

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DEFNE (*Laurus nobilis*) VE FESLEĞEN (*Ocimum  
basilicum*) EKSTRAKTARI KULLANILARAK  
ÜRETİLEN YENİLEBİLİR FİMLERİN ALABALIK  
(*Oncorhynchus mykiss*) FİLETOLARINA  
ETKİLERİNİN TESPİTİ**

**Göknur SÜRENGİL**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Berna KILINÇ**

**Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu : 504.07.01**

**Sunuş Tarihi : 26.06.2014**

**Bornova-İZMİR**

**2014**



Göknur SÜRENGİL tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “DEFNE (*Laurus nobilis*) VE FESLEĞEN (*Ocimum basilicum*) EKSTRAKTLARI KULLANILARAK ÜRETİLEN YENİLEBİLİR FİLMLEİN ALABALIK (*Oncorhynchus mykiss*) FİLETOLARINA ETKİLERİNİN TESPİTİ” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 26.06.2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Doç. Dr. Berna KILINÇ**

.....

**Raportör Üye : Prof. Dr. Şükran ÇAKLI**

.....

**Üye : Prof. Dr. Aynur LÖK**

.....



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “DEFNE (*Laurus nobilis*) VE FESLEĞEN (*Ocimum basilicum*) EKSTRAKTLARI KULLANILARAK ÜRETİLEN YENİLEBİLİR FİLMLEİN ALABALIK (*Oncorhynchus mykiss*) FİLETOLARINA ETKİLERİNİN TESPİTİ” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

21 / 07 / 2014

İmzası

Adı-Soyadı



**ÖZET****DEFNE (*Laurus nobilis*) VE FESLEĞEN (*Ocimum basilicum*)  
EKSTRAKTLARI KULLANILARAK ÜRETİLEN  
YENİLEBİLİR FİLMLEİN ALABALIK (*Oncorhynchus mykiss*)  
FİLETOLARINA ETKİLERİNİN TESPİTİ**

SÜRENGİL, Göknur

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Berna KILINÇ

Haziran 2014, 103 sayfa

Çalışma doğal antimikrobiyal içerikli ksantan gam yenilebilir film üretimi ve alabalık filetolarının taze olarak muhafaza süresi üzerine etkileri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde defne ve fesleğen ekstraktlı filmlerin antimikrobiyal aktivitelerin birbirine yakın olduğu, kaplama yapılmayan gruba göre daha iyi sonuç verdiği görülmüştür.

Bu çalışmada defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktlarının maya ve bakteriler üzerine minimum inhibasyon konsantrasyonu belirlenerek ksantan yenilebilir filmde uygulanmıştır. Elde edilen defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktlı yenilebilir filmlerin disk difüzyon yönetimiyle antimikrobiyal etkinlik değerleri belirlenerek alabalıkta kaplanacak uygun yenilebilir filmler üretilmiştir. Limon yaprağı ekstraktının antimikrobiyal etkinliğinin düşük olduğundan dolayı alabalık filetoların kaplamasında kullanılmamıştır. Defne ve fesleğen ekstraktlı ksantan yenilebilir filmlerle kaplanan alabalık filetolarının +4°C'de 10 günlük depolama boyunca mikrobiyolojik (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, toplam *Enterobacteriaceae* sayısı, *Staphylococcus* spp. sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı), duyusal (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabuledilebilirlik testleri), pH analizleri yapılmıştır. Ayrıca depolama boyunca alabalık filetolarında bakteri ve maya tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.

Duyusal analizleri doğrultusunda ilk reddedilen grup olan kontrol grubu 4°C'de 7 gün raf ömrü olduğu ve toplam canlı sayısı 7,75 log CFU/g tespit edilmiştir. Defne ve fesleğen film kaplı grupların ise 10. günde sırayla 6,2 log CFU/g ve 6,8 log CFU/g olduğu belirlenmiş olup duyusal anlamda reddedildiğinden depolaması 10. gününde sonlandırılmıştır. Antimikrobiyal yenilebilir film kaplı gruplarda depolama boyunca *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp. bakterileri ve maya-küf gelişimini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Fesleğen ve defne ekstraktlı yenilebilir film kaplama kontrol grubuna kıyasla alabalık filetoların 3 gün raf ömrünü arttırmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstrakt, yenilebilir film, antimikrobiyal aktivite, raf ömrü, alabalık fileto





**ABSTRACT****EVALUATION OF EFFECTS OF EDIBLE FILMS PRODUCED  
USING DAPHNE (*Laurus nobilis*) AND BASIL (*Ocimum basilicum*)  
EXTRACTS TO TROUT FILLETS (*Oncorhynchus mykiss*)**

SÜRENGİL, Göknur

MSc in Fishing and Processing Technology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Berna KILINÇ

June 2014, 103 pages

This study was conducted for producing edible xanthan gum films containing natural antimicrobials and evaluating their effects on storage time of fresh trout fillets. Microbiological evaluation of this study showed that films with daphne and basil extracts had similarly better results compared to control group which was not coated with edible film.

In this study lemon, daphne and basil extracts' minimum inhibition concentrations against bacteria and yeast are determined and extracts were used in xanthan edible films. Antimicrobial effectivity values of acquired edible films with lemon, daphne and basil leaf extracts were determined by using disc diffusion method and edible films suitable for coating trouts were produced. Because of lemon leaf extract's low antimicrobial effectivity, it was not used for coating trout fillets. At +4°C and for 10 days period microbiological counts (mesophilic aerobic bacteria count, psychrotroph bacteria count, total *Enterobacteriaceae* count, *Staphylococcus* spp. count, fungus count, lactic acid bacteria count), pH analysis and sensory tests (acceptability tests for raw and cooked trout fillets) were done for trout fillets coated with edible films containing daphne and basil extracts. Additionally during the storage time bacterial and fungus identifications were done in trout fillets.

First group to get rejected was control group according to sensory analysis which had total viable count of 7,75 log CFU/gr and 7 days of shelf life at +4°C. Groups with daphne and basil coatings had total viable counts of 6,2 log CFU/gr and 6,8 log CFU/gr respectively at 10<sup>th</sup> day of storage, thus they got rejected due to sensory analysis and discarded at 10<sup>th</sup> day. Groups with antimicrobial edible film coatings were observed to have inhibited growth rates for *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp. and fungus. Edible film coatings with daphne and basil extracts were found to be prolonging shelf life of trout fillets by 3 days.

**Key Words:** Extract, edible film, antimicrobial activity, shelf life, trout fillet



## TEŞEKKÜR

Lisans eğitimime başladığım günden itibaren gıda mikrobiyolojisi konusunda eğitimimde ve yaptığımız çalışmalarda her zaman desteğini gördüğüm danışman hocam Sayın Doç. Dr. Berna KILINÇ'a, yüksek lisansım boyunca yanımda olduğu ve desteklediği için kendisine teşekkürü borç bilirim.

Her zaman yanımda olan, çalışmalarım için maddi manevi her zaman arkamda destek ve en büyük yardımcım canım annem Nursel Sürengil'e, çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olup, gösterdikleri anlayış, destek ve yardımlarından ötürü hayatımın güzel renkleri olan canım ablam Meltem Görgün ve eşi, canım abim Nihat Can Görgün'e, maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili babam Gökay Sürengil'e ve yine her adımda yanımda destekçilerim teyze ve dayıma çok teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xvii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. İşlenmiş Tüketime Hazır Gıdalar .....	3
1.2. Akıllı ve Aktif Ambalajlama Teknolojisi .....	5
1.2.1. Aktif ve antimikrobiyal ambalajlama teknolojisi .....	6
1.3. Doğal Antimikrobiyal Ekstraktlar ve Gıdalarda Kullanımı .....	15
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	17
2.1. Bitki Antimikrobiyal Etkinliği Üzerine Yapılmış Çalışmalar .....	17
2.2. Bitki Ekstraktlarının Gıdaların Raf Ömrü Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	18
2.3. Antimikrobiyal Yenilebilir Film Uygulamaları Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	21
3. MATERYAL VE METOT .....	30
3.1. Materyal .....	30

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.2. Metot .....	31
3.2.1. Alabalıkların yenilebilir film kaplanması .....	32
3.2.2. Ekstrakt ve yenilebilir film antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi....	35
3.2.3. Yenilebilir film kaplı alabalık fileto ların mikrobiyolojik analizleri .....	40
3.2.4. Bakteri İzolasyonu ve Bakteri Tanımlaması .....	43
3.2.5. Duyusal analizler.....	45
3.2.6. pH analizleri .....	48
3.2.7. İstatistik analizleri .....	48
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	48
4.1. Ekstraksiyon Verimi .....	49
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri .....	50
4.2.1. Minimum inhibisyon konsantrasyonu testi (MİK).....	50
4.2.2. Disk difüzyon testi .....	53
4.2.3. Antimikrobiyal yenilebilir film kaplı alabalık fileto ların analizleri.....	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	83
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	86
ÖZGEÇMİŞ .....	102

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 2002-2010 yıllarında gıdalarda tayin edilen patojenler ve toksinler .....	5
3.1 Ekstraktların elde edilmesi .....	33
3.2 Yenilebilir film optimizasyonu.....	34
3.3 Alabalık filetolarında ksantan gam yenilebilir film kaplama .....	35
3.4 Çalışmada aralarında karşılaştırma yapılan alabalık filetoları .....	36
3.5 Ekstrakt, yenilebilir film ve alabalıkta yapılan analizler.....	37
3.6 Antimikrobiyal analizler.....	37
3.7 Disk Difüzyon zon çapı .....	39
4.1 Test mikroorganizmalarına karşı farklı bitki ekstrakt ilaveli yenilebilir filmlerin inhibisyon zonları .....	56
4.2 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları değişimi (log CFU/g).....	60
4.3 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin psikrotrof bakteri sayıları değişimi (log CFU/g) .....	62
4.4 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları değişimi (log CFU/g).....	64

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.5 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin <i>Staphylococcus spp.</i> sayıları değişimi (log CFU/g) .....	66
4.6 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin küf-maya sayıları değişimi (log CFU/g).....	68
4.7 Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin laktik asit bakteri sayıları değişimi (log CFU/g).....	70
4.8 Laktik asit bakterileri familyaları ve belli başlı türleri .....	72
4.9 Depolama boyunca çiğ alabalık filetoları duyusal değişimi .....	74
4.10 Depolama boyunca pişmiş alabalık filetoları duyusal değişimi .....	76
4.11 Pişmiş alabalık filetoların duyusal beğenisi.....	77
4.12 Alabalık filetoların pH değişimleri .....	79



**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Sırasıyla en fazla gıda kaynaklı hastalık ve salgınlara sebep olan gıdalar .....	4
1.2 Akıllı ambalajlama örnekleri .....	6
1.3 Gıdalarda kullanılan doğal polimer malzemeler ve çeşitleri .....	12
1.4 Hidrokolloid gam çeşitleri ve üretildikleri kaynakları.....	14
3.1 Ksantan gam yenilebilir film formülasyonları.....	33
3.2 Denemelerde kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri .....	39
3.3 Disk Difüzyon Testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	40
3.4 Pişmiş alabalık filetoların duyuusal analiz formu .....	46
3.5 Çiğ alabalık filetoların duyuusal analiz formu .....	47
4.1 Bitki ekstraksiyon verimleri .....	49
4.2 Defne ve fesleğen ekstraktların aktimikrobiyal aktiviteleri.....	51
4.3 Defne ve fesleğen ekstraktlı ksantan gam film çözeltilisinin mikroorganizmalar üzerine oluşturduğu zon çapları (mm) .....	54
4.4 Bitki ekstraktların antimikrobiyal etki şiddetleri .....	57
4.5 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları değişimi (log CFU/g).....	59

**ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.6 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında psikrotrof bakteri sayıları değişimi (log CFU/g) .....	62
4.7 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında <i>Enterobacteriaceae</i> bakteri sayıları değişimi (log CFU/g) .....	64
4.8 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında <i>Staphylococcus spp.</i> sayıları değişimi (log CFU/g) .....	66
4.9 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında maya-küf sayıları değişimi (log CFU/g) .....	67
4.10 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında laktik asit bakteri sayıları değişimi (log CFU/g) .....	70
4.11 Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında pH değişimi .....	78
4.12 Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak bakteriyel florası..	81

## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı artışı, insanların hayat standartlarını yükseltme eğilimleri ve hızlı sanayileşme, hazır gıda maddelerine olan talebi artırmış ve bunun sonucunda gıda maddelerinin üretimi bir sanayi kolu haline gelmiştir. Böylece, işlenmiş gıdalar son derece çeşitlenmiş ve üretimde kullanılan gıda katkı maddeleri ve koruma yöntemleri sayıları da büyük bir hızla artmıştır (İlhan, 2010).

90'lı yıllarda meydana gelen lezzet çılgınlığı ve hazır gıda tüketimi, artan obezite ve kalp-damar hastalıkları nedeniyle tahtını, sağlığa ve bilinçli tüketim fikrine bırakmıştır. Şimdilerde ise dünya çapında doğal antimikrobiyallerin kullanımı ve fonksiyonel gıda pazarları hızlı bir şekilde büyümektedir (Meral ve Doğan, 2009). Gelişimle birlikte hızlı bir ilerleme kaydeden gıda sektöründe gıda katkısı olarak kullanılan bazı kimyasalların insan sağlığı üzerine çeşitli zararlarının ortaya çıkması, gıdalarda baharat ve bitkilerin kullanımına yönlendirmiştir. Gıdalarda aroma verici olarak kullanılan baharatlar ve özütleri son yıllarda antimikrobiyal özellikleri açısından daha fazla inceleme konusu olmuştur (Coşkun, 2010). Tüketiciler için büyük bir sorun olan gıda zehirlenmeleri, koruyucu yöntemler kullanılmasına rağmen halen hem tüketicileri ve hem de gıda endüstrisini tehdit etmektedir. Bununla birlikte tüketicilerin, koruyucu içeren gıdaların güvenliği konusunda endişeleri vardır. Bu nedenle, gıda kaynaklı hastalık olaylarının azaltılması için daha yeni ve daha etkili tekniklere artan bir şekilde ilgi vardır. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı araştırılarak bulunmuştur (Alzokery ve Nakahara, 2003).

Deniz ürünleri bazı ülkelerde insanların hayatta kalmasını sağlayan ana besin kaynaklarıdır. Fakat ülkemiz ve diğer birçok ülkelerde deniz ürünlerinin mevcudiyetine göre çok daha az tüketimi olmaktadır. Bu şekilde gerekli olan besinsel ihtiyaç yeterince karşılanmamaktadır. Bu yüzden su ürünlerinin tüketicilere en sağlıklı, hijyenik, en iyi kalitede ve en ekonomik şekilde ulaştırmak açısından fonksiyonel gıda özelliklerini tüketicilere tanıtmak çok önemlidir (Ekşi, 2005). Bir gıdanın fonksiyonel olarak tanımlanması için 'besleyici etkisinin yanı sıra bir veya daha fazla bileşene bağlı sağlığı koruyucu, düzeltici ve/veya hastalık riskini azaltıcı etki gösterebilmesi ve bu etkinin bilimsel olarak kanıtlanması' gereklidir. Normal insan beslenme fizyolojisinde deniz ürünleri, yüksek kalitede protein sağlama, doyurma ve tok tutma, esansiyel yağ asitlerinin temel kaynağı olma ve farklı tat ve lezzet ihtiyaçlarını tatmin etme gibi görevler yaparlar. Aslında deniz ürünleri bu temel işlevlerine ilaveten, son yıllarda çok önem

kazanan ve yeni bir sektör olarak ortaya çıkan ‘fonksiyonel gıda’ kavramında da ana bir grubu oluşturmaktadır (Yılmaz vd., 2006). Bununla birlikte tüketilen ve tedavi amaçlı olarak kullanılan doğal bileşenlerin gıda bileşimine girmesiyle gıdanın fonksiyonel özelliğini artırmaktadır. Bu bileşenlerin temininin kolay ve fiyatının ucuz olması, vitamin ve mineral yönünden zengin olması, antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip olmaları ayrıca besinsel lif içerikleri bu doğal bileşenlere olan ilgiyi günden güne arttırmakta, bu bileşenlerin sağlık ve gıda kalitesi üzerine etkileri gözlenmektedir (Meral ve Doğan, 2009).

Tüketilen işlenmiş veya taze gıdaların endüstride kullanılan ambalaj materyalleri, petrol türevi ve pratikte sindirilemeyen, sağlık açısından yan etkileri olabilen materyallerdir. Bunlar yüksek atık oranları ile ekolojik dengeye zarar vermekte ve işletmeler için de yüksek maliyet unsurları yaratmaktadır. Çevresel sorunlar ve teknolojik problemler nedeniyle ambalajlamalarda plastik filmler kullanılarak değil, ambalaj malzemelerin olumsuzluklarını giderecek ve biyolojik olarak parçalanabilir filmler ile aynı zamanda gıda kalitesinden ödün vermeden, raf ömrünü iyileştirebilecek, düşük maliyetli ve çevreci materyal kullanılarak geliştirilmesi yönünde bir eğilim vardır. Biyolojik olarak sindirilebilir ve yenilebilir filmler gibi biyolojik bazlı materyaller bu arayışların sonucu olarak nanoteknoloji sayesinde geliştirilen bir teknolojidir (Appendini ve Hotchkiss, 2002, Şahin ve Bayizit, 2008). Nanoteknolojinin birçok uygulaması nanoboyutlarda maddenin farklı davranmasına dayanır. Günümüzde gıdanın raf ömrünü artırabilmek için yapılan çalışmalarda ancak nanoteknoloji ile somut sonuçlara ulaşabilmektedir. Bu yönde geliştirilen nanoboyutlu malzemelerle üretilmiş ambalajlar çeşitlerine göre “akıllı veya aktif ambalajlar”dır. Bu teknolojiler ile plastik veya film içinde disperse edilen nanoparçacıklar ile gıdaya oksijen, karbondioksit, nemin geçmesini ve gıda da mikrobiyal gelişmeyi önleyecek özelliklerde bariyer oluşturabilirler (Çeliker, 2006).

Son yıllarda gerek atık maddelerin gerek doğada çözünmeyen maddelerin doğada yarattıkları tahribattan dolayı; çevre dostu, geri dönüşümlü ve atıkların değerlendirildiği malzemelerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu amaç doğrultusunda yapılan bu çalışmada doğal antimikrobiyal malzemeler ile antimikrobiyal özelliğe sahip biyoçözünür/yenilebilir bir ambalaj film geliştirilmesi ve bu ambalajların alabalık filetolarına uygulanarak raf ömrü boyunca kalite değerleri ve oluşan bakteri florası tespit edilmesi amaçlanmıştır. Antimikrobiyal özelliği olduğu bilinen defne (*Laurus nobilis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkilerinin ve limon (*Citrus limon*) yaprağı ekstrakte ederek yenilebilir filmlerde kullanımı ile alabalık filetolarındaki ekonomik kayıpların önlenmesi, raf ömrünün arttırılması ve yeni bir aktif ambalajlama teknolojisi ile çevreye verilen zararın azaltılması hedeflenmiştir. Ayrıca bitki ekstrakt ilaveli ksantan yenilebilir

film solüsyonunun antimikrobiyal aktiviteleri gram pozitif, gram negatif bakterilere ve mayaya karşı disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemleriyle in vitro olarak da gözlemlenmiştir.

