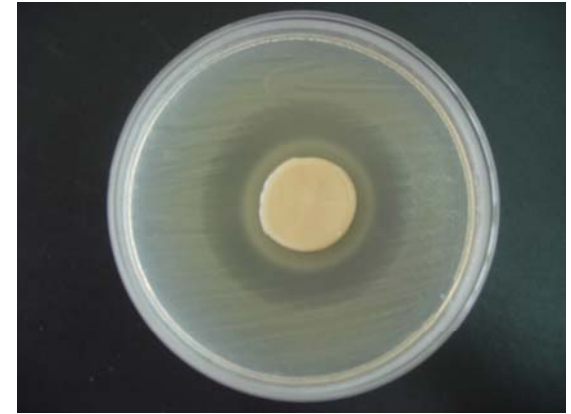
(C)



(D)



(E)



(F)

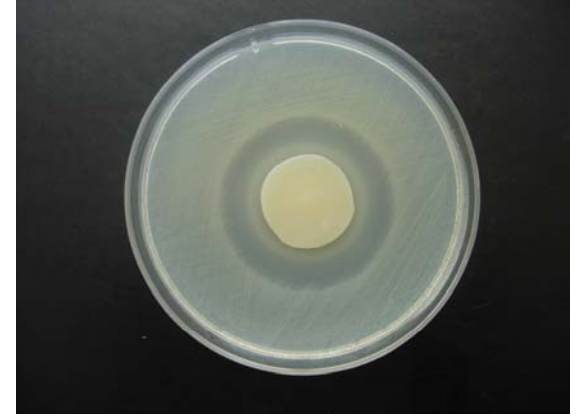
EK 4. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E.coli* Tip 1 için inhibisyon zonu görüntüleri



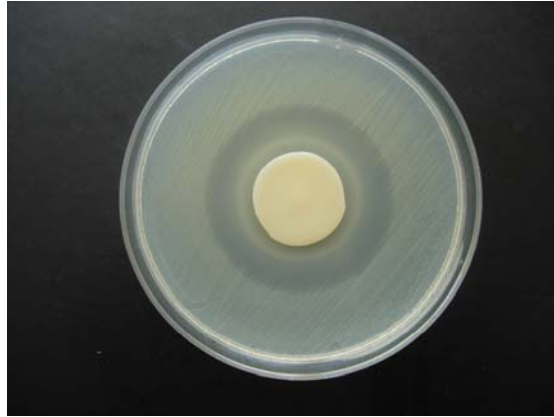
(A)



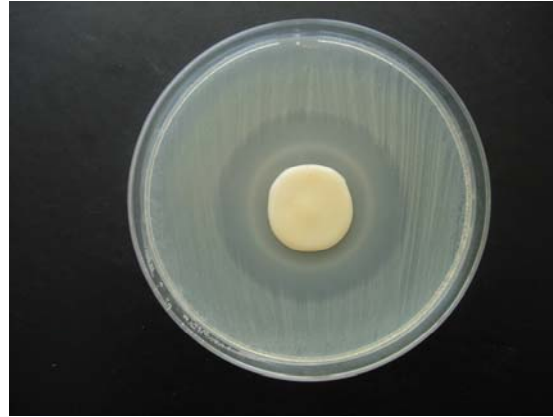
(B)



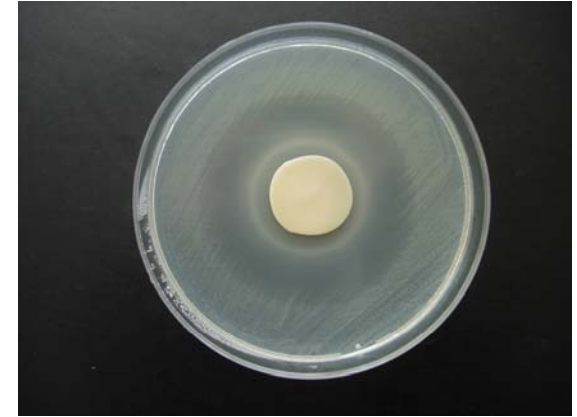
(C)



(D)