### **1.1. İşlenmiş Tüketime Hazır Gıdalar**

Günümüzde gelişen teknolojiyle birlikte artan hazır gıda tüketimine olan talebe paralel olarak, gıda işleme teknolojisi besin değeri yüksek, güvenli ve raf ömrü uzun ürün üretimine yönelmiştir. Böylece değişik çeşni, lezzet ve görünüşte birçok et ürünü üretilmeye başlanmıştır (İlhan, 2010).

Günümüz şartlarında insanların minimal işlem görmüş ve kimyasal katkı kullanılmamış hazır gıdalara yönelmesinden dolayı, gıda kalitesini ve sağlıklı beslenmeyi sağlayabilmek amacıyla baharat ve özütlerinin kullanılmasına yönelinmiş ve bu kullanımların önemi artmıştır. Fakat bazı baharat ve özütlerinin gıdanın duyuşal özelliklerini etkilemeyecek derecede gıdaya ilave edilmeleri durumunda bazı mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösterebilmekte bazılarına ise göstermediğı birçok çalışmalarda görülmüştür. Bu nedenden dolayı baharatlar asıl koruyucu olarak kullanılmamalı, yardımcı koruyucular olarak gıda üretim ve muhafazasında değerlendirilmelidir (Coşkun, 2010). Uzun yıllardır gıdaların korunmasında ısıtma veya soğutma gibi sıcaklık uygulamaları, su aktivitesinin düşürülmesi, pH kontrolü, kürlenme, tuzlama gibi işleme yöntemleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte raf ömrünü uzatmak ve daha kaliteli ürün elde etmek için ambalajlama, kontrollü atmosferde depolama ve antimikrobiyal madde ilavesi gibi çeşitli metotları kullanılmaktadır (Gennadios et al., 1994). İşlenmiş deniz ürünlerini ve yan ürünleri fonksiyonel gıda maddelerinin veya hammaddelerinin en kıymetli kaynaklarıdır. Bu açıdan değerlendirildiğinde su ürünleri işleme yöntemleri ile uygulanarak; güvenlik, biyo-yeterlilik ve kaynakların korunması ile kalite kriterleri sağlandığında, bu kaynaklardan yeni ve çok ilginç özelliklerde fonksiyonel ürünler hazırlanabilecektir (Yılmaz vd., 2006).

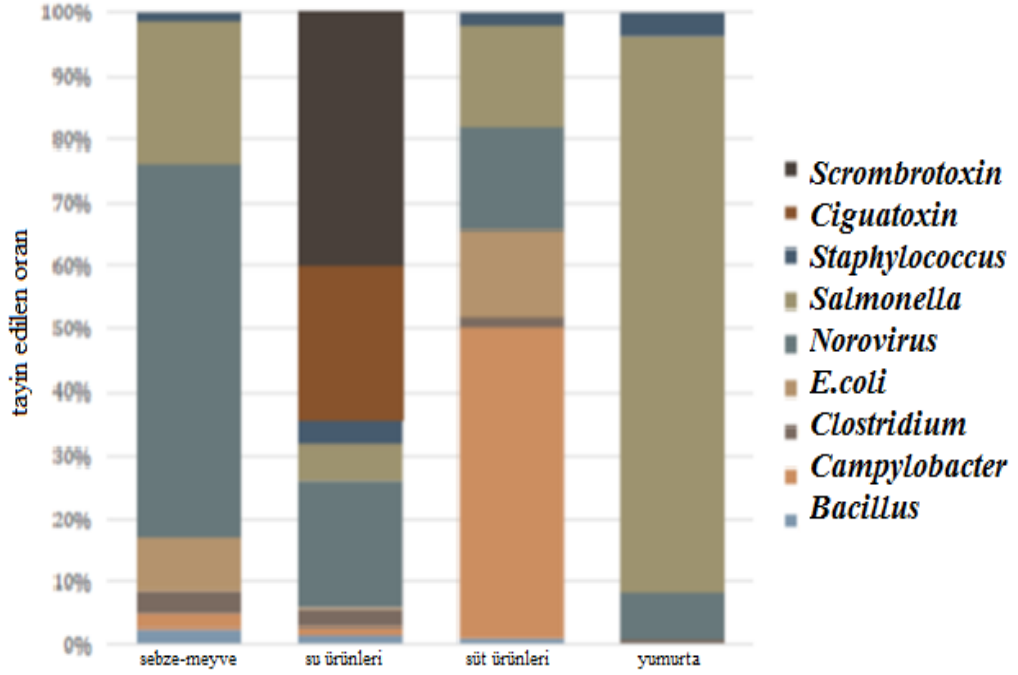
Gıda endüstrisinde tüm işleme yöntemleri belli bir ambalajlama tekniğı ile bütünleşmiş olup, gıda maddeleri taşıdıkları özelliklere uygun ambalajlarda tüketime sunulmaktadır. Tüketici kitlelerinin bilinçlendiğı toplumlarda, ambalaj üzerinde son tüketim tarihinin belirtilmesi de büyük bir önem kazanmış ve yasal zorunluluk halini almıştır (Gökmen ve Öztan, 1995). Bununla beraber tüketicilerde her zaman doğal muhafaza edilen, kaliteli ve taze gıdaları tercih etmektedirler. Bu amaç doğrultusunda nanoteknoloji günümüzde; daha başarılı, daha ucuz, daha besleyici gıda dizayn etmek için gıdaların atomlarının ve

moleküllerinin düzenlenmesinde veya gıda paketlenme ve film uygulamalarında kullanılmaktadır. Böylece gıdaların dayanıklılıklarının artırılması ve raf ömürlerinin uzatılması sağlanmaktadır (Gogotsi et al., 2001).

Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu'nun (FDA) 2002-2011 yılları arasında kaydettiği gıda kaynaklı hastalık salgınları arasında, hastalanan kişi sayısına göre, meyve ve sebzeler ilk sırada yer alırken hemen ardından su ürünleri gelmektedir. Gıda kaynaklı hastalığa yol açan bu su ürünleri gruplarından balıklar en yüksek orana sahip grubu temsil etmektedir (Çizelge 1.1). Ayrıca 2.616 salgın vakasından tespit edilen gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojenler ile toksik maddelerin, buldukları gıda gruplarına dağılımları (Şekil 1.1) incelendiğinde ise su ürünlerinde ilk sırada Scombrotoksin, ardından sırayla *Ciguatoxin* ve *Bacillus* takip ettiği gözlemlenmektedir (CSPI, 2014).

Çizelge 1.1. Sırasıyla en fazla gıda kaynaklı hastalık ve salgınlara sebep olan gıdalar (CSPI, 2014)

Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu- Gıda düzenlemesi		
Gıda türleri	Salgınlar	Hastalıklar
Sebze-meyve	667	23,748
Meyveler	98	3,608
Sebzeler	230	10,806
Sebze yemekleri	339	9,333
<b>Su ürünleri</b>	<b>602</b>	<b>5,317</b>
Balık	335	2,183
Kabuklu deniz ürünleri	108	1,541
Deniz ürünleri yemekleri	98	1,083
Diğer su ürünleri	41	510
<b>Tüm gıda türleri için toplam</b>	<b>2,616</b>	<b>63,463</b>



Şekil 1.1. 2002-2010 yıllarında gıdalarda tayin edilen patojenler ve toksinler (CSPI, 2014)

## 1.2. Akıllı ve Aktif Ambalajlama Teknolojisi

Ambalaj üreticileri gıdayı daha uzun süre taze tutmak üzerinde çalışırken, tüketiciler ise gıdanın tazeliğini paketi açmadan görmek ve taze görünümüne sahip gıdaları tüketmek istemektedir. Günümüzde yapılan çalışmalar her ikisinin de nanoteknoloji kullanılarak yapılan yeni ambalajlama teknolojileriyle mümkün olabilmektedir (Şahin ve Bayizit, 2008).

Günümüzde yaygın olarak kullanımda olan geleneksel ambalajlar, paketlenildiği ürünü, istenmeyen oksidasyon reaksiyonlarından, dışarıdan nem alma ya da kaybından, fiziksel hasar ve biyolojik bozulma gibi zararlı etkilerine karşı koruyabilir. Ancak, günümüzde bu fonksiyonlar artık bazı talepleri karşılamakta yetersiz kalmaktadır. Bilinçlenen toplum, değişen yaşam şartları ve bulaşıcı hastalıklar ile gıda biyoterörizmi, tüketicilerin daha uzun ömürlü ve daha güvenilir gıda tüketimi taleplerine yol açmıştır. Bu durum, gıda zincirinde güvenilir, sağlıklı, biyoyararlı ve izlenebilir bir sistem kurmayı zorunlu kılmış ve sonuçta ortaya çıkan teknolojik gelişmeler de buna 'Akıllı Paketleme Teknolojisi' ile cevap vermiştir (Özçandır ve Yetim, 2010).

Literatürde aktif ve akıllı ambalajlama sistemleri için farklı tanımlamalar yapılmakla birlikte, genel bir tanım olarak aktif ambalajlama; gıdayı dış etkilerden

koruyan bariyer olmanın yanı sıra ambalaj içindeki ortamı kontrol edebilen ve tepki veren ambalaj sistemidir. Akıllı ambalajlama tekniğinde ise, ambalaj içindeki gıdanın kalitesi hakkında bilgi verme özelliğindedir. Akıllı ambalajlama sistemleri gıdanın yaşam döngüsü boyunca iç ve dış durumunu gösterebilen, diğer bir deyişle ürün kalitesi ile iletişim kurabilen ambalajlama sistemleridir (Purma ve Serdaroğlu, 2006). Akıllı paketleme su ürünlerinde gıda güvenliğini, kaliteyi ve kolaylılığı geliştirmek için heyecan verici fırsatlar sunan, ambalajlama bilimi ve teknolojisinin yeni bir branşıdır. Akıllı paketleme karar vermeyi kolaylaştırmak için ambalajın iletişim fonksiyonunu kullanmaktadır (Dursun vd., 2010). Akıllı paketleme tekniklerinin birçoğunda sensörler ve indikatörler kullanılmaktadır. Çizelge 1.2. 'de akıllı ambalajlama türleri, metotları, kullanım alanları ve amaçları gösterilmiştir (Gök, 2007).

Çizelge 1.2. Akıllı Ambalajlama Örnekleri (Gök, 2007)

İndikatör	Metot	Kullanım amacı	Uygulama alanı
<b>Zaman-sıcaklık indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mekaniksel,</li> <li>Kimyasal,</li> <li>Enzimatik</li> </ul>	Depolama koşullarını saptamak	Soğuk ve dondurulmuş koşullarda saklanan gıdalar
<b>O<sub>2</sub> indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Redoks boyaları,</li> <li>pH boyaları.</li> </ul>	Depolama koşullarını saptamak	Vakumlu paketleme yapılan gıdalar
<b>CO<sub>2</sub> indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kimyasal</li> </ul>	Paket sızıntısı olup olmadığı	Modifiye veya kontrollü atmosferde paketlenen gıdalar
<b>Mikrobiyal üreme indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>pH boyaları,</li> <li>Mikrobiyal metabolit boyaları</li> </ul>	Gıdaların mikrobiyal kaliteleri	Et, balık ve tabuk gibi çabuk bozulan gıdalar
<b>Patojen indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Çeşitli kimyasal ve immünokimyasal metotlar</li> </ul>	E. coli O157:H7 gibi spesifik patojenler	Et, balık ve tavuk gibi çabuk bozulan gıdalar
<b>Renk indikatörü</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mekaniksel,</li> <li>Kimyasal,</li> <li>Enzimatik.</li> </ul>	Ambalaj içindeki gıdanın sıcaklığı hakkında bilgi vermek	Mikrodalga fırında hazırlanan gıdalar

### 1.2.1. Aktif ve Antimikrobiyal Ambalajlama Teknolojisi

Alternatif paketleme sistemleri içerisinde yer alan aktif paketleme teknolojisinin bir şekli olarak tanımlanan antimikrobiyal paketleme kimyasal madde kullanımını sınırlandırabilecek tekniklerden biri olarak görülmektedir. Bu sistemlerde, antimikrobiyal madde kaplama yapılan filmin yardımıyla gıdaya taşınmaktadır. Antimikrobiyal madde içeren ambalajların gıda yüzeyine teması,



bozulmanın başladığı nokta olan yüzeyde mikroorganizma gelişimini önlemektedir. Yapılan çalışmalarda gıda yüzeyine kaplanan filme antimikrobiyal madde eklenmesinin alternatif ve ekonomik bir muhafaza yöntemi olduğu belirtilmektedir. Filmde kullanılan antimikrobiyal, filmin geçirgenlik özelliği ile gıda yüzeyine daha yavaş şekilde difüze olmakta böylece yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal kullanılmamaktadır. Filmden gıdaya difüze olan antimikrobiyal madde, mikrobiyal popülasyonun üreme hızını azaltmakta ve hedef mikroorganizmanın lag fazı uzamaktadır (Vermeiren et al., 1999; Appendini and Hotchkiss, 2002; Quintavalla and Vicini 2002). Bu nedenle; yenilikçi aktif paketleme uygulamalarından birisi olan antimikrobiyal paketleme, antimikrobiyal bileşenleri gıda ambalaj materyaliyle birlikte uygulayarak et, balık, tavuk ürünleri, ekmek, peynir, meyve ve sebzeleri içeren gıda çeşitleri için potansiyel bir uygulama olmaktadır (Dursun vd., 2010).

Aktif ambalajlamada kullanılan ambalaj materyalleri arasında plastik ve yenilebilir filmler de yer almaktadır. Ancak plastik ambalaj materyalleri güvenli, ekonomik ve kullanıma elverişli olmasına rağmen biyolojik olarak bozunuma uğramadığından çevresel problemler yaratmaktadır. Bu nedenle, biyolojik olarak bozunuma uğrayan, gıda ile birlikte tüketilebilen, toplam katı atık miktarını azaltan ve herhangi bir çevre endişesi yaratmayan protein, polisakkarit ve lipid gibi doğal polimerlerin ambalaj materyali olarak kullanılması yaygınlaşmaktadır. Bu biyopolimer, sentetik ambalaj materyallerinin yerini almak ve sentetik materyallerin kullanımını azaltmak için son yıllarda üzerinde en çok çalışılan ambalaj materyalleridir (Ayana, 2007). Biyopolimer bazlı ambalajlama materyalleri, gıda kalitesinin geliştirilmesi ve üründeki mikrobiyal gelişmeyi en aza indirerek gıdaların raf ömrünün uzatılması gibi önemli özellikleri vardır. Doğal biyopolimerler biyolojik olarak parçalanması ve yenilenebilir olmasıyla birlikte, yenilebilir malzemeler olduğu için sentetik polimerlerden daha fazla avantajlara sahiptir (Rhim and Ng, 2007).

Aktif ambalajlama tekniğinde, gıda kalitesini arttırmak ve gıda güvenliğini sağlamak amacıyla farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri de antimikrobiyal ambalajlamadır (Appendini and Hotchkiss, 2002). Bununla birlikte gıda güvenliğinde aktif ambalajlama türlerinden bir diğeri ise yenilebilir filmlerin kullanımı olup, ambalajlama türleri içinde yeni bir yaklaşımdır. Tüketicilerin yüksek kalite ve uzun raf ömrü olan gıdalara olan taleplerindeki artış ve çevredeki geri dönüşümlü ambalajlara olan ihtiyaç yenilebilir film kullanımına ve araştırmalarına olan ilgiyi arttırmıştır (Krochta and DeMulder Johnston, 1997). Ayrıca yenilebilir film ve kaplamaların, bazı fonksiyonel özellikleri sayesinde antioksidan, antimikrobiyal, renk ve lezzet maddelerini taşıyarak aktif paketleme materyali özelliği de göstermesi diğer avantajlı özelliklerindedir. Fakat yinede

yenilebilir film ve kaplamalar, tüketim sırasında olumsuz etki yaratmamak için mümkün olduğunca kokusuz, tatsız, renksiz, saydam, berrak olmalı, gıda maddesi ile uyum göstermelidir (Baki, 2013).

Antimikrobiyal gıda paketleme sistemleri mikroorganizmaların gelişimini inhibe ederek mikrobiyal bozulmayı azaltır ve mikrobiyal kaliteyi muhafaza eder. Antimikrobiyal gıda paketleme farklı yöntemlerle uygulanabilen teknolojilerdir. Bunlardan başlıcaları;

- 1- Gıda ambalajları içerisine antimikrobiyal ajanlar içeren küçük paketçiklerin veya ped yerleştirilmesi: Eterde ve tavuklarda kullanılan organik asit içeren pedler.
- 2- Antimikrobiyal ajanların direk olarak polimer içerisine ilavesi: Lizozim, organik asitler, esensiyel yağlar gibi antimikrobiyal malzemelerin ambalaj materyalleri içerisine ilavesi, yüzeyine kaplanması veya immobilize edilmesi sonucu elde edilen filmler.
- 3- Antimikrobiyal özellikteki doğal polimerlerin kullanımı: Kalsiyum aljinat filmlerin kullanımındır (Appendin and Hotchkiss, 2002).

Gelecekte ise kullanılacak olan ambalajlarda organik ve inorganik maddelerin nanoboyutta manipulasyonu ile elde edilen nanokompozitlerin gıda ürünlerinin paketlenmesinde yer almaları, geleneksel kompozitlerin kullanımına önemli bir alternatiftir. Polimer nanokompozitler, sundukları saydamlık, düşük yoğunluk, gelişmiş yüzey özellikleri ve geri dönüştürülebilirlik gibi olanaklarla yeni kuşak, çok fonksiyonlu, akıllı paketleme malzemelerini oluşturacak niteliktedirler. Böylelikle, paketleme malzemelerinin geçirgenlik, mekanik ve termal özelliklerini modifiye ederek gıdaların daha iyi korunmasını sağlamada etkin olacakları belirtilmektedir (Sorrentino et al., 2007).

### **1.2.1.1. Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamaları**

Yenilebilir film ve kaplamaların kullanımı yeni bir uygulama olmamakla birlikte, son yıllarda gittikçe önem kazanmaktadır. İlk defa 12-13. yüzyılda Çin'de turuncgillerin korunması amacıyla nem kayıplarını azaltmak için mumla (vaks) kaplama uygulaması şeklinde ortaya çıkan yenilebilir film kaplama yöntemidir. Aynı amaçla 16. yüzyılda Avrupa'da etlerin yüzeyi yağlarla kaplama tekniği uygulanmış, yağlarla beraber jelatin kaplamaların kullanılmaya başlanması 19. yüzyılda gerçekleşmiştir. Yenilebilir film ve kaplamaların uygulamaları bununla da sınırlı kalmamış, sosis gibi et ürünlerinde hayvan bağırsağı yerine yenilebilir

kollojen kılıflar kullanılmaya başlanmıştır (Kester and Fennema, 1986; Ayana, 2007; İnanlı ve Kuzgun, 2012).

Yenilebilir film ve yenilebilir kaplamalar olarak ifade edilen yenilebilir ambalajlar, doğal ve biyolojik olarak geri dönüşümlü maddelerden yapıldıkları için çevreyi kirletmeyen ve çevrenin korunmasına katkıda bulunan ambalajlardır. Bu ambalajlar gıdada meydana gelebilecek görsel, kimyasal, mikrobiyal bozulmaları durdurması ve ürün özelliklerinin korunması, depolama hatalarının azaltılması ve tüketici beğenisine hitap eden bir ürün eldesi için tercih edilmektedir (Şahin ve Bayizit, 2008).

Son yıllarda üzerinde yoğun çalışılan yenilebilir antimikrobiyal filmlerin; gıda ile tüketilebilme, biyolojik olarak bozunuma uğrama gibi özellikleri ile sentetik materyallerin kullanımını azaltmaya ve sentetik antimikrobiyal filmlerin yerini almaya aday etkin bir ambalaj sistemi olacağına inanılmaktadır. Sorbik asit ve potasyum sorbat gibi antimikrobiyal madde içeren yenilebilir film ve kaplamalarla ilgili çalışmalar 1980 li yılların ortasında başlamıştır. Literatürde film materyali olarak metilselüloz, hidroksipropil metilselüloz gibi polisakkaritler ve yağ asitleri gibi lipidler yaygın olarak kullanılırken proteinlerle ilgili yapılan çalışmalara pek rastlanmamıştır. 1990' lı yılların sonlarına doğru yenilebilir protein filmlerde doğal antimikrobiyal maddeler kullanılmaya başlanmıştır (Ayana, 2007). Kontrollü şartlar altında, yenilebilir kaynaklar kullanılarak ve seçilmiş türlerden elde edilebilmesi gibi faktörler bu biyomateryallere olan ilgiyi giderek yoğunlaştırmaktadır. Farklı kaynaklardan elde edilen gıdalar içinde mikrobiyal gıdalar çeşitli mikroorganizma türleri tarafından üretilen, endüstriyel uygulamalara sahip, suda çözünabilir polimerler sınıfı içinde yer alırlar. Yapılarındaki çeşitlilik ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle mikrobiyal gıdalar; gıda, farmösitik ve diğer endüstri uygulamalarında, kalınlaştırıcı, stabilize edici, emülsifiye edici, tekstür ve jelleştirme ajanı olarak geniş bir uygulama alanına sahiptir (Demirci ve Arıcı, 2008).

Yenilebilir film ile paketlenmemiş gıdalar paketleme öncesi veya paket açılmasından sonra mikroorganizmalarla kontamine olabilirler. Bu mikroorganizmalar gıda yüzeyine, ambalaj ve gıda teması ile de yerleşerek gelişim gösterebilirler. Yenilebilir kaplama uygulamalarında ise kaplama materyali ile kaplanmış gıda yüzeyinde oksijenin azlığı ve antimikrobiyal maddelerle doğrudan etkileşim nedeniyle gıdadaki mikroorganizmaların gelişimine engel olurlar. Fakat mikrobiyal gelişim kaplama yüzeyinde gerçekleşir. Başlangıçta antimikrobiyal madde içermeyen gıda tabakasına, film ve kaplamadan antimikrobiyal madde geçişi olur, buna bağlı olarak film ve kaplamadaki

antimikrobiyal madde miktarı azalır ve gıdanın raf ömrü uzatılması sağlanır (Gennadios et al., 1994). Yani, antimikrobiyal aktivitelere sahip bu film uygulamaları gıdalarla yüzey teması sağlanarak, gelişecek olan patojenleri ve bozulma yapan mikroorganizmaları etkilemektedir (Rhim and Ng, 2007). Bu şekilde gıda kalitesinin korunabileceği, albenisinin artırılabilmesi ve ürünün sağlıklı beslenme için daha uygun hale getirilebileceği öne sürülmektedir (Kılıççeker ve Küçüköner, 2004). Yenilebilir filmlerle, ürün kalitesini muhafaza etmenin yanında ambalaj atıklarını azaltmak ve ilave olarak gıdanın raf ömrünü uzatmak için özellikle bileşimlerdeki fenolik maddeler nedeniyle güçlü antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip olan uçucu yağların ambalaj sistemlerinde kullanımı gıda sektörü için oldukça önemli bir gelişme ve yenilik olacaktır (İnanlı ve Kuzgun, 2012).

Film ve kaplamalar oluşum şekilleri ve gıdalara uygulamalarına göre farklılık gösterirler. Yenilebilir kaplamalar sıvı bir film yapıcı solüsyona veya erimiş bileşikler eklenerek doğrudan gıda üzerine uygulanarak bir fırça ile veya püskürtme, batırma veya akıtma ile oluşturulur. Solüsyonların düz bir yüzeye akıtılarak ve kurutulurken, solüsyonu bir kase kurutucu üzerinde kurularak veya sıkıp çıkarma gibi geleneksel plastik işleme teknikleri ile yapılır (Sarıküş, 2006). Bu çalışmamızda da uygulanmış olduğu gibi, gıda maddesinin film çözeltisine daldırılması, fazla kaplama materyalinin gıda yüzeyinden akıtılması sonrasında kaplamanın kurutulması ve katılaştırılması uygulamasıdır. Bu yöntem düzgün olmayan yüzeylerin homojen bir şekilde kaplanması, kaplama materyalinin fazlasının uzaklaştırılması ve kurutulma olanağı gibi avantajlara sahiptir. Büyük hacimli gıdaların kaplanmasına uygun değildir. Et, balık ve tavuk etlerine asetil gliseritlerin, meyve ve sebzelere mumların uygulanmasında önerilmektedir (Caner ve Küçük 2004). Ayrıca gıda güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü arttırmak amacıyla yenilebilir filmlere antimikrobiyal maddeler ilaveleri yapılması büyük avantajlar sağlamaktadır. (Gennadios et al., 1994).

### **1.2.1.2. Yenilebilir film üretimi ve çeşitleri**

Yenilebilir film, tüketici tarafından yenilebilen ve gıda için oksijen ve nem bariyeri olan ayrıca katı geçişini sağlayan, gıdanın tümünü saran veya gıda bileşenleri arasında bir bileşen olarak yer alan ince katmanlardır. Bu tanımlamaya göre yenilebilir filmler, gıdanın tüketiciye sunumu sırasında, gıdayı besin değeri, mikrobiyal kalite açısından korumak gibi fonksiyonel özelliklere sahiptirler (Baki, 2013). Yenilebilir filmler, tarımsal kökenli, doğal ve biyolojik olarak geri dönüşümlü maddelerden üretildikleri için çevreyi kirletmeyen ve çevrenin korunmasına katkı sağlayan materyallerdir (Debeaufort et al., 1998). Yenilebilir

filmler birçok gıda bileşeninin stabilitesini artırmakta, oksijene karşı bariyer özelliği göstermekte, vitamin kayıplarını, kimyasal ve enzimatik tepkimelerini yavaşlatabilmektedirler. Böylece ürünü koruyarak, ambalaj açıldıktan sonra gıdaların kalitesinin korunmasında potansiyel özelliktedirler (Krochta et al., 1994).

Farklı koruma fonksiyonlarına sahip yenilebilir film sistemlerinde antimikrobiyal madde yavaş bir şekilde film tabakasından gıdaya geçmektedir. Böylelikle film içerisinde ve gıda yüzeyinde yüksek derişimde antimikrobiyal madde kalmakta ve mikroorganizmalara karşı daha uzun süre etki göstermektedir (İnanlı ve Kuzgun, 2012). Suyun yanı sıra aroma bileşikleri, antioksidantlar, antimikrobiyal maddeler, pigmentler, kararar reaksiyonlarını durduran iyonlar ve vitaminler gibi ürünleri içerisinde tutarak gıda kalitesini ve raf ömrünü geliştirmektedirler (Debeaufort et al. 1998). Bu noktada gıda yüzeyindeki antimikrobiyal gelişme gıda kalitesini, depolama sırasındaki güvenliğini belirlemede önemli bir kriterdir. Örneğin *E. coli* O157:H7 bakterilerinden kaynaklanan birçok gıda zehirlenmesine neden olmuştur. Ayrıca 1995 te ABD’ de *E. coli* O157:H7 bulaşmasından dolayı 13.6 milyon ton biftek imha edilmek zorunda kalınmıştır. Diğer yandan *Salmonella* Typhimurium gıda zehirlenmelerinin % 34’ünün sebebi olan gıda kaynaklı multi antibiyotik dirençli bir patojendir. Antimikrobiyal ambalaj materyalleri bakterilerin “lag periyodunu” uzatarak mikroorganizma gelişimini azaltarak raf ömrünü uzatırlar ve gıda güvenliğini sağlarlar. Yenilebilir maddeler sentetik maddelerin kullanımını önemli şekilde azaltacağı ise yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Sarıkuş, 2006).

Yenilebilir film uygulamalarında kullanılan plastikleştiriciler; moleküller arası kuvvetlerden kaynaklanan kırılabilirliği ortadan kaldırmak ve polimer yapısına esneklik kazandırmak amacıyla kullanılan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Ayana, 2007). Bunun için yenilebilir film ve kaplama solüsyonuna ilave edilen gliserol (Gls), etilen glikol, sorbitol, mannitol ve polietilen glikol gibi çeşitli plastikleştiriciler yenilebilir film uygulamalarında kullanılabilir (İnanlı ve Kuzgun, 2012). Bunlardan gliserin veya 1,2,3 propantriol olarak da bilinen gliserol, yenilebilir film ve kaplamaların üretiminde yaygın olarak kullanılan renksiz, kokusuz, hidroskobik, tatlı, vizkoz bir sıvıdır. Gliserol bir şeker alkolüdür ve 3 hidrofilik alkolik hidroksil grubu (-OH) içerir. Bu gruplar gliserolün suda çözünmesini sağlarlar. Gliserol gıdalarda ve içeceklerde nemlendirici, çözücü ve tatlandırıcı olarak kullanılır (Seydim vd., 2007). Kimyasal adı propan-1,2,3-triol dır. Molekül ağırlığı 92,09 g/mol dır. Erime noktası 17,8°C ve kaynama noktası 290°C dir (Perry and Green, 1997; O’Neill et al., 2001; Ayana,2007).

Yenilebilir filmlerin kullanılan hammadde kaynağına göre protein esaslı (kazein, peyniraltı suyu proteini, jelatin, fibrinojen, soya proteini, buğday gluteni, mısır zeini, yumurta albumini), polisakkarit (gamlar, nişasta, alginat, selüloz eteri, kitosan, karragenan, pektin), yağ (asetogliserin, mumlar ve balmumları, sıvı ve katı yağlar) esaslı üretilen film ve kaplamalar olmak üzere 3 ana grupta sınıflandırılabilir. Bunlar gıdalara kazandırdıkları çeşitli özelliklerinden dolayı et, tahıl, meyve, sebze, unlu ürünleri olmak üzere gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılır. Karbonhidrat yapısındaki yenilebilir filmler, gaz geçirgenlikleri düşük olan ve film oluşturmak için gıdayı kuru formuna direk bulayarak ya da uygun sulu çözeltisine daldırılarak kaplama yapılan malzemelerden biridir. Hidrofilik yapıda olduklarından fiziksel nem bariyer özellikleri düşük olmaktadır (Kester and Fennema, 1986; Field vd., 1986, Baron vd., 1993; Kılıççeker ve Küçüköner, 2004; Sürengil, 2010). Ayrıca bu polisakkarit filme materyallerin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasının en önemli nedenleri ucuz olması ve toksik olmamasıdır (Polat, 2007). Filmlerin elde edilmesinde kullanılan polimerlerden polisakkarit, protein ve lipid gibi doğal kaynaklardan elde edilen biyopolimerler biyobozunur, yenilebilir, çevre dostu ve antikanserojen oldukları için petro-kimyasal bazlı plastiklerin yerine geçebilecek iyi bir alternatif ambalaj materyali olarak görülmektedir. Bu filmler; antioksidanlar, antifungal ajanlar, antimikrobiyaller, renk maddeleri ve diğer gıda bileşenleri gibi büyük bir katkı çeşidinin birleştirilmesi için de mükemmel araçlardır. Biyopolimer bazlı antimikrobiyal filmler ve yenilebilir film ve kaplamalar et, balık, tavuk ürünleri, tahıl, peynir, meyve ve sebze ürünlerini içeren geniş bir gıda grubunda yaygın şekilde kullanılmaktadır. (Dursun vd., 2010). Gıdalarda yenilebilir film ve kaplamaları için yaygın olarak kullanılan doğal polimer malzemeler ve çeşitleri Çizelge 1.3’ de sunulmuştur.

Çizelge 1.3. Gıdalarda kullanılan doğal polimer malzemeler ve çeşitleri (Dursun vd., 2010).

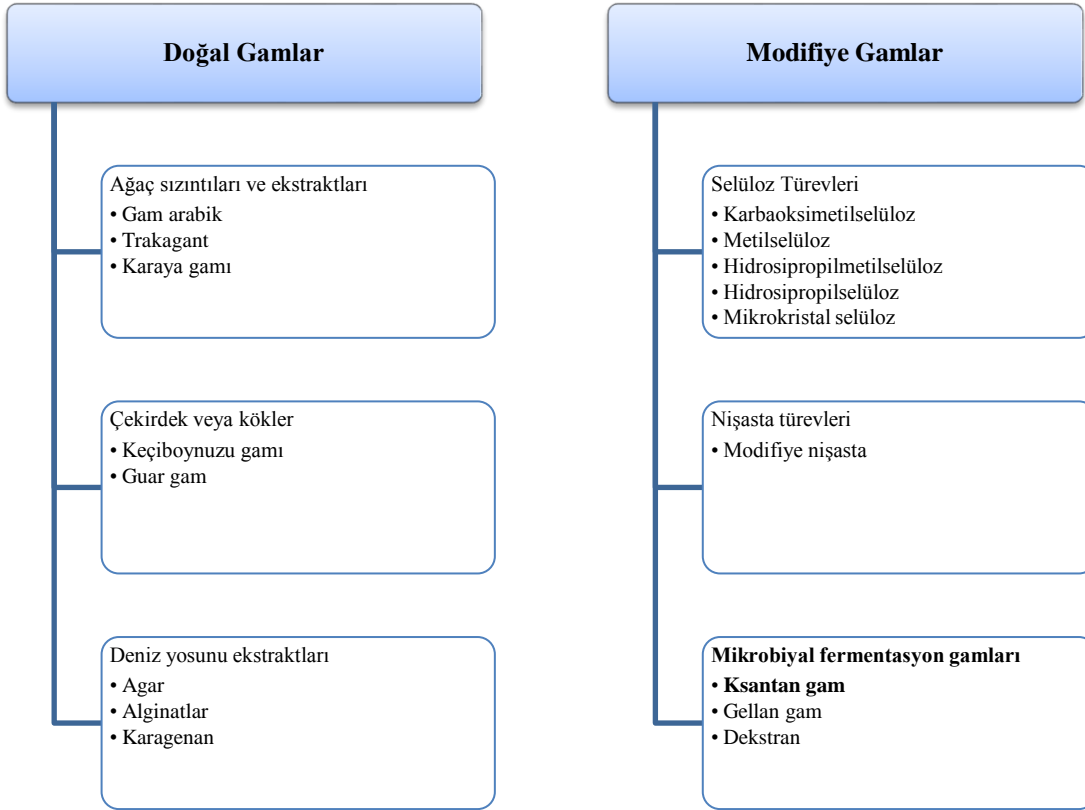
<b>Polisakkaritler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• bitkisel/algisel: nişasta, selüloz, pektin, konjak, alginat, karragenan, gumlar</li> <li>• hayvansal: hyluronik asit</li> <li>• fungal: pullulan, elsinan, süklüroglukan</li> <li>• bakteriyel: kitin, kitosan levan, <b>ksantan</b>, poligalaktozamin, kürdlan, jellan, dekstran</li> </ul>
<b>Proteinler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soya, zein, buğday gluteni, kasein, serum, albumin, kollajen/jelatin, deri, sesilin, polilisin, poliamino asitler, elastin, poliarjinil</li> </ul>
<b>Lipidler/ Sürfaktanlar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asetgliseridler, vakslar, sürfektanlar, emülsan</li> </ul>
<b>Özel polimerler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lignin, şellak, doğal kauçuk</li> </ul>

Yapılan bu çalışmada mikrobiyal gamlar üretim alanlarının ve temin imkanlarının sınırlı olmaması, teminlerinde mevsimsel değişikliklerin olmaması ve fizikokimyasal özelliklerinin daha dengeli olması gibi avantajlarından dolayı biyopolimer kaplama malzemesi olarak ksantan gam seçilerek kullanılmıştır. Ksantan gamların suda çözünebilir, hidrofilik ve jelleşme özelliğinden yola çıkarak plastikleştirici ajan olarak en uygun gliserolün olacağı düşünülmüştür.

Ksantan gam: Gam terimi ilk olarak, yapışkan, zatkımsı, bitkilerden sıızan doğal maddeler için kullanılmıştır. Gamın teknik olarak kabul edilen tanımı ise, kıvam artırıcı ve/veya jelleştirici etki vermek için suda dağılılabilen veya çözünebilir polimerik karbonhidratlar olarak açıklanmaktadır. Bu tip maddeler koloidal yapıda ve hidrofilik kolloid özellikte olduklarından “hidrokolloidler” olarak da adlandırılırlar (Glicksman, 1969; Sungur ve Ercan, 2004; Demirci ve Arıcı, 2008). Günümüzde bu malzemeler yaygın bir şekilde gıdaların doku, lezzet ve raf ömrünü kontrol etmek ve geliştirmek için yenilebilir film solüsyonu olarak kullanılmaktadır (Skurtys et al., 2010).

Çesitli biyolojik kaynaklardan elde edilen, genellikle suda çözünebilir gamlar olarak da bilinen hidrokolloidler, polimerik karbonhidratlardır (Ward Andon 1993). Bu gamlar genellikle bitkisel kaynaklardan olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilmektedir. Suda çözünebilir yani hidrokolloid gam tipleri ve üretildikleri kaynakları Çizelge 1.4 'de gösterilmiştir. Biyolojik üretilmesi ve suda kolay çözülebilen malzeme olmasından dolayı endüstriyel ve bilimsel uygulamalarda kullanılabilir olan polisakkaritlerin mikrobiyal kaynaklardan elde edilerek kullanılması daha avantajlı olmaktadır (Demirci ve Arıcı, 2008).