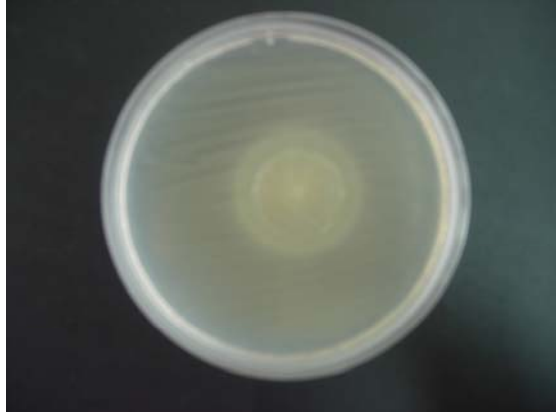


(E)

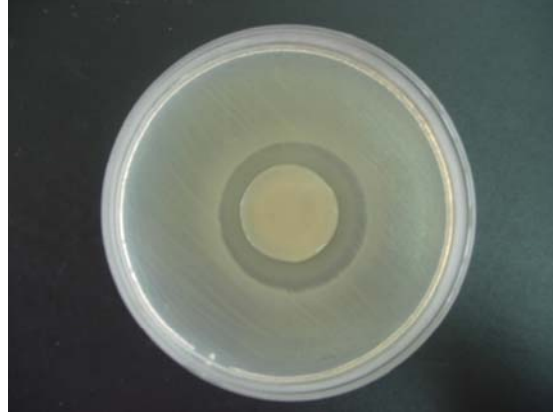


(F)

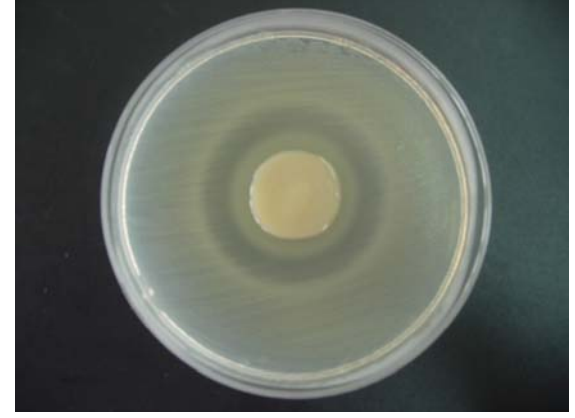
EK 5. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E.coli* O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri



(A)



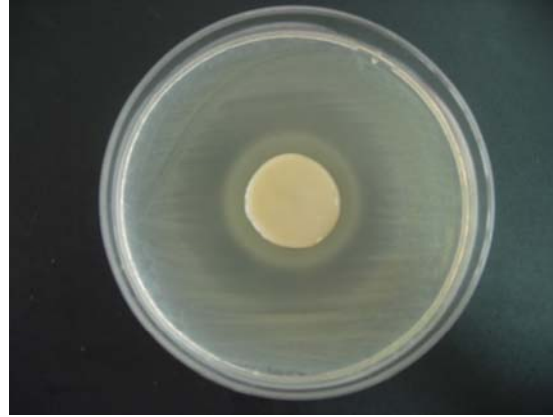
(B)



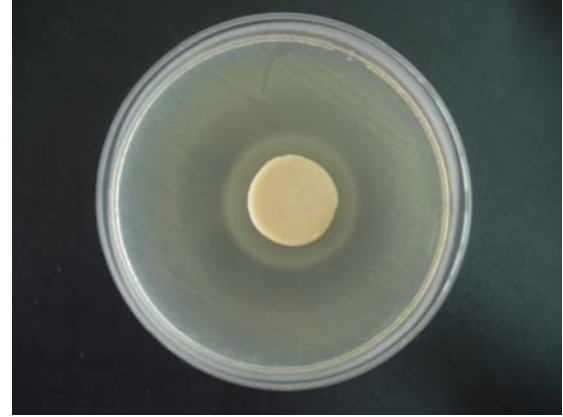
(C)



(D)

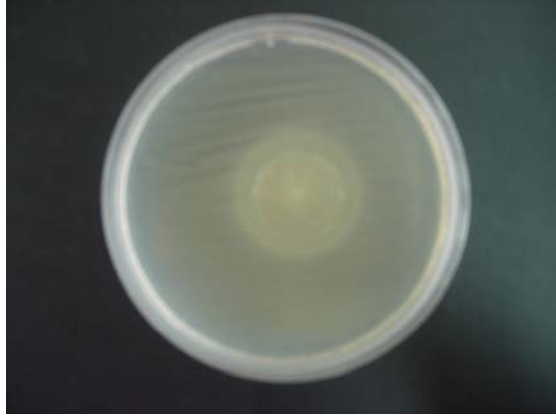


(E)