Çizelge 1.4. Hidrokolloid gam çeşitleri ve üretildikleri kaynakları (Kılıççeker ve Küçüköner, 2004).



Hidrokolloit veya emülsiyon bir film oluşturmak için bir çözücü sistemi gereklidir. Çözücü, ince bir film tabakası oluşturmak için yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin çözünmesini ve homojen bir şekilde dağılımını sağlar. Su ve etanol yenilebilir filmlerin yapımında kullanılan iki tipik çözücüsüdür (Kester and Fennema, 1986).

Ksantan gam; Polisakkarit B-1459 veya ksantan gam, *Xanthomonas campestris* kültürü tarafından üretilen mikrobiyal fermasyon gamıdır. Günümüzde gıda, ilaç ve kozmetik sektörleri gibi geniş ürün çeşitliliğinde kullanılmakta olup, düşük konsantrasyonlarda yüksek viskoz çözelti yeteneğine sahip suda iyi çözünen biyobozunur bir malzemedir (Soares et al., 2005; Fitzpatrick et al., 2012).

Doğal bir polisakkarit ve önemli bir endüstriyel biyopolimerdir. 1950 yılında Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Araştırma Labotatuvarı'nda (NRRL) keşfedilmiştir. Çok çeşitli gıdalarda; emülsiyon stabilizasyonu, sıcaklık stabilitesi, gıda ingrediyeentleri ile uyumlu ve psödoplastik reolojik özellikleri gibi çok sayıda önemli sebepler dolayısı ile kullanılmaktadır (Demirci ve Arıcı, 2008).



Mikrobiyel fermantasyon gamı olan Ksantan gamı, gıda katkısı olarak onaylandıktan sonra, düşük konsantrasyonlarda depolama dayanıklılığı, su bağlama kapasitesi ve ürüne estetik bir görünüm kazandırmasından dolayı gıda endüstrisinde birçok alanda kullanılmaktadır (Sungur ve Ercan, 2004).

### **1.3. Doğal Antimikrobiyal Ekstraktlar ve Gıdalarda Kullanımı**

Bitkiler çok eski yıllardan beri tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bitkilerden ekstreler hazırlanarak ilaç olarak kullanılması, Çin’ de M.Ö. 2700 yıllarına kadar uzanmaktadır. Anadolu halkının yabancı bitkileri ilaç olarak kullanışı da çok eski devirlere kadar gitmektedir. Hitit dönemi tıbbi tabletlerinde bulunan reçete formüllerinde kayıtlı bitki adları bunun bir kanıtı olarak gösterilmektedir (Yiğit ve Benli, 2005). Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Toroğlu ve Çenet, 2006).

Son yıllarda Farmakognozi ve gıda biliminde ortaya çıkan gelişmeler ve yapılan buluşlar gıda ürünlerine, vücudumuz için yararlı bazı doğal maddelerin ve ekstraktların katılmasıyla bu eksikliklerin giderilmesi ve eksiklikten kaynaklanan rahatsızlıkların önlenmesi fikrini doğurmuştur (Meral ve Doğan, 2009). Bunun yanısıra gıdalarda antioksidan ve antimikrobiyal madde kullanımı depolama stabilitesini artırmaktadır. Burada da yine tüketiciler tarafından doğal katkı maddeleri kullanılan gıdalar tercih edilmektedirler (İlhan, 2010). Gıdalarda kullanılan kimyasal bileşenlerin zararlarından dolayı, doğal ürünlerden özütleme ve saflaştırma ile elde edilen bu tip antimikrobiyal bileşenlere ilgi artmıştır (Bouaziz and Sayadi, 2005). Bitkilerden ekstrakt elde etmenin temel amacı, bitkilerin gereksiz maddelerde arındırılması ve ana aktif maddelerinin saf olarak elde edilmesidir. Bitkisel ekstraktların kendilerine özgü bilinen esas etkilerinden birisi bunların antimikrobiyal aktiviteleridir. Birçok bitkisel ekstraktın patojenlere karşı antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkilerinin kanıtı olabilecek laboratuvar çalışmalarından oluşan oldukça fazla bilimsel kaynak mevcuttur. MİK (bakteri üreme ve gelişmesini önleyici bir indeks; Minimum İnhibitör Konsantrasyon) çalışmaları bu ekstraktların, ticari olarak temin edilen bazı antibiyotiklere bazen çok yakın veya benzer değerler gösterdiğini bildirmektedir. Bütün bu kanıtlarla birlikte, uygulamada birçok farklı bitki ekstraktları yüksek konsantrasyonlarda karıştırılarak etkileri antibiyotiklerle mukayese edilmelidir (Tekeli, 2007).

Ambalajlama sanayinde en çok kullanılan koruyucu ve antibiyotikler, benzoatlar, propiyonatlar, sorbatlar, parabenler, asitleştiriciler (asetik asit ve laktik asit gibi), kür ajanları (sodyum klorit ve sodyum nitrat gibi), bakteriyosinler ve doğal koruyucular (esansiyel yağlar ve lizozim) dir (Cagri vd., 2003). Baharat uçucu yağları ve ekstraktları da gıda koruyucusu olarak kullanabilen doğal antimikrobiyal kaynaklardır. Baharatlar flavonoidler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşiklerce zengindirler. Baharatların içerdikleri bu esansiyel yağ bileşenlerinden dolayı geniş antimikrobiyal ve antioksidant özellikleri göstermektedirler (Sarıküş, 2006).

Antimikrobiyal maddeler mikrobiyal gelişimi azaltarak işlenmiş ya da işlenmemiş gıdaların raf ömrünü uzatabilirler. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve bitkisel ekstraktların gıdalarda doğal antimikrobiyal olarak kullanılabilceği yapılan bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır (Kotzekidou et al., 2007). Birçok antimikrobiyal madde polimerler içine, ya ısı ile eritilerek veya çözücü bileşenler içerisinde çözdürülerek ilave edilir. Protein, lipit ve karbonhidrat gibi biyopolimerlerden elde edilen filmlerde antimikrobiyal maddeler su, etanol gibi çözücülerle kullanılabilir (Ayana, 2007).

Gıda endüstrisinde gıda muhafaza süresini uzatabilmek amacıyla bitki ekstraktlarının kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Doğal olmaları ve kalıntı sorununa yol açmamaları nedeniyle baharatların, özellikle gıdalarda önemli bir antimikrobiyal olarak değer bulacağı tahmin edilmektedir (Cerit, 2008). Bitkisel ekstrakt yapılarındaki etken maddenin özelliğine bağlı olarak bakteri veya protozoa üzerine öldürücü etkiye sahip olmaktadır. Bu etki ise, ekstraktlarındaki antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bir takım mekanizmalara bağlanmaktadır (Tekeli, 2007). Aromatik bitkilerin uçucu yağı ve ekstraktları, ki bunların birçoğu Labiatae familyasına ait olan fesleğen, defne, karanfil, kekik ve biberiye gibi özütlerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları, *L. monocytogenes* ve diğer patojenlere karşı bakterisidal aktivite gösterdiği bulunmuştur. İnsanlar bu tür bitkileri doğadan toplayarak veya satın alarak, değişik amaç ve şekillerde kullanarak faydalanabilmektedirler (Toroğlu ve Çenet, 2006).

Aynı bitkilerden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinde farklılıklar görülebilmektedir. Bu çeşitliliğin sebepleri; yetiştirme coğrafyasının farklılığı, hasat zamanı, genotip, iklim, kurutma yöntemi ve uçucu yağın elde edildiği bitki organıdır (Lacroix et al., 2006).

Bu çalışma ile doğal antimikrobiyal yenilebilir film ambalajlamaların kullanımı sayesinde; balıkların paketlenmesinde karşılaşılan sorunlar, ambalaj materyalinin çevre kirliliği üzerine olan etkileri, plastik materyalin insan sağlığı üzerine olan etkileri, paketlenmenin ekonomik açıdan daha pahalı olması ve alet ekipman gerektirmesi gibi olumsuz birkaç etkisinin önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca balık etinin ksantan gam yenilebilir filmiyle kaplanması ve bitki ekstrakt içerikli ksantan gam yenilebilir film üretimiyle ilgili literatür bulunmamaktadır. Bu açıdan çalışmanın balıklarda raf ömrü ile ilgili yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Doğal antimikrobiyal ekstrakt içerikli yenilebilir film kaplı balık fileto ların depolama süresince değişimlerin araştırıldığı çalışmayla ilgili öncelikle bitkisel ekstraktların daha sonra antimikrobiyal yenilebilir kaplama uygulamaların ve su ürünlerinde kullanımına yönelik çalışmalara ait bilgiler aşağıda sunulmuştur.

### 2.1.Bitki Antimikrobiyal Etkinliği Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Fesleğen, defne, karanfil, kekik ve biberiyenin uçucu yağının *Listeria monocytogenes* ve diğer patojenlere karşı bakterisidal aktivite gösterdiği (O'Gara, et al., 2000), nane, kimyon, rezene ve defne uçucu yağlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*'i engellediğini belirtilmiştir (Akgül ve Kıvanç, 1989).

Wan et al., (1998), yılında yaptıkları bir çalışmada agar difüzyon metodu kullanılarak fesleğen esansiyel yağlarının Gram (+) ve Gram (-) bakteriler, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Her iki esansiyel yağda *Clostridium sporogenes*, *Flavimonas oryzihabitans* ve *Pseudomonas*'ın üç türü hariç araştırılan mikroorganizmaların çoğuna karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Campo et al., (2000), biberiye ekstraktının bakterilerin gelişmesini engelleyici ve inhibe edici etkisi incelendiği araştırmada 30°C'de 24 saat sonunda biberiye ekstraktının *Escherichia coli*, *Salmonella enriditis*, *Erwinia carotovora* gibi gram negatif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi olmadığı, ancak, *Listeria*

*monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus mutans*'ı tamamen inhibe ettiği saptanmıştır. Gram pozitif *B. cereus*'un biberiye ekstraktına karşı en hassas bakteri olduğu ve %0,06 biberiye ekstraktı varlığında tamamen inhibe olduğu belirtilmiştir. Bakterilerin inhibisyonu için minimum konsantrasyonun *S. mutans* için %0,5, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. mesenteroides* için ise %1 olduğu bildirilmiştir.

Nascimento et al. (2000), yılında bazı bitki ekstraktlarının ve fitokimyasalların, antibiyotige duyarlı ve antibiyotige dirençli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini belirlemeyi amaçlayan çalışmalarında, civanperçemi, karanfil, oğulotu, fesleğen, guava, nar, biberiye, adaçayı, java eriği ve kekik ekstraktları kullanmışlardır. Karanfil ve java eriği ekstraktların test mikroorganizmalarına ve antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Adaçayı ve civanperçemi ekstraktları herhangi bir antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmemiştir. Elde edilen tüm ekstrakt ve fitokimyasalların denenen mikroorganizma ve ekstrakt kombinasyonlarına göre değişen farklı sonuçları olsa da, etkin bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Nostro et al. (2000), yapmış oldukları çalışmada bitki ekstraktlarının Gram (+), Gram (-) bakteriler ile mantar türlerine karşı antimikrobiyal etkinliği Disk Difüzyon Metodu kullanılarak tespit etmişlerdir. Çalışmada, antimikrobiyal aktivitenin Gram (+) bakteri ve mantar türlerine karşı Gram (-) bakterilerden daha etkili olduğu saptanmıştır.

Holetz et al. (2002), Brezilya tıbbi bitkilerinden 10 bitki ekstraktının antibakteriyal aktivitelerinin çeşitli seviyelerde olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada kullanılan Nar (*Punica granatum*) ekstraktlarının *S. aureus*'un gelişmesini iyi bir şekilde engellerken, diğer standart türlere karşı (*B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) etkili olmadığını, antifungal aktivite yönünden ise *P. granatum*'un da içerisinde bulunduğu 9 bitki ekstraktının antifungal etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Sağdıç vd., (2002), yedi baharat ekstraktının (kimyon, *Helichrysum compactum* Boiss (ölmez çiçeği), defne, mersin yaprağı, kekik, adaçayı ve kekik) *E.coli* O157:H7 gelişimine olan inhibisyonu üzerine yaptıkları denemelerde kağıt disk difüzyon testi kullanmışlardır. Kekik ve mercanköşkün diğer baharat çeşitlerinden daha yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, defne ve ölmezçiçeğin de gelişimi stimule ettiği tespit edilmiştir. Çalışma ile *E.coli*

O157:H7'nin inhibisyonu ile gıda koruma alanında bu baharat ekstraktlarının kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Fesleğen uçucu yağları; antifungal, insektisit, antioksidant, gibi biyolojik etkilerinden dolayı, giderek artan bir öneme sahip olup, değerli uçucu yağlarından ve güzel kokularından dolayı baharat, ilaç, gıda, parfümeri sanayilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenlerden dolayı fesleğen ıslahı, yetistirciliği ve gıdalarda kullanımını üzerindeki çalışmalar artarak devam ettirilmekteği bildirilmektedir (Telci, 2005).

Portakal, okaliptus, rezene, sardunya, ardıç, nane, biberiye, terebentin, Avusturalya çay ağacı özütlerinin *Staphylococcus epidermis* ve *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* türleri üzerine antimikrobiyal ve antiplazmid aktiviteleri için agar difüzyon metodu uygulanmıştır. Yaptıkları çalışmada kekik yağının bakteriler için minimum inhibisyon konsantrasyonu 1.5 mg/mL'dir. Mayalara karşı en etkili terebentin yağı (0.2-0.3 mg/mL), nane yağı (0.4 mg/mL) ve kekik yağı (0.4-0.7 mg/mL) tespit edilmiştir. Biberiye yağı en zayıf etkiyi bakterilere karşı (11.3 mg/mL) ve iki maya türüne (2.5-5.7 mg/mL) karşı göstermiştir. Portakal yağı antibakteriyel etki göstermemesine rağmen hafif bir antifungal aktiviteye (2.8 mg/mL) sahip olduğu görülmüştür. Yağların *E. coli* üzerine etkilerinde ise; nane yağı %37.5'lik bir eliminasyon oranına sahipken okaliptus yağı (0.2-0.5%) ve biberiye yağı (%3.1) daha hafif eliminasyon göstermişlerdir. Çalışmada nane yağının bir bileşeni olan mentolün etkisinin belirgin olduğu, dolayısıyla içinde mentol bulunan diğer bitki özütlerinin de potansiyel olarak bakteri gelişimini engelleyici olabileceği vurgulanmıştır (Schelz et al., 2006).

Shan et al., (2007), yılında yapmış oldukları çalışmada toplam 46 tıbbi bitki ve baharat ekstraktlarının antibakteriyel etkisini 5 gıda kaynaklı patojen bakteri (*Bacillus cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Salmonella anatum*) üzerinde denemişlerdir. Toplam fenolik madde içerikleri de hesaplanan ekstraktlardan, antibakteriyel etkinliği yüksek olanların büyük çoğunluğunda fenolik madde düzeyi de yüksek bulunmuştur. Baharat ekstraktlarına karşı Gram (+) bakterilerin Gram (-) bakterilerden daha hassas olduğu, çalışılan bakterilerden en dirençlisinin *E. coli*, en hassasının ise *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir.

Cerit (2008), yapmış olduğu çalışmada hidrodistilasyon yöntemi kullanılarak elde edilen mercanköşk (*Origanum onites*), kimyon (*Cuminum cyminum*), defne (*Laurus nobilis*) ve biberiye (*Rosemarinus officinalis*) uçucu

yağlarının *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 65031, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853, *Lactobacillus lactis* NRRL 1821 ve *Lactobacillus cremoris* NRRL 634 üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin incelemiştir. Antimikrobiyal etki, uçucu yağlar ayçiçek yağı içerisinde hacmen %25, %50 ve %100'lük konsantrasyonlarda hazırlandıktan sonra, disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. En etkili uçucu yağın mercanköşke ait olduğu ve yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Kimyonun mercanköşkten sonra en etkili uçucu yağ olduğu, bunu sırasıyla defne ve biberiye uçucu yağının izlediği tespit edilmiştir.

Baharat ve baharat ekstraktlarının mikrobiyal gelişmenin tüm aşamalarında etkili olduğu belirlenmiştir. Bunların kullanımı ile lag fazı uzamakta, logaritmik fazda üreme hızı azalmakta, toplam hücre sayısı düşmektedir. Sağlıklı şartlarda işlenmiş ve nispeten az mikroorganizma içeren gıdaların küf, Gram (+) bakteri ve bir ölçüde de Gram (-) bakterilere karşı korunmasında baharatların antimikrobiyal etkisinin önemli bir katkı sağlayabileceği belirtilmektedir (Cerit, 2008).

## **2.2.Bitki Ekstraktlarının Gıdaların Raf Ömrü Üzerine Yapılan Çalışmalar**

Frutos and Herrero (2004), yaptıkları çalışmada biberiye ekstraktlarının yağ oksidasyonu üzerine etkilerini incelemişler ve çalışma sonucunda, biberiye ekstraktının ısıtma işlemi sonrasında bile oksidasyona karşı etkin koruma sağladığı, 4 g/L seviyesinde kullanıldığında iyi bir antioksidan olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar tat ve aroma da oluşan değişiklikleri engellemek için kullanılması uygun konsantrasyonun belirlenmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Can vd., (2007), eugenolün sazan balık filetoları üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan aynalı sazan filetoları, %0.5, %1 ve %1.5 eugenol solüsyonları içerisinde 1 dakika bekletildikten sonra vakumla ambalajlanarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Muhafazanın 0, 7, 14, 28 ve 42. günlerinde mikrobiyolojik (Mezofilik Aerob Bakteri, Mezofilik Anaerob Bakteri, Toplam Koliform, maya ve küf sayısı) analizleri yapılmıştır. Yapılan istatistiksel analizlerde, kontrol grubu mezofilik aerob genel canlı sayısı bakımından 14. günde, solüsyona daldırılan grupların ise 42. günde depolamanın limit değerlerini aştığı bildirilmiştir.

Cadun vd., (2008), biberiye ekstraktı ile marine edilmiş karideslerde raf ömrünün incelendiği bir araştırmada, biberiye ekstraktı ile marine edilmiş karideslerin raf ömrünü belirlemek için kimyasal, fiziksel, enstrümantal, mikrobiyolojik ve duyusal analizleri yapılmıştır. Kontrol grubu 75. günde duyusal ve kimyasal açıdan tüketilebilir limit değerlerine ulaşırken mikrobiyolojik açıdan limit değerlerinin altında tespit edilmiştir. Biberiye ekstraktlı deneme grupları ise 75.günde hala kalitesi “iyi” değerlerinde tespit edildiği bildirilmiştir. Biberiye ekstraktı ile marinasyon, karideslerde toplam uçucu baz azotu (TVB-N) ve tiyobarbitürik asit (TBA) değerlerinde azaltıcı bir etkide bulunmuştur.

Karpinska (2008), hindi köftelerde raf ömrü ve kalitesi üzerine biberiye ekstraktı kullanımının etkilerini incelediği çalışmada, vakum paketlenmiş 4°C’de depolanmıştır. Depolama sonucunda, biberiye ekstraktı ilave edilen köftelerin, kontrol grubuna göre daha düşük su aktivitesi ve pH değerlerine sahip olduğu ve duyusal degerlendirmede daha yüksek puanlar aldığı belirtilmiştir. Biberiye ekstraktının psikrofil, *koliform* ve *Clostridium sp.* bakterilerinin gelişimlerini inhibe ettiği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda biberiye ekstraktının et ürünlerinde kullanımının olumlu etkilerin gösterdiği, kullanımının onaylanabileceği belirtilmiştir.

Hisar vd., (2008), yaptıkları çalışmada, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetoları üzerine doğal antioksidan içeren ısırgan otu (*Urtica dioica*) ekstraktının 3 farklı konsantrasyonda (% 0,4, % 0,8 ve % 1,61) 9 günlük depolama süresince toplam antioksidan aktivitesine, TBARS, TVB ve pH değerlerine bakılmıştır. Isırgan otu ekstraktlarının, aerobik olarak depolanan gökkuşağı alabalık filetolarının raf ömrünü uzattığını ve lipit oksidasyonunu engellediği bildirilmiştir.

Mexis et al., (2009), buzdolabı koşulları altında depolanan (4 °C) gökkuşağı alabalığı filetolarının raf ömrünü uzatmada oksijen absorberi (oksijen emici) ve kekik esansiyel yağının (%0.4 v/w) kombine etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, depolama süresince üründe oluşan mikrobiyolojik (toplam canlı sayımı, *Pseudomonas spp.*, laktik asit bakteri sayısı, *Shewanella putrefaciens*’i içeren H<sub>2</sub>S üreten bakteri sayısı, Enterobacteriaceae sayısı ve *Clostridium spp.*), fizikokimyasal (pH, PV, TBA, TVBN ve su kaybı) ve duyusal (koku ve lezzet) değişimler incelenmiştir. 4 °C’de depolanan alabalıklardaki toplam canlı sayımı kontrol örnekleri için depolamanın 4. gününde, oksijen absorberi içeren örnekler için 7-8. günde ve oksijen absorberi (oksijen emici) ve kekik esansiyel yağını kombine olarak içeren örneklerde ise 12-13. günde 7 log kob/g’ı aşmıştır. *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae* ve laktik asit bakteri sayısı kullanılan O<sub>2</sub>

absorber ve/veya kekik yağında kısmen engellenmiştir. Balık etindeki pH, 6.65–6.09 olan başlangıç değerinden düşüşler sergilemiş ve sonrasında protein dekompozisyonu ürünleri oluşumundan dolayı 6.86'a yükselmiştir. Çalışma sonucunda 4 °C'de depolanan alabalık filetolarının raf ömrünün kontrol grubu için 4 gün, kekik yağı içeren gruplar için 7–8 gün, O<sub>2</sub> absorber içeren gruplar için 13–14 gün, O<sub>2</sub> absorber ve kekik yağı içeren gruplar için 17. gün olmuştur.

Frangos et al., (2010), yaptıkları çalışmada, 4 °C'de depolanan taze alabalık filetoları üzerine tuz, mercanköşk esansiyel yağı (EO) ve paketlemenin etkisini; A1 (kontrol örnekleri; tuzsuz, hava paketlemeli), A2 (tuzlu, hava paketlemeli), VP1 (tuzlu, vakum ambalajlı), VP2 (tuzlu ve ilave %0.2 v/w mercanköşk esansiyel yağı ile birlikte vakum ambalajlı) ve VP3 (tuzlu, %0.4 v/w mercanköşk esansiyel yağı ile birlikte vakum ambalajlı) grupları arasında değerlendirme yapmışlardır. A1 ve A2 alabalık örneklerinde ambalajlı olan diğer gruplara göre sırasıyla; laktik asit bakterisi (LAB), H<sub>2</sub>S üreten bakteri (*Shewanella putrefaciens* içeren), *Pseudomonas* spp. Ve *Enterobacteriaceae* sonuçları daha yüksek popülasyonlarda bulunmuştur. Duyusal verilere dayanarak; aerobik koşullar altında tutulan kontrol örnekleri vakum paketleme koşullarıyla karşılaştırıldığında; VP tuz ve mercanköşk yağı ilavesi (%0.2 v/wt) (VP2) önemli bir raf ömrü uzamasına yol açarken (11-12 gün) tuz ilavesi (VP1) ürünün raf ömrünü 9 gün arttırmıştır.

Kenar vd., (2010), 3 ± 1 °C'de 20 gün depolanan sardalyanın duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinde biberiye ve adaçayının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Sardalya filetoları panelistler tarafından duyusal olarak kontrol grubunda 13. gün, biberiye ve adaçayı grubunda (10g/L biberiye ve adaçayı içeren grup) 20. günde reddedilirken mikrobiyolojik bozulma kontrol grubu için depolamanın 5. gününde, biberiye ve adaçayı için depolamanın 9. gününde gerçekleşmiştir.

Mantoğlu (2010), yaptığı çalışmada levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*) kullanılarak hem yeni bir ürün geliştirebilmek hem de levrek balığının kekik ekstraktı uygulamasından sonra raf ömrünü tespiti yapılmıştır. Levrek filetoları 10 dakika süre ile kekik ekstraktında bekletilmiştir. Depolanan filetolar ayda 1 kez yapılan analizler ışığında kekik ekstraktı uygulanan deney grubu sonuçlarının kontrol grubuna nazaran daha iyi sonuçlar verdiği ve kekik ekstraktının levrek filetolarının raf ömrü üzerine pozitif bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. Yapılan bu çalışma ile baharatların kullanılma şekliyle de bağlantılı olarak levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) raf ömrünü uzatmada faydalığı olduğu, doğal ürünler olan baharatların antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinden yararlanmanın yaygınlaştırılması gerektiği bildirilmiştir.



Kılınç ve Yavuz (2011), alabalık filetoları farklı laktik asit çözeltilerinde (%1,%2,%3,%4,%5) daldırma işlemine tabi tutarak 4°C’de 6 gün depolamışlardır. Duyusal olarak %1-2 laktik asite 30 dk daldırma en fazla beğenilen gruplar olurken, mikrobiyolojik olarak bütün laktik asit gruplarının 6 gün, kontrol grubu ise 3. gün reddedilmiştir. Alabalık filetolarının %5 konsantrasyonda laktik asite daldırılmasının bakteri yükünün azalmasında en fazla etkili olduğu bildirilmiştir.

Aksu ve Derman, (2012), yaptıkları araştırmada *Trachystemon orientalis* L. bitki yapraklarından elde edilen petrol eter, metanol ve su ekstraktları sığır kıymasında uygulanarak, etin kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine etkisi incelenmişlerdir. Bitki ekstraktları 250 ve 500 ppm seviyelerinde ilave edilmiş ve 4±1°C’ de 72 saat depolanmıştır. Depolamanın 1., 12., 24., 36., 48., 60. ve 72. saatlerinde TBARS, pH ve renk analizleri ile toplam aerobik mezofilik, toplam aerobik psikrotrofik, laktik asit, *Pseudomonas* ve Enterobacteriaceae sayıları tespit edilmiştir. Ekstrakt ilavesi ve depolama süresi kıyma örneklerinin mikrobiyolojik değerlerini de etkilemiştir (p<0.01). En düşük *Pseudomonas* ve toplam aerobik psikrotrofik bakteri sayıları 500 ppm metanollü grupta belirlenmiştir (p<0.05).

### **2.3.Antimikrobiyal Yenilebilir Film Uygulamaları Üzerine Yapılan Çalışmalar**

Cha et al., (2002), yaptıkları çalışmada; lizozim, nisin, üzüm çekirdek özütü, etilendiamintetraasetik asit gibi antimikrobiyal maddelerden na-aljinat ve kapa-karrajenan antimikrobiyal filmler elde etmişler ve bu antimikrobiyal filmlerin *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. innocua*, *M. luteus* gibi bakteri türleri üzerine antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Aynı miktarda antimikrobiyal madde içeren na-aljinat filmler kapa-karrajenan filmlerden daha güçlü antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Üzüm çekirdek özütü ve etilendiamintetraasetik asit içeren her iki tür film tüm mikroorganizmalara karşı etki göstermiştir. Üzüm çekirdek özütü ve üzüm çekirdek özütü / etilendiamintetraasetik asit içeren filmlerin daha fazla antimikrobiyal etki gösterdikleri, nisin, nisin-etilendiamintetraasetik asit, nisin-lizozim- etilendiamintetraasetik asit içeren filmlerin daha az etkili oldukları gözlenmiştir. Etilendiamintetraasetik asit ve üzüm çekirdek özütü diğer antimikrobiyallere göre daha güçlü antimikrobiyal özellikte olduğu tespit edilmiştir.

Tsai et al., (2002), kitosanın karidesler üzerinde antimikrobiyal etkisini araştırıldığı çalışmada % 1 kitosan uygulamanın kimyasal açıdan TVB-N artışını

geciktirdiği, mikrobiyolojik açıdan mezofil, psikrotrof, koliform, *Aeromonas* ve *Vibrio* üremesini yavaşlattığı bildirilmiştir. Balık filetoların raf ömrünü 5 günden 9 güne uzattığı sonucuna varılmıştır.

Laohakunjit ve Noomhorm (2004), yaptıkları çalışmada; pirinç nişastası esaslı filmlere Gl's % 35 (a/a), sorbitol % 45 (a/a) oranında plastikleştiriciler ilave edildiklerinde filmlerin sudaki çözünürlüklerini arttırdığı tespit edilmiştir. Gl's ile plastikleştirilmiş filmler, sorbitol ile plastikleştirilmiş filmlere göre daha yüksek uzama yüzdesi, daha düşük gerilme kuvveti göstermiştir. Ancak Gl's, filmlerin su buharı ve oksijen geçiş hızını sorbitol içeren filmlere göre daha çok arttırmıştır. Sorbitol ve gliserol plastikleştiricileri kullanılan nişasta filmlerin, plastikleşci kullanılmayan pirinç nişastası filmlere göre daha homojen, berrak, pürüzsüz ve daha az çözünmemiş parçacıkları içerdiği bildirilmiştir.

Min et al., (2005), soğuk dumanlanmış somon balığını lizozim (25mg/g) içeren peynir altı suyu izolatu ile kaplamışlardır. Yaptıkları alışma sonucunda *L.monocytogenes* inölüke edilen balıklarda 2,4 log kob/g inhibisyon sağladığı, lizozim içeren kaplama hem 4°C hem de 10°C'de *Listeria monocytogenes*'in gelişimini geciktirdiği saptanmıştır.

Zivanovic et al., (2005), tarafından yapılan çalışmada anason, fesleğen, kişniş, kekik gibi esansiyel yağların ve bu esansiyel yağlardan kekik ile zenginleştirilmiş kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri sırasıyla; kekik >> kişniş> fesleğen> anason tespit edilmiştir. %1 ve %2 (v/v) oranında kekik esansiyel yağı içeren kitosan filmleri sosislerin, 5 °C ve 10 °C'de depolamaları sonucunda *L. monocytogenes* sayısını sırayla 3.6 ve 4.0, *E. coli* ise 3 logaritmik birim azaldığı görülmüştür.

Sarıkuş (2006), tarafından yapılan araştırmada; biberiye uçucu yağı, sarımsak uçucu yağı ve kekik uçucu yağı ilave edilmiş peynir altı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerin *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes* ve *L. plantarum* üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Yapılan alışma sonucunda test edilen bakterilere karşı, kekik yağı ve biberiye yağı katkılı yenilebilir filmlerin yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ve peyniraltı suyu proteini bazlı (WPI) yenilebilir filmlerde bazı baharat ekstraktların kullanımı ile antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Kekik yağı içeren peyniraltı suyu proteini bazlı film ile kaplanmış, *E. coli* O157:H7 bulaştırılmış kaşar peyniri örneklerinde 1. günde 1,48 log azalma, *S.*

*aureus* bulaştırılmış örneklerde, 15. günde 2,15 log azalma saptanmışlardır. *S. enteritidis* bulaştırılmış peynir örneklerinde sarımsak katkılı filmler, nisin veya kekik katkılı filmler ile benzer özellik göstermiştir.

Gomez-Guillen et al., (2007), yılında yapmış oldukları çalışmada soğuk dumanlanmış sardalyaların (*Sardina pilchardus*) raf ömrünü uzatmak için yüksek basınç (300 MPa/20°C/15 dk) ve keklikotu ekstraktı veya biberiye ya da kitosan eklenerek zenginleştirilen jelatin bazlı fonksiyonel yenilebilir filmleri uygulamışlardır. Keklikotu veya biberiye ekstraktı kullanılan filmlerle kaplanan balıklar da fenol içeriğinin ve antioksidant gücünün fazla olduğu belirtilmiştir. Bitki ekstraktları eklenen yenilebilir filmler oksidasyon seviyesini ve mikrobiyal gelişmeyi azalttığı bildirilmiştir.

Yener (2007), yaptığı çalışmada laktoperoksidaz ve koruyucu kültürler kullanılarak (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* ve *Lactobacillus plantarum*) sırasıyla antimikrobiyal ve koruyucu etkisi olan alginat yenilebilir filmler üretmiş ve ardından bu filmler ile taze kalamaları paketleyerek 4 °C' de 7 gün boyunca depolanmıştır. Sonuçlar üretilmiş olan laktoperoksidaz içeren alginat filmlerin ve gıdalarda uygulanan bu filmlerin *E. coli*, *L. innocua* ve *P. fluorescens* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Geliştirilmiş olan laktoperoksidaz içeren alginat filmler seçilmiş bir deniz ürününde de uygulanmış ve bu ürünün depolanması sırasında toplam canlı bakteri sayısında azalma sağladığını bildirmiştir.

Çalışoğlu, (2008), yaptığı çalışmada, fındıkta (*Corylus avellana* L) yenilebilir kaplama materyali olarak peyniraltı suyu protein izolatu ile antimikrobiyal materyal olarak karanfil ve tarçın uçucu yağlarının uygulanabilirliği denemiştir. Kavrulmuş fındıkları 5 farklı formülasyonda peyniraltı suyu proteini bazlı filmlerle kaplayarak oksidatif stabilite, tekstür, duysal ve renk özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Duyusal değerlendirme panelinde, panelistlerin görünüşe, özellikle parlaklık ve renge önem verdikleri, ancak geleneksel bir bakış içinde fındık tat ve aromasında çok fazla değişiklik istemedikleri gözlenmiştir. Bu yüzden uçucu yağlar yerine, aromasız olan peynir altı suyu (PAS) proteini kaplamaları daha fazla beğeni topladığını bildirmiştir.

Carno et al., (2008), taze bifteklere biberiye ekstraktı ve kekik ekstraktı ilave edilmiş yenilebilir filmleri kaplamışlar ve yüzeye sadece biberiye ekstraktı uygulamışlardır. 1°C'de 8 gün süren depolama sonunda kontrol gruplarında toplam Bakteri Sayısı 7-8 log kob/g, kekik ve biberiye ekstraktı katkılı yenilebilir

film kullanılan gruplarda bu değer 5-6 log kob/g olarak bulunmuştur. Yenilebilir film kaplı gruplar kontrol grubuna göre koku, renk ve duyuşal açıdan 8 ile 13 gün arasında raf ömrünü uzatmıştır.

Datta et al., (2008), yaptıkları bir çalışmada lizozim ve nisin ilaveli aljinatların dumanlanmış salmön filetoları 4 °C'de 35 gün boyunca depolanmıştır. Çalışma sonucunda buzdolabı sıcaklığında lizozim ve nisin içeren alginat kaplanmış tüketime hazır dumanlanmış samonları üzerine inoküle edilen *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella anatum*'un gelişimlerini baskıladığını tespit etmişlerdir.

Zinoviadou et al., (2009), yaptıkları bir çalışmada, peyniratlı suyu proteini izolatu (WPI) filmlerde; plastikleştirici olarak sorbitol ve 0.5%, 1.0%, 1.5% w/w oranlarından eklenen kekik ekstraktları kullanılarak taze et ürünlerinde etkisi incelenmiştir. %1.5 (w/w) kekik (oregano) ekstraktlı film ile kaplanan taze et ürünlerinde bozulma yapan mikroorganizmaların 10 gün boyunca gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Yaptıkları çalışma doğrultusunda kekik ekstraktı içeren WPI filmlerin taze et ürünlerin raf ömrünü uzattığı bulgulanmıştır.

Kitosan filmlerine kekik ve karanfil uçucu yağları antimikrobiyal maddesi ilave edilerek, bu filmlerin kaşar peyniri dilimlerindeki *L. monocytogenes* üzerine önemli düzeyde inhibe edici etkisinin olduğunu ve uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin artırılması amacıyla kitosan filmleri ile birlikte kullanım olanaklarının olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte kitosan filmlerine uçucu yağ ilavesinin gıdaların duyuşal nitelikleri üzerine etkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Torlak ve Nizamlıoğlu, 2009).

Torlak ve Nizamlıoğlu, (2009), yaptıkları çalışmada kitosan solüsyonlarında; %0,5 ve %1 oranındaki kekik ve karanfil uçucu yağları içeren yenilebilir filmlerin *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*' e karşı gerçek gıda matriksi üzerinde antimikrobiyal etkilerini değerlendirilmiştir. Gıda matriksi olarak kullanılan kaşar peyniri dilimleri *L. monocytogenes* ile Log 5 kob/g düzeyinde kontamine edilmiş, 4°C' de 14 gün depolanmıştır. Muhafaza periyodu sonunda tüm film tiplerinin *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkisi kontrol grubuna nazaran önemli düzeyde bulunmuş, kontrol grubuna nazaran yenilebilir filmler ile kaplanmış örneklerde *L. monocytogenes* sayısı 1,18 log ile 2,39 log arasında düşük tespit edilmiştir. Genel olarak kekik uçucu yağı

içeren filmlerin karanfil uçucu yağı içeren filmlere nazaran daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Ojagh et al., (2010), tarçın yağı ile zenginleştirilen kitosan kaplamasının 16 günlük depolama süresince ( $4 \pm 1$  °C) gökkuşuğu alabalığı kalitesine olan etkisinin belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Kaplama için kitosan solüsyonu (%2 w/v) ve kitosan ile tarçın yağı kombine solüsyonu (%2 w/v kitosan + %1.5 v/v tarçın yağı) kullanılmıştır. Kontrol ve kaplanmış balık örneklerinin periyodik olarak mikrobiyolojik (toplam canlı sayımı, psikrotrofik sayımı), kimyasal (TVB-N, PV ve TBA) ve duyu özellikleri incelenmiştir. Muamele grupları depolama sonuna kadar raf ömrünü koruduğu (16. gün) ancak kontrol grubunun 12 günlük bir raf ömrüne sahip olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda balık kaplamada kitosan ve tarçın yağının kombine olarak kullanımının balığın tekstür, koku, renk ve genel kabul edilebilirliğinde herhangi bir önemli kayıp sağlamadığı, balık üzerinde iyi kalite göstergeleri sağladığı ve mikrobiyal gelişimde önemli artışlara yol açmadığı belirtilmiştir.