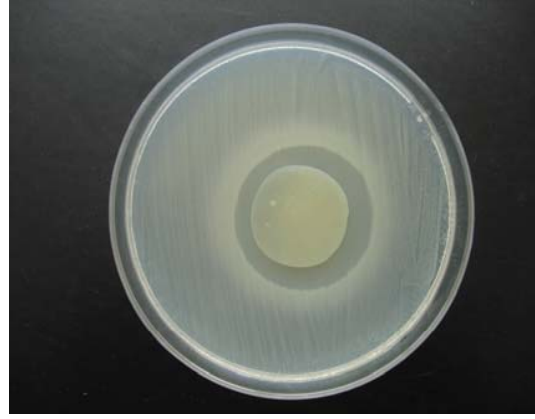


(F)

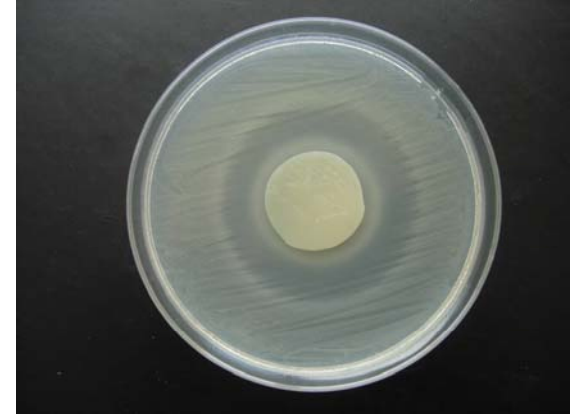
EK 6. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *E.coli* O157:H7 için inhibisyon zonu görüntüleri



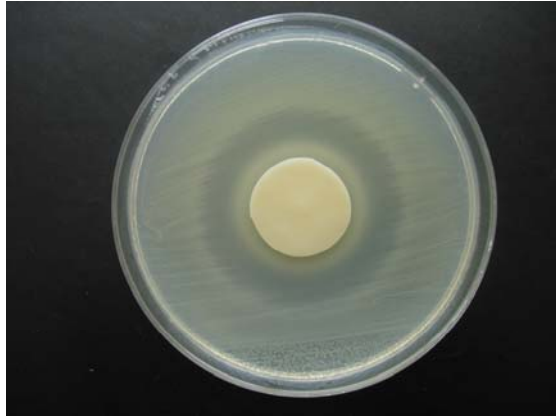
(A)



(B)



(C)



(D)

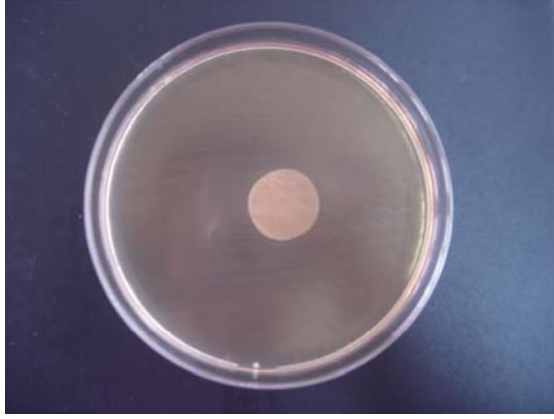


(E)

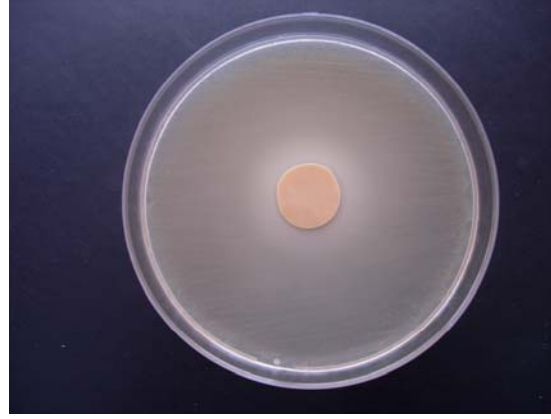


(F)

EK 7. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *L.plantarum* için inhibisyon zonu görüntüleri