Flores et al., (2010), ksantan gam ve potasyum sorbant yenilebilir filmi ile gliserol içerikli tapyoka nişastası yenilebilir filmin ekstrüzyon teknolojisiyle farklı oranlarda karışımlarının fiziksel ve mikrobiyolojik etkilerini incelemişlerdir. Ksantan gamın karışım yenilebilir filmin önemli ölçüde ( $p < 0,05$ ) diğer bileşenleriyle etkileşim gösterdiği, nem içeriğini azalttığı, suda çözünürlüğünün yüksek olduğu bildirilmiştir. Yenilebilir filmlerde nem geçişinin azaltılmasında, suda çözünürlüğün artırılmasında ve filmlerin güçlendirici ürün olarak ksantan gam kullanımı önermektedirler. Biyopolimerlerden imal edilen ekstrüzyon filmlerin aktif paketlenme olarak gıda teknolojisinde potansiyel bir uygulama olacağını tespit etmişlerdir.

Sothornvit, (2011), yılda kızarmış muz cipsinin yüksek yağ içeriğinden dolayı raf ömrü kısıtlılığı ve tüketiciler tarafından tercih edilmemesi üzerine hidrokolloid yenilebilir film kaplama çeşitleri ile yağ absorpsiyon problemi üzerine çalışmıştır. Araştırmasında % 1,5 (w / w) solüsyon oranında ksantan ve guar gam yenilebilir filmleri ve hiçbir kaplama uygulanmayan kontrol grubu arasında kızarmış muz cipsinin fiziksel özellikleri ve yağ absorpsiyon oranı üzerine karşılaştırma yapmıştır. Yenilebilir film kaplı muz cipsleri kontrol grubuna göre yağ absorpsiyon hızı daha büyük bir azalma ile sonuçlanmıştır. Yenilebilir film kullanımı ile düşük yağ içeriğine sahip, iyi kalitede işlenmiş gıdaların tüketiciler için aperiitif bir ürün olacağı bildirilmiştir.

İnanlı ve Kuzgun, (2012), yaptıkları bir çalışmada yenilebilir filmlerde kullanılan antimikrobiyal etki mekanizması üzerine gıdanın pH'sı da önemli olduğu bildirilmişlerdir. Düşük pH'da hidrofobik özelliği nedeniyle uçucu yağın gıdanın lipit fazında çözünme eğilimini arttırdığı ve bu durumun antimikrobiyal etkinliğini de geliştirdiği bildirilmiştir.

Akcan vd., (2012), yaptıkları çalışmada peynir suyu proteininden hazırlanan 2 farklı konsantrasyonda (%2 ve %4) defne ve adaçayı ekstraktı katkılı yenilebilir filmlerin köfte tipi et ürünlerinde yağ oksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Örnekler 2°C'de 7 gün süreyle depolanmış, defne ve adaçayı ekstraktı katkılı filmlerin köftelerde yağ oksidasyonu üzerine yavaşlatıcı etkisi olduğu gözlenmiştir.

Mohan et al., (2012), yenilebilir kitosan film kaplamaların ( %1 ve %2) sardalyanın buzdaki kalite değişimleri üzerine araştırma yapmışlardır. Kitosan yenilebilir film kaplamasının bakterilerin büyümesi üzerine engelleyici etkisinin olduğu, TVB-N ve TBA değerlerinde önemli derecede düşüşler sağladığı bulgulanmıştır. Tüm grupların kas pH değerlerinin depolama boyunca artış gösterdiği bildirilmiştir. Grupların tüketilebilirliği açısından %1 ve %2 kitosan kaplı gruplar için sırasıyla 8 ve 10. günler, buna karşılık kaplama uygulanmamış kontrol grubunda 5 gün olarak tespit edilmiştir.

Avila-Sosa et al., (2012), farklı 3 tür yenilebilir filmlerde (amaranth, kitosan ve nişasta) antimikrobiyal ajan olarak kullandığı kekik, tarçın ve limon otu esansiyel yağların farklı konsantrasyonlarda deneyerek antifungal aktivitelerini değerlendirmiştir. En iyi kitosan filmlerin %0,25 oranında kekik esansiyel yağı ve %0,50 oranında tarçın esansiyel yağı içeren olduğu, ardından protein esaslı amaranth (horozibiği) yenilebilir filmlerin sırayla %2 ve %4 kekik ve tarçın esasnsiyel yağı içeren filmlerin etkili olduğu bildirilmiştir. Kekik ve tarçın esansiyel yağları içeren kitosan yenilebilir filmlerin gıda yüzeyinde maya ve küf gelişimini içerdiği uçucu bileşikler sayesinde inhibe ettiği ve böylece gıda kalitesini koruduğu bildirilmiştir.

Baki, (2013), yaptığı çalışmasında, orta nemli meyvelerin kaplanmasına uygun levan film üretilmiş, organik orta nemli hale getirilmiş kayısı ve incir örneklerinin doğal antimikrobiyal olarak lizozim ve kitosan içeren levan film ile kaplanmış ve depolama süresince mikrobiyolojik, duyuşsal, fiziksel ve kimyasal değişimleri incelemiştir. İncir örneklerinin toplam canlı sayıları üzerine kitosan içeren levan film ile kaplamanın, lizozim içeren pektin ve levan film ile

kaplamanın, lizozim ve kitosan içeren levan film ile kaplamanın etkili olduğu belirlenmiştir. Lizozim ve kitosan içeren levan film ile kaplanan grupta küf-mayanın önemli oranda azalttığı bildirilmiştir.

Guo et al., (2014), jelatin içerikli ve gliserol plastikleştirici ile gliserol-jelatin ksantan yenilebilir filmleri ile 4 farklı oranda aldehid içeriğiyle okside ksantan gam yenilebilir filmleri üretimi yapmışlar, jelatin-ksantan gam ve jelatin okside ksantan gamın yapısı ve özellikleri filmlerin ışık geçirgenlik özellikleri, su absorpsiyonu, suda çözünürlükleri, nem direnci, mekanik ölçümleri karakterize etmişlerdir. Ksantan gam çözeltisinde % 1 (w / v), % 20 oranında gliserol plastikleştiricisi, %5 oranında jelatin konsantrasyonu hazırlanmış ve farklı oranlarda sodyum peroksit solüsyonu 40 °C de 4 saat karıştırılarak elde edilmiştir. Jelatin ve ksantan gam biyopolimerlerinin etkileşimi ve birbiriyle çapraz birleşimi sonucu jelatin filmlerin termal stabilitesi ve mekanik özellikleri büyük ölçüde artırılırken, ksantan gamda ise toplam çözünen madde, nem içeriği ve su buharı geçirgenliğini azaltmış olduğu bildirilmiştir. Ksantan gam ile okside ksantan gam filmler karşılaştırıldığında, oksidasyon seviyesi arttıkça jelatin filmlere termal stabilitesi, mekanik özellikleri ve su tutma özelliklerinin daha artmış olduğu belirlenmiştir.

Zambrano-Zaragoza et al., (2014), taze kesilmiş elmaların dolapta depolanmaları sırasında korunması için ksantan gam filmleri ile daldırma, nanokapsülasyon ve nanoemülsiyon yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmada ksantan gam yenilebilir film kaplama formunun iyi fonksiyonel özelliklere sahip olmasına rağmen nanokapsülasyon kadar etkili olmadığı bildirilmiştir. Yenilebilir film kaplama olarak ksantan gamın taze meyvelerde kullanımı ile meyvenin lezzet ve aromasını muhafaza ettiği tespit edilmiştir. Sonuçlar doğrultusunda nanoteknolojik kaplama yöntemlerinin kararma endeksinin azalttığı ve sululuk-sertlik korunmasında ksantan gam ile kaplamanın kontrol grubuna göre daha uzun süre etkili olduğu belirtilmiştir.

López de Lacey et al., (2014), biyoaktif yenilebilir film materyali olarak agar ve yeşil çay ekstraktı ile probiyotik bakteri (*Lactobacillus paracasei* L26 ve *Bifidobacterium lactis* B94) kullanarak berlam balığındaki 15 gün süren raf ömrü çalışmasında yapmışlardır. Depolama süresi boyunca yeşilçay+probiyotik film kaplı filetoların toplam canlı sayısı, H<sub>2</sub>S üretin mikroorganizmalar ve TVB-N sonuçların kabul edilebilir limit değerlerin altında kaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada yeşil çay ve probiyotik yenilebilir agar filmlerin berlam bağında 1 hafta boyunca raf ömrü arttırıp, balıkta yararlı laktik asit bakteri sayısı arttığı bildirilmiştir.

Jouki et al., (2014), farklı konsantrasyonlarda (0, %1, %1,5, %2) mercanköşk (M) ve kekik (K) esansiyal yağları içeren ayva çekirdeği gamı (AÇG) yenilebilir filminleri ile kaplanan gökkuşacağı alabağın 4 °C'de 18 gün depolama boyunca raf ömrü tayini yapılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AÇG + %1 M, AÇG + 1,5 M, AÇG + % 2 M, AÇG + %1 K, AÇG + 1,5 K, AÇG + % 2 K kaplı gurpların sırasıyla 3, 5, 9, 6, 10 ve 11 gün raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada antimikrobiyal etkiye sahip ksantan gam esaslı filmler üretilmiştir. Bunun için antimikrobiyal aktiviteye sahip defne (*Laurus nobilis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*) bitkilerin ve limon (*Citrus limon*) yaprağı ekstraktları kullanılmıştır. En uygun yenilebilir film ve antimikrobiyal madde konsantrasyonlarının elde edilmesi ardından kaplanan alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının +4 °C'de depolama periyodu boyunca; mikrobiyolojik, çiğ ve pişmiş olarak duyuşal durumu ve pH değişimleri incelenmiştir. Optimum film konsantrasyonu olarak % 0,5 (w/v) (ksantan/saf su) oranında belirlenerek, antimikrobiyal madde içeren (defne ve fesleğen ekstraktlı) ksantan gam yenilebilir filmlerin alabalık filetolarındaki antimikrobiyal etkinliği ve duyuşal kalitesi üzerine etkisi belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Çalışmada alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetoları Bağcı Alabalık A.Ş. (İzmir) tarafından taze olarak temin edilmiştir. Balıklar hasat edildikten sonra fileto haline getirilip buzlanarak aynı gün içinde soğutmalı araçlar ile Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknoloji Laboratuvarına teslim alınmıştır. Taze alabalık filetoları 3 ay boyunca -18 C'de muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon işlemlerinde; bitkilerin çözelti karışımları için karıştırıcı (Orbital shaker, Stuart SSL1) ve ekstre edilmesi için evaporatör (Stuart, RE300DB) cihazları kullanılmıştır.

Antimikrobiyal yenilebilir film üretiminde; biyopolimer malzemesi ksantan gam (Adler, M1112A-G5001120007), plastikleştirici olarak gliserol



(KRK Gıda, NO. 422, C3H803), antimikrobiyal madde olarak defne (*Laurus nobilis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*) ve limon (*Citrus limon*) yaprağı ekstraktları, çözücü olarak da % 96'lık şeker kamışından imal edilen etil alkol kullanılmıştır.

### 3.2. Metot

Bu tez çalışması kapsamında doğal antimikrobiyal içeren farklı özelliklerdeki ksantan gam yenilebilir filmleri ile kaplanan alabalık filetoları;

1. Kaplamaya uygun ksantan gam filmi üretilmesi,
2. Defne, fesleğen ve limon yağrağı ekstrakt üretimi,
3. Ekstraktların tek başına ve yenilebilir filmle birlikte uygun antimikrobiyal konsantrasyonun belirlenmesi,
4. Alabalık filetoların doğal antimikrobiyal yenilebilir film ile kaplanması,
5. Kaplanan alabalık filetoların strafor kaplarda ambalajlanarak +4°C'de depolanması gerçekleştirilmiştir.
6. Depolamanın 1, 3, 5, 7. ve 10. günlerinde mikrobiyolojik, duyuşsal ve pH analizlerin yapılarak bozulmaya neden olan bakteriler tanımlanmıştır.

#### 3.2.1. Alabalıkların yenilebilir film kaplanması

##### 3.2.1.1. Ekstraktların hazırlanması

Ekstraksiyon Yöntemi: Su buharı distilasyon yöntemiyle elde edilemeyen bazı bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde bazı çözücü çözenler (hekzan, aseton, etanol, metanol vb.) kullanılarak ekstraksiyon işlemi yapılmaktadır. Bu işlem için ise soksalet veya evaporatörde cihazları kullanılmaktadır. Kullanılan çözücü madde ısıtılarak buharlaşması sağlanmakta, buharlaşan çözücü soğutma sisteminde soğutularak bitki parçalarının konulduğu kısma dönmekte ve bitki içindeki maddeleri çözerek çözülmüş maddelerle birlikte çözücünün içinde toplanmaktadır. Daha sonra çözücü madde döner başlıklı evaporatörde uçurulmakta ve sonuçta cam balon içinde sadece çözülmüş maddeler kalmaktadır (Altundağ ve Aslım, 2005).

Çalışmada ekstraksiyon işlemi için öncelikle öğütülerek aynı partikül boyutlarına getirilen bitkilerden  $50,0 \pm 0,1$  g alınarak 300'er ml etil alkol ilave edilip çözelti hazırlanmıştır. Çözeltide, çözünen madde olarak % 96'lık şeker kamışından imal edilen etil alkol kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler karıştırıcıda 190 rpm hızında 24 saat karıştırılmıştır. Çözeltide bitki partikülleri uzaklaştırılması için filtreden geçirilmiştir (Şekil 3.1). Elde edilen özüt uçurma işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemi 70 °C'de 4 ile 6 saat arasında değişen zaman aralığında gerçekleştirilmiştir (Baytop, 1999). Çalışmamızda kullanılan düzenek Şekil 3.1' de gösterilmiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3.1. Ekstraktların elde edilmesi (a) karıştırma (b) süzdürme (c) evaporatörde uçurma işlemi (d) ekstraktlar

Ekstraksiyon sonucunda ekstraktların % verimi hesaplanarak, etil alkolda çözdürülmüştür. Hazırlanan ekstreler erlenlerde ağzı sıkıca kapatılarak +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### 3.2.1.2. Antimikrobiyal madde içeren yenilebilir kaplama çözeltisinin hazırlanması ve optimizasyonu

Hidrokolloit ksantan gam çözeltisi hazırlanmasında (Sothornvit, et al., 2011) tarafından kullanılan yöntem temel alınmıştır. Film solüsyonu hazırlanırken sırasıyla 0.5, 1 ve 1.5 gr ksantan gam polisakkariti ile 100 ml distile suyu 25±2°C sıcaklığında 1 saat boyunca ısıtmalı manyetik karıştırıcısıyla (Hotplate stirrer, Wissistir MSH-20A, Kore) homojenize edilmiştir. Solüsyona % 30 (w / w) gliserol (KRK Gıda, NO. 422, C3H8O3) ilave edilerek 90±2 °C'de 30 dakika boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir (Martins et al., 2012). McHugh and Krochta (1994) filmin optimizasyon şartları üzerinde çalışmalar yapmışlar ve 90 °C'de 30 dakikalık sıcaklık uygulamasının film formülasyonu için gerekli olduğunu tespit etmişlerdir.

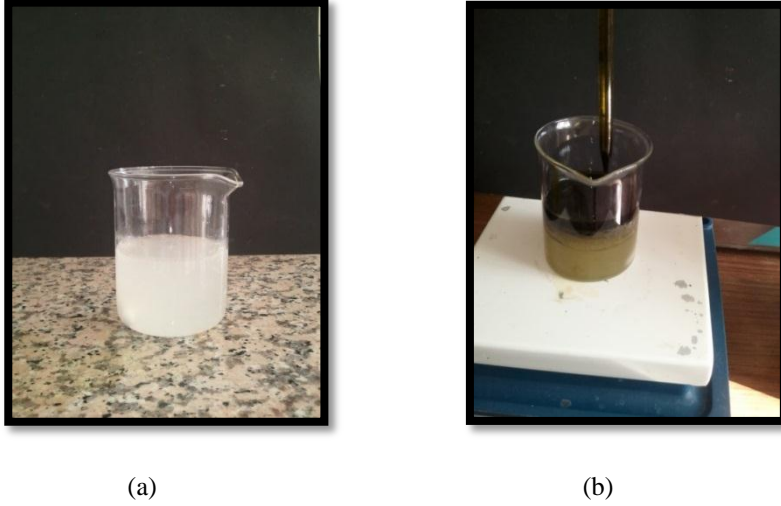
Yenilebilir film solüsyonu için % 0.5, % 1, % 1.5 (w/v) konsantrasyonları hazırlanarak Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'nda ön denemeleri yapılmıştır. Film çözeltilerine aynı konsantrasyonlarda fesleğen, defne ve limon yaprağı ekstraktları ilave edilerek solüsyonun kıvamı ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine denemeler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda uygun bir konsantrasyon belirlenerek balıklara uygulanmıştır.