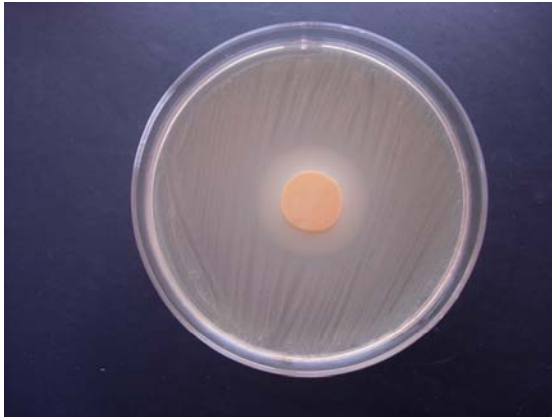
(A)



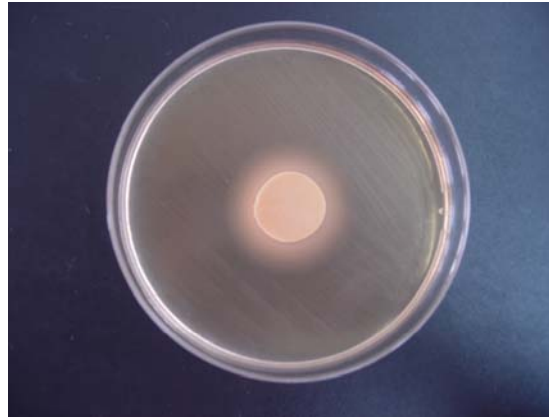
(B)



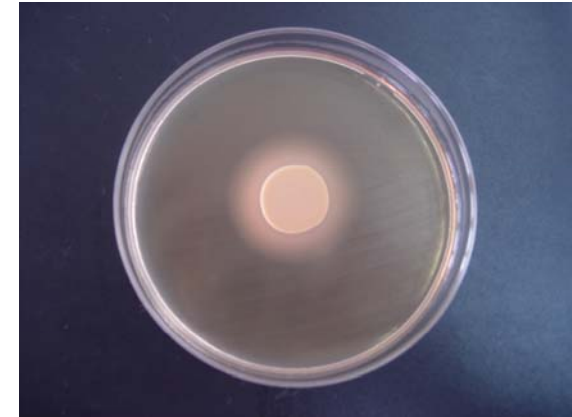
(C)



(D)

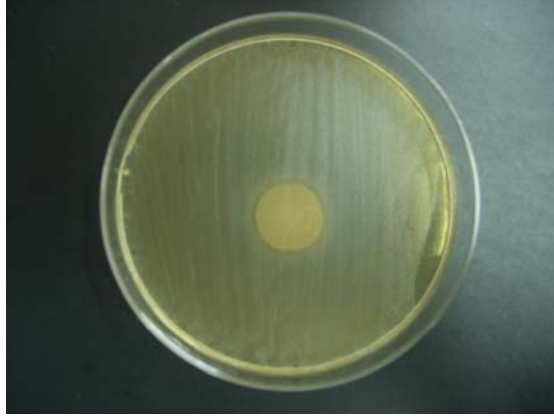


(E)

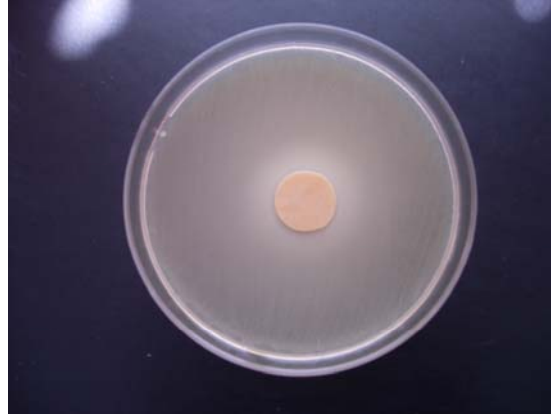


(F)

EK 8. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *L.plantarum* için inhibisyon zonu görüntüleri



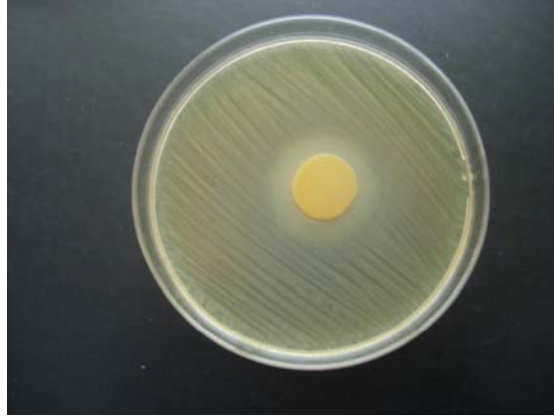
(A)