Çizelge 3.1. Ksantan gam yenilebilir film formülasyonları

	Ksantan gam (w/ v)	Gliserol (w / v)	Karışım hızı (rpm)
DENEME 1	% 0.5	% 30	12000
DENEME 2	% 1	% 30	10000
DENEME 3	% 1.5	% 30	9000

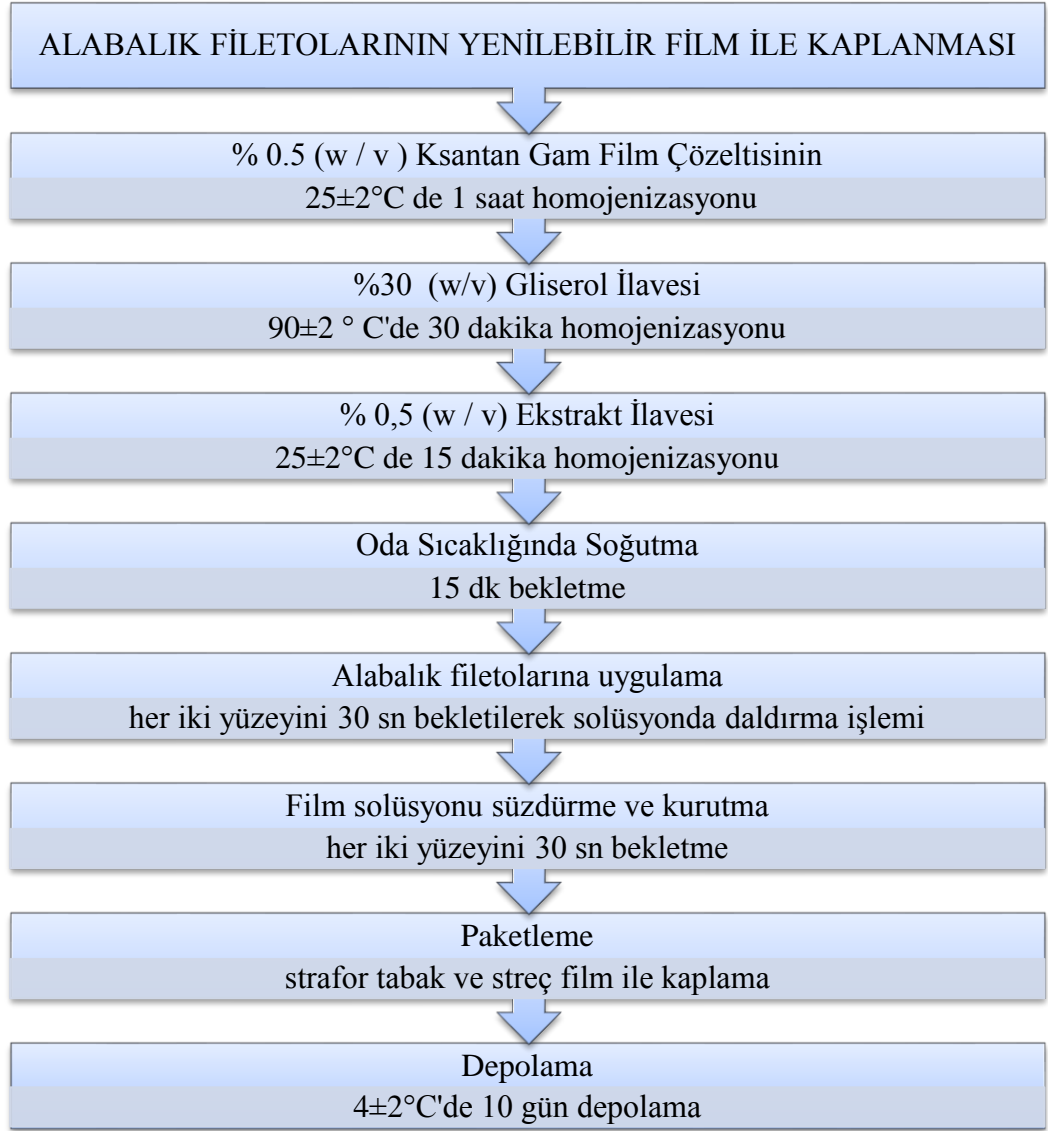
Oluşturulan filmlerde renk, berraklık, yapışma potansiyeli gibi film özellikleri ile ekstraktlarla homojenizasyonu bununla bağlantılı olarak antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Elde edilen filmlerde % 0,5 (w/v) ksantan gam içeren filmin kıvam, renk ve gıdalarda kaplanma özellikleri en iyi oran

olduğu belirlenmiştir. Bu belirlenen konsantrasyon üzerinden antimikrobiyal etkinlik testleri yapılmaya devam edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki ksantan gam yenilebilir filmler Çizelge 3.1 'de verilmiştir. Denemelerde gliserol miktarı sabit tutulup ksantan miktarı değiştirilmesi ile çözeltinin yoğunluğunda farklılıklar gözlenmiştir. Bu doğrultuda farklı karışım hızları uygulanmış, homojen bir karışım için en iyi konsantrasyon belirlenmiştir. Denemeler sonucunda, %0,5 (w/v) ksantan gam film çözeltisinin balıkların kaplama işleminden uygun olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Yenilebilir film optimizasyonu (a) ksantan film çözeltisi (b) ekstrakt ilaveli ksantan film çözeltisi

Alabalık filetoları (kontrol grup) ve doğal antimikrobiyal yenilebilir filmle kaplanmış (3 farklı grup) olarak çalışılmıştır; fesleğen ekstraktı 0.5 gr / 100 ml film çözeltisi [% 0,5 (w / v)] , defne ekstraktı 0.5 gr / 100 ml film çözeltisi [% 0,5 (w / v)] yenilebilir film çözeltisine ilave edilip 15 dakika boyunca karıştırılarak antimikrobiyal içerikli ksantan gam yenilebilir film elde edilmiştir (Şekil 2.2). Ardından filetoları daldırmada öncesinde solüsyonu 15 dakika oda sıcaklığında bekletilerek soğutmaya bırakılmıştır. Ksantan gam yenilebilir film solüsyonunun hazırlanması ve alabalık filetolarında uygulaması Şekil 3.3' de gösterilmiştir.



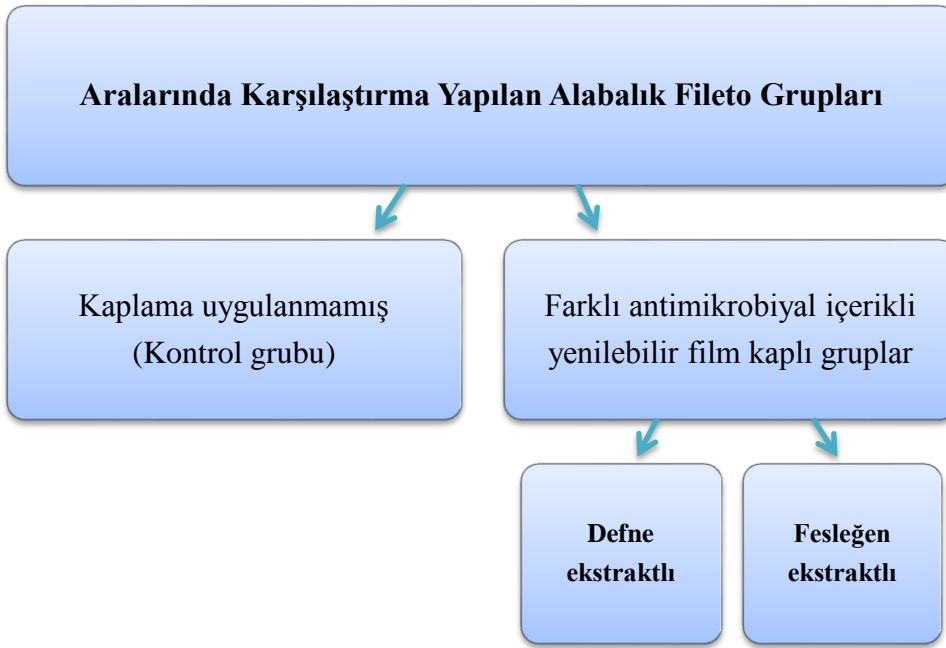
Şekil 3.3. Alabalık filetolarında ksantan gam yenilebilir film kaplama

### 3.2.1.3. Yenilebilir filmlerin balık filetolarına uygulanması

Çalışmada 3 ay boyunca  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş, paketleme gününden bir gün önce  $+4\pm 2^{\circ}\text{C}$  buzdolabında bekletilerek çözdürülmüş alabalık filetoları kullanılmıştır. Alabalık filetoları kaplama işlemi sırasında 30 saniye balığın bir yüzeyi 30 saniye diğer bir yüzeyini bekletmek koşuluyla toplamda 1 dakika boyunca hidrokolloit kaplama çözeltisi içine daldırılmıştır. Yenilebilir film kaplama ardından filetolar 1 dk bekletilerek filmin kurumması ve süzdürülmesi sağlanmıştır (Sothornvit et al., 2011). Balık filetolarının paketlenme işlemleri aseptik koşullarda gerçekleştirilmiş olup bu işlemlerde kullanılan ekipmanlar her

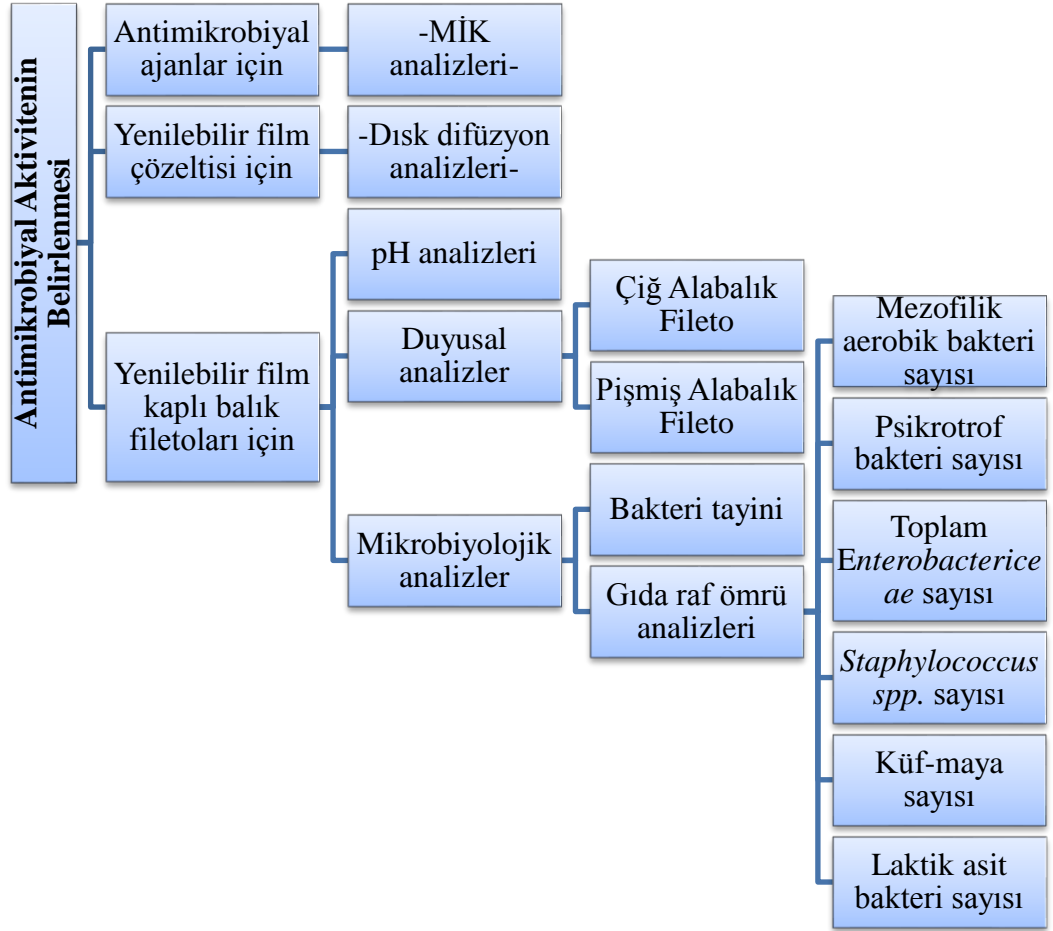
işlemden sonra ateşte yakılarak, steril edilmiş paketleme sırasında steril eldiven kullanılmıştır.

Yenilebilir film kaplanmış alabalık filetoları strofar tabaklara konularak streç filmle kaplanarak paketlenmiştir. Her gruptan 20'şer adet olmak üzere toplam 60 adet paket fileto balık hazırlanmıştır. Çalışmada planlanmış olan grupların şematiği Şekil 3.4 'de gösterilmiştir. Elde edilen paketçikler daha sonra  $4\pm 2$  °C'de buzdolabı içerisine yerleştirilerek bozulma tespit edilene kadar depolanmıştır.

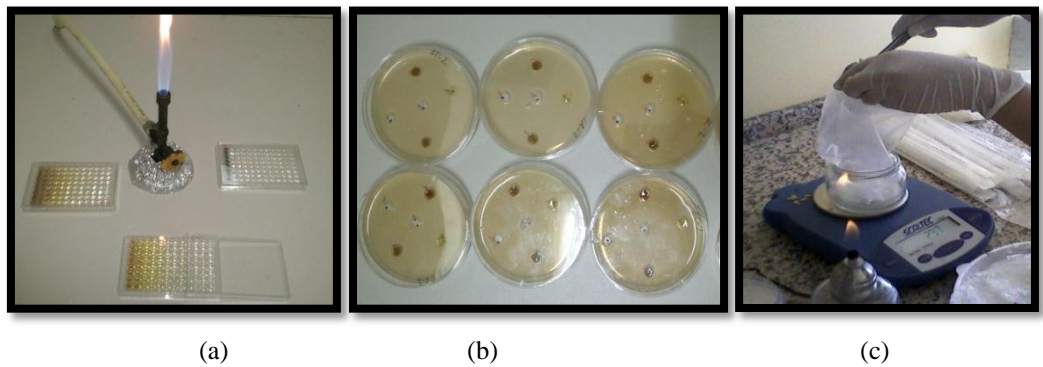


Şekil 3.4. Çalışmada aralarında karşılaştırma yapılan alabalık filetoları

Antimikrobiyal içerikli ksantan gam yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi, bitki ekstraktların mikroorganizmaların üremediği en düşük konsantrasyonun belirlenmesinde MİK yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu iki yöntem sayesinde biyopolimerin ve antimikrobiyal maddelerin tek başlarına antimikrobiyal konsantrasyonları ile ekstrakt ilaveli yenilebilir film materyallerin antimikrobiyal etkinlikleri incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda çıkan değerlere göre konsantrasyon belirlenip filetolara uygulanmıştır. Yenilebilir film uygulanmış alabalık filetolarındaki değişimler mikrobiyolojik (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, toplam *Enterobacteriaceae* sayısı, *Staphylococcus* spp. sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı), duyuşal (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabuledilebilirlik testleri), pH analizleri ve bakteri tayini ile belirlenmiştir. Şekil 3.5 'de çalışmada uygulanan analizler şematize edilmiştir.



Şekil 3.5. Ekstrakt, yenilebilir film ve alabalıkta yapılan analizler



Şekil 3.6. Antimikrobiyal analizler (a) MİK analizi (b) Disk Difüzyon Analizi (c) Mikrobiyolojik Analizler

### 3.2.2. Ekstrakt ve yenilebilir film antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi

Bitki ekstrakt ilaveli ksantan yenilebilir film solüsyonunun antimikrobiyal aktiviteleri Gram pozitif, Gram negatif bakterilere ve mayaya karşı disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemleriyle in vitro olarak gözlemlenmiştir. Analizlerde kullanılan bakteri kültürleri; Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Bakteri türleri Triptik Soy Agar (TSA) da ekilerek 35°C' de 24 ila 48 saat inkübe edilmiş ve canlandırması yapılmıştır (Şekil 3.6).

Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri National Commitee for Clinical Laboratory Standarts [(CLSI), 2012] tarafından önerilen yönteme göre disk difüzyon ve Minimum Inhibisyon Konsantrasyon (MİK) tekniği ile yapılmıştır.

#### 3.2.2.1. Minimum inhibisyon konsantrasyonu testi (MİK)

Bitki ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu [Mininal Inhibition Concentration (MİK)] mikro dilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. MİK testinde antimikrobiyal maddelerin tek başlarına etkileri ile antimikrobiyal aktivitesi belirlenmektedir. Metot, farklı miktarlarda antimikrobiyal madde içeren antimikrobiyal maddelerin, hedef mikroorganizmaların büyüme ortamı ile inkübasyona bırakılması ve 24 saat inkübasyonda bekletilip mikrobiyal büyümenin gözlemlenmesi ilkesine dayanmaktadır. MİK yöntemi ile belirlenen hedef mikroorganizmaların inhibasyonu için gerekli en düşük antimikrobiyal derişimi belirlenmektedir (Appendini and Hotchkiss, 2002).

Aseptik koşullar altında, standart MİK kuyucuklarının ilkine, antimikrobiyal ajan olarak test edilecek olan defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktların ekimi yapılmış, son kuyucuğa dek ardışık seyreltilmişlerdir. Ekstraktlar en son kuyucuğa aktarılmamış ve son kuyucuk pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 37°C'de 24 – 48 saat inkübasyona bırakılan MİK plaklarında, üremeden kaynaklanan bulanıklığın gözlemlenemediği kuyucuk tespit edilmiş ve sonuçların kontrolü için şüpheli olası kuyucuklardan ekim yapılarak sonuçlar elde edilmiştir.



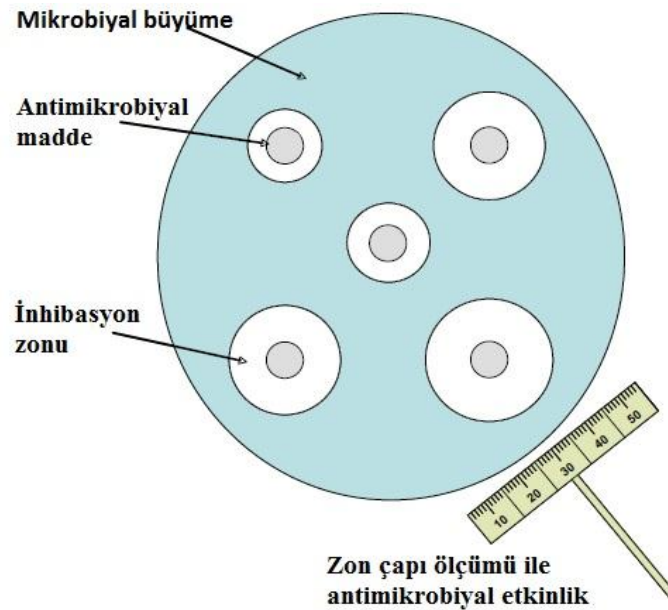
Minimal İnhibitör Konsantrasyonu'nda (MİK) dilüsyon testleriyle, içlerinde denenecek uçucu yağın veya ekstrakt ile denenecek suşta ekim yapıldıktan sonra inkübasyonu izleyerek üremenin olmadığı (Nasar-Abbas et al., 2004) en düşük konsantrasyon (mg/l) saptanmıştır. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve özellikler çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemelerde kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri

MİKROORGANİZMALAR	
<i>Escherichia coli</i> (ATCC® 29998)	Gram -
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Sakai	Gram -
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 29212)	Gram +
<i>Salmonella typhi</i> (CCM® 5445)	Gram -
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC® 29212)	Gram +
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC® 7064)	Gram +
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC® 12228)	Gram +
<i>Candida albicans</i> (ATCC® 10231)	Maya

### 3.2.2.2. Disk difüzyon testi

Disk difüzyon yöntemi, test edilecek mikroorganizmayı içeren katı besiyerindeki boş ve steril 6 mm'lik disklerle mikropipet yardımıyla örneklerin inoküle edilip, besiyeri üzerinde oluşacak mikrobiyal büyümeye karşı direnci belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu yöntemden yararlanılarak test edilecek mikroorganizmanın antimikrobiyal maddelere duyarlılığı veya herhangi bir ortamdaki antimikrobiyal maddenin varlığı belirlenebilmektedir (Ayana, 2007).



Şekil 3.7. Disk Difüzyon zon çapı.

Çalışmamızda hazırlanan besiyerine 20 µl/disk inoküle edilen örnekler 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre içinde filmde varolan antimikrobiyal madde besiyerine difüzlenerak örneğin bulunduğu kuyucuğun çevresinde, mikroorganizma gelişiminin olmadığı bir inhibisyon zonu gözlemlenmiştir (Şekil 3.7). Oluşan bu inhibisyon zonu mikroorganizma gelişiminin engellendiğini ortaya koymaktadır. İnkübasyon sonunda, her bir ekstraktlı yenilebilir film çözeltisi etrafında oluşan bakteri üremesinin olmadığı şeffaf zon çapı (6 mm disk çapı dahil) ölçülerek antimikrobiyal madde etkinliği nicel olarak ifade edilmiştir (Roura et al, 2005).

Araştırmada defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktların 3 ayrı konsantrasyonları analizleri yapılmış ve her bir deneme 3 paralelli olarak çalışılmıştır. Bu 3 ölçüm değerinin ortalaması çap (mm) olarak kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçların ise değerlendirme kriterleri olarak Çizelge 2.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Disk Difüzyon Testi sonuçlarının değerlendirilmesi (Roura et al, 2005)

Zon Çapı (mm)	Etki Şiddeti	Değerlendirme
Çap <8,00	İnhibitör etkisiz	-
9,00 < çap < 14,00	Zayıf inhibitör etkili	+
15,00 < çap < 19,00	Orta inhibitör etkili	++
20,00 < çap	Yüksek inhibitör etkili	+++

### 3.2.3. Yenilebilir film kaplı alabalık filetoların mikrobiyolojik analizleri

Farklı antimikrobiyal ajan içerikli yenilebilir film kaplamaların alabalık filetoları üzerine etkisini değerlendirebilmek için; hiçbir işlem görmemiş (kontrol grubu) ve defne/fesleğen antimikrobiyal maddeleri içeren yenilebilir film kaplanmış gruplarda çalışılmıştır. Paketlenmiş alabalık filetoları depolama boyunca; mikrobiyolojik (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, toplam *Enterobacteriaceae* sayısı, *Staphylococcus* spp. sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı), duysal (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabuledilebilirlik testleri), pH analizleri ve bakteri tayinleri yapılmıştır.

Ambalajlanmış alabalık filetoların mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla analizleri 1, 3, 5, 7, ve 10. günlerde yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için; depolama periyodunun her örnek grubundan aseptik

şartlarda 10 gram örnek alınarak konulmuştur. 90 ml hazırlanan peptonlu su (Merck, 1.07228.0500, Almanya) içerisine örnek konulmuştur. Daha sonra homejenizatörde 1 dakika homojenize edilerek  $10^{-1}$ 'lik dilüsyondan diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Homojenize edilmiş örnekten uygun oranda hazırlanan seri dilüsyonlardan 3 paralel olarak mikrobiyolojik ekimler yapılmıştır (Harrigan ve Mc Cance,1976). Yenilebilir film uygulamaları yüzeyden itibaren bakterileri etkileyen bir kaplama yöntemi olduğu için mikrobiyolojik analizler için yüzeye yakın yerlerden örnekler alınmıştır.

Gıda mikrobiyolojisi ve bakteri tayinleri için Ege Üniversitesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü Gıda Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Her mikrobiyolojik analiz sayımları sonrası bakteri florasından farklı görünümlü suşlar izole edilerek saflaştırılmıştır. Etüvde  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saatlik inkübasyondan sonra elde edilen alt pasajlardan tanımlaması yapılacak olan mikroorganizmaların türlerine uygun ve oksidaz testi sonuçlarına göre API bakteri tanımlama test kitleri (bioMeriux, Fransa) kullanılarak bakteri tayinleri yapılmıştır.

### **3.2.3.1. Toplam bakteri sayısı**

Toplam bakteri sayımı, (PCA) Plate Count Agar (Merck, 1.05463.0500, Almanya) ile dökme plak yöntemi inkübasyon sonunda kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Petriler  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübe edilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır. İnkübasyon sonunda PCA besiyerinde gelişen bütün koloniler "toplam aerobik bakteri" olarak sayılmıştır. Elde edilen sayım sonuçları log kob (koloni oluşturma birimi) / g olarak ifade edilmiştir (Harrigan ve Mc Cance,1976).

### **3.2.3.2. Psikrotrof bakteri sayısı**

Düşük sıcaklık derecelerinde gelişen psikrofil ve psikrotrof bakterilerin sayımı için Plate Count Agar (Merck, 1.05463.0500, Almanya) besi yeri kullanılmış  $7^{\circ}\text{C}$  de 10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde gelişen tüm koloniler toplam psikrotrof bakteri olarak sayılmıştır. Elde edilen sayım sonuçları log kob (koloni oluşturma birimi) / g olarak ifade edilmiştir (Harrigan ve Mc Cance,1976).

### 3.2.3.3. Toplam *Enterobacteriaceae* sayısı

*Enterobacteriaceae* mikroorganizmalarının sayımı için (VRBD-A) Violet red bile dekstroze agar (Merk, 1.10275.0500, Almanya) besiyeri ile çift katlı dökme plak yöntemi kullanılmıştır. Bu besiyerinde gelişen siyaha yakın koyu kırmızı renkli koloniler toplam *Enterobacteriaceae* olarak sayılmıştır (Anonymous, 2005). Koloni sayıları 30°C de 25 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir (Harrigan ve Mc Cance,1976).

### 3.2.3.4. *Staphylococcus* spp. Sayısı

*Staphylococcus* bakterileri için Baird Parker Agar (Merck, 1.05406.0500, Almanya) besiyerinde yayma plak yöntemi kullanılmıştır, 37 °C de sıcaklığında ayarlanan inkübatörde 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Harrigan and McCance, 1976). İnkübasyon sonunda petri kutularında etrafi 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 log kob/g olarak hesaplanmıştır (Anonim, 2000).

### 3.2.3.5. Küf-Maya sayısı

Maya-küf tespiti amacıyla Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar (Merck, 1.16000.0500, Almanya) besiyerine dökme plak yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Üç paralel gerçekleştirilen ekim sonrasında petriyerler 25°C de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen sayım sonuçları log kob (koloni oluşturma birimi) / g olarak ifade edilmiştir (Anonim, 2000).

### 3.2.3.6. Laktik asit bakteri sayısı

Balık örneklerinde laktik asit bakteri sayımı için MRS (De Man, Rogosa Sharpe) Agar (Merk, 1.10660.0500, Almanya) besiyeri kullanılmıştır. Ekim yapılan petriyerler 30 °C'de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır (Baumgart et al. 1986). İnkübasyon sonunda MRS Agar besiyerinde krem renkli, iğ şeklinde (2 ucu sivri) tüm koloniler laktobasil olarak sayılmıştır. Sonuçlara göre mikroorganizma sayısı, standart formül ile log kob/g olarak hesaplanmıştır (Anonim, 2000).

### 3.2.4. Bakteri İzolasyonu ve Bakteri Tanımlaması

Bakteri tayinlerinde, standardize edilmiş sonuçlardan oluşturulmuş veri tabanlarından hazırlanmış API kitleri ile yüksek sayıdaki suşların tanımlanmasında kullanılmakla beraber yeni özellik kazanmış türlerin veya alt türlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Şimdiye kadar bakteri tanımlamalarında kullanılan fermentasyon özellikleri ve API Kit prensibine dayalı biyokimyasal testler tür ve genus bazında ayırım sağlanmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Yaptığımız çalışmada toplam canlı sayısı, *Enterobactericea*, küf-maya ve laktik asit bakterileri mikrobiyolojik analizlerinde bakteri florasından tayinleri yapılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen floradan farklı görülen koloniler PCA besiyerinde geçiş yapılarak saflaştırılmıştır. Tanımlanacak mikroorganizmalar 30°C'de 24 saat inkübe edilerek mikrobiyolojik tekniklere uygun olarak izole edilmiş ve alt pasajı oluşturulmuştur. Bu pasajlardaki taze kültürlerden (max. 18-24 saatlik) alınarak tanımlamaları yapılmıştır.

#### 3.2.4.1. Toplam mezofilik bakteri tayini (API 20 NE)

API 20 NE (Biomérieux, 20 050, Fransa), Enterik olmayan, zor üremeyen Gram-negatif çomakların (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas* gibi.) tanımlanması için kullanılan bir sistemdir. API 20 NE sribi, dehidrate madde ve substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Geleneksel testler ortamın yeniden hazırlanmasını sağlayan bir fizyolojik bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. Asimilasyon testleri minimal madde ile inoküle edilir ve bu substratları kullanabildiklerinde bakteriler çoğalırlar. İnkübasyon sırasında metabolizma sonucu spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişimi oluşmaktadır (Biomérieux, API 20 NE, Fransa, 2004). İşlem basamaklarına göre API 20 NE sribine örneklerin inokülasyonundan ardından 24 saat ( $\pm 2$  saat) süreyle 29°C  $\pm$  2°C de inkübasyonuna bırakılarak sonuçlar kaydedilmiştir. İnkübasyon sonrasında oluşan reaksiyonlar, belirtilen okuma tablosu'na göre okunmuş ve tanımlama bilgisayar tanımlama programı kullanılarak tespit edilmiştir.

#### 3.2.4.2. *Enterobactericeae* tayini (API 20 E)

API 20 E (Biomérieux, 20 100, Fransa), *Enterobacteriaceae* ve zor üremeyen Gram negatif çomaklar için standart hale getirilmiş tanımlama

sistemidir. API 20 E stribi, dehidrate substratlar içeren 20 mikrotüpten oluşmaktadır. Bu testler ortamın yeniden hazırlanmasını sağlayan bir bakteriyel süspansiyon ile inoküle edilir. İnkübasyon sırasında, metabolizma sonucu spontan olarak ya da reaktiflerin eklenmesiyle renk değişimi oluşmaktadır (Biomérieux API 20 E, Fransa, 2006). 18-24 saat süreyle  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  inkübasyonu sonucunda oluşan reaksiyonlar, okuma tablosuna göre okunup ve tanımlanmış, bilgisayar ortamında tanımlama programı kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir.

### **3.2.4.3. *Staphylococcus spp.* tayini (API 20 STAPH)**

API Staph (Biomérieux, 20 500, Fransa), *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Kocuria* türleri için bir tanımlama sistemidir. API Staph, dehidrate test maddeleri içeren 20 mikrotüp içeren bir stripten oluşmaktadır. Bu mikrotüpler, testleri sulandıran, API Staph medyumunu ile hazırlanmış bir bakteri süspansiyonu ile ekilir. İnkübasyon sırasında, metabolizma kendiliğinden veya ilave testlerle açıklanan renk değişiklikleri meydana gelmektedir. 18-24 saat süreyle  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  'de inkübasyon sonunda reaksiyonlar okuma tablosuna göre okunup, bilgisayar tanımlama programı kullanılarak bakteri tanımlaması yapılmıştır (Biomérieux API 20 STAPH, Fransa, 2002).

### **3.2.3.4. Maya tayini (API 20 C AUX)**

API 20 C AUX (Biomérieux, 20 210, Fransa), en sık karşılaşılan mayaların kesin olarak tanımlanmasını sağlayan bir sistemdir. API 20 C AUX stripi, 19 asimilasyon testinin performansını gösterebilen ve dehidrate substratlar içeren 20 küpülden oluşmaktadır. Küpüller yarı-katı bir minimal madde ile inoküle edilir ve mayalar karbon kaynağı olarak her bir substratı kullanma kapasitesine sahip olduklarında çoğalabilirler (Biomérieux API 20 C AUX, Fransa, 2005). 48-72 saat ( $\pm 6$  saat) süreyle  $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  'de inkübasyonları sonucunda oluşan reaksiyonlar, kontrollerdeki çoğalma ile karşılaştırılarak okunmuş ve bilgisayar tanımlama programı kullanılarak tanımlama yapılmıştır.

### 3.2.3.5. Laktik asit bakterileri tayini (API 50 CH, API 50 CHL)

API 50 CHL Medium (Biomérieux, 50 410, Fransa) ve API 50 CH (Biomérieux, 50 300, Fransa) sribi, *Lactobacillus* ve ilişkili cinslerin identifikasyonu için tanımlanmasını sağlayan bir sistemdir. API 50 CH sribi substratların fermentasyonunu kullanan 50 mikrotüp içerir. Fermentasyon testleri substratları sulandıran API 50 CHL Medium ile ekilir. Inkübasyon sırasında, fermentasyon asidin anaerobik üretimi ile ve seçilen besiyerinde bulunan pH indikatörü tarafından saptanan tüpte renk değişimi ile ortaya çıkar. İlk tüp, substrat içermez ve bir negatif kontrol olarak kullanılır (Biomérieux API 50 CH, Fransa, 2002). 24-48 saat ( $\pm 6$  saat) süreyle  $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  C'de inkübasyonları sonucunda oluşan reaksiyonlar, kontrollerdeki çoğalma ile karşılaştırılarak okunmuş ve bilgisayar tanımlama programı kullanılarak tanımlama yapılmıştır.

### 3.2.5. Duyusal analizler

Yenilebilir film kaplanmış ve kaplanmadan paketlenmiş alabalık filetoların çiğ ve pişmiş olarak duyusal analizleri Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim görevlilerinden oluşan 5 deneyimli panelist tarafından değerlendirilmiştir. Örnekler panelistlere rastgele sıralama yapılarak sunulmuştur. Analiz günlerinde örneklerin her biri farklı kodlanarak sabah 10.00-12.00 saatlerin arasında duyusal değerlendirmeleri yapılmıştır.

#### 3.2.5.1. Pişmiş Alabalık Fileto Kabul Edilebilirlik Testi

Pişmiş alabalık filetoların duyusal analizi Paulus et al. (1979) yöntemine göre yapılmıştır. Balık filetoları yaklaşık 3 dakika mikrodalga fırında pişirildikten hemen sonra panelistlere sunulmuştur. Duyusal değerlendirmede panelistler pişmiş örnekleri 9'dan 1'e kadar olan tanımlayıcı kriterler ile renk, koku, lezzet, doku yapısı (tekstür) ve genel kabul edilebilirlik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmede 9'lu hedonik skala (1:çok kötü, 9:çok iyi) kullanılmıştır. 9 tamamen taze balığı, 1 ise tamamen bozulmuş balığı göstermektedir (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Pişmiş alabalık filetoların duyuşal analiz formu (Paulus et al., 1979)

	9 ÇOK İYİ	8 OLDUK ÇA İYİ	7 İYİ	5 YORU MSUZ	4 BİRAZ KÖTÜ	3 KÖTÜ	2 OLDUK ÇA KÖTÜ	1 ÇOK KÖTÜ
RENK								
KOKU								
LEZZET								
DOKU YAPISI								
GENEL KABUL EDİLEBİLİRLİK								

### 3.2.5.2. Çiğ Alabalık Filetoları Genel Beğeni ve Kabul Edilebilirlik Testi

Çiğ alabalık filetoların duyuşal değerlendirmesi Bonilla et al., (2007) yaptığı çalışmasına göre Kalite İndeks Metoduna (QIM) kriter alınarak hazırlanmıştır. Her bir parametre için; "0" çok taze balık etini gösterirken, daha yüksek puanlar daha düşük kaliteyi ve bozulmayı belirtmektedir (Çizelge 3.5). Beğeni testinde örnekler panelistlere sunularak genel beğeni ve kabul edilebilirlik açasından değerlendirmeleri istenmiştir (Del-Valle et al., 2005).



Çizelge 3.5. Çiğ alabalık filetoların duyuşal analiz formu

KALİTE PARAMETRELERİ	TANIMLAMALAR	ÖRNEKLER		
		1	2	3
TEKSTÜR	SERT	0	0	0
	HAFİF YUMUŞAK	1	1	1
	ÇOK YUMUŞAK	2	2	2
MUKUS	AZ VE SAYDAM	0	0	0
	ÇOK VE HAFİF SARIMSİ	1	1	1
	AZ VE KOYU SARI	2	2	2
SU	SU SIZINTISI YOK	0	0	0
	SU SIZINTISI VAR	1	1	1
KOKU	TAZE VE NÖTRAL	0	0	0
	YOSUNUMSU	1	1	1
	EKŞİMİŞ SÜT	2	2	2
	ASETİK VE AMONYAK KOKUSU	3	3	3
RENK	BEYAZ VE KAHVERENGİ	0	0	0
	SARIMSİ VE KOYU KAHVERENGİ	1	1	1
PARLAKLIK	SAYDAM, PARLAK	0	0	0
	MAT	1	1	1
PARÇALANMA DURUMU	YOK	0	0	0
	HAFİF PARÇALANMIŞ	1	1	1
	BİRAZ PARÇALANMIŞ	2	2	2
	YOĞUN PARÇALANMIŞ	3	3	3
EKSTRAKT KOKUSU	YOK	0	0	0
	HİSSEDİLİR	1	1	1
	YOĞUN	2	2	2

Balık filetosunu satın alırdınız mı?

Evet.....

Hayır.....

Hangi balık filetosunu tercih ederdiniz?

.....

### 3.2.6. pH analizleri

Yenilebilir film kaplı alabalık fileto örneklerinin pH değeri (Hanna model pH metre) ile tespit edilmiştir. Analizler 3 paralelli olarak yapılmıştır.

### 3.2.7. İstatistiksel analizler

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde; grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı tek yönlü Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) uygulanarak araştırılmıştır. ANOVA istatistik analizi verilerdeki farklılıkları belirlemek için uygulanmıştır ( $P < 0.05$ ). Ortalamalar arasındaki ana faktör düzeyleri arasında anlamlı farklılıklar, zıtlıklar (Tukey testi) olup olmadığını tespit etmek için yapılmıştır. Temel faktör düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığını keşfetmek için ortalamalar arasındaki karşıtlık belirlenmesi için (Tukey testi) yapılmıştır. Ayrıca veriler standart sapma kullanılarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada antimikrobiyal madde olarak defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktları içeren ksantan gam yenilebilir filmleri üretilmiş ve antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir. Limon yaprağı ekstraktın ve yenilebilir filmde kullanımıyla düşük antimikrobiyal etkinliğinden dolayı alabalıklara kaplama işlemi uygulanmamıştır. Alabalık filetoları defne ve fesleğen ekstraktlarıyla üretilen yenilebilir filmlerle kaplanmıştır. Ekstraktların ve antimikrobiyal filmlerin maksimum antimikrobiyalite değerleri, ardından bu filmlerle kaplanmış alabalık filetolarının mikrobiyolojik değişimleri, çiğ ve pişmiş olarak duyuşal değerleri, spesifik bakteri tanımlamaları ve