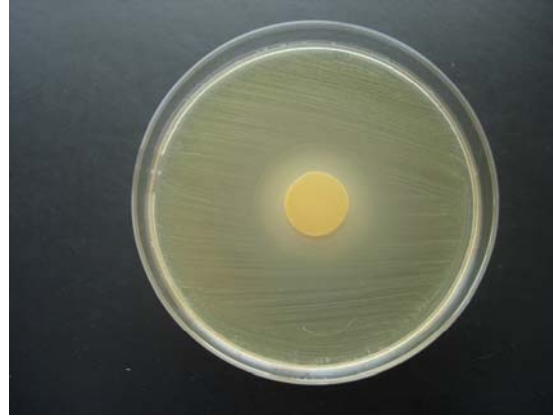
(B)



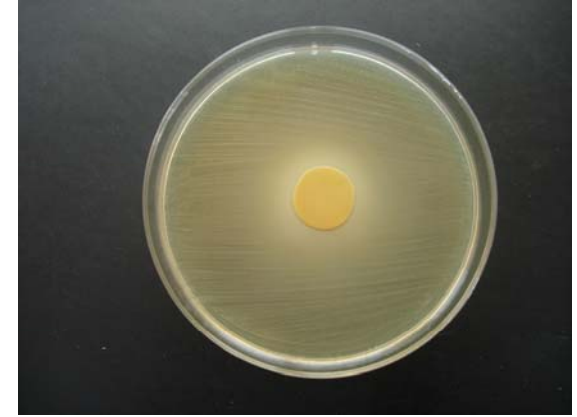
(C)



(D)



(E)



(F)

EK 9. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) OR içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *P.aeruginosa* için inhibisyon zonu görüntüleri



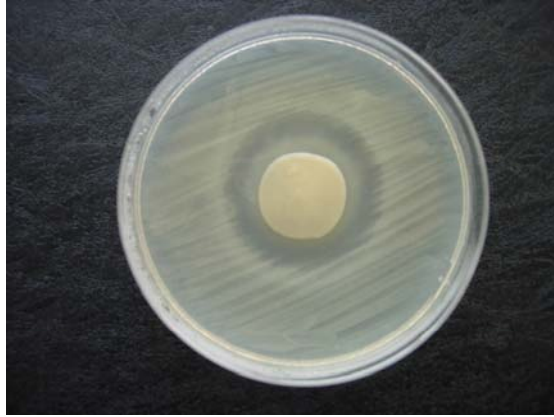
(A)



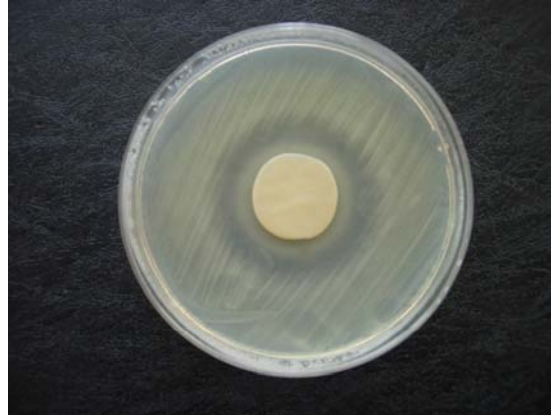
(B)



(C)



(D)

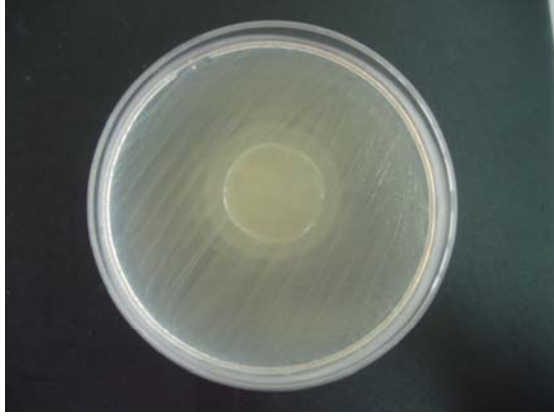


(E)



(F)

EK 10. %0 (A), %1 (B), %2 (C), %3 (D), %4 (E) ve %5 (F) TH içeren soya bazlı yenilebilir film disklerinin *P.aeruginosa* için inhibisyon zonu görüntüleri



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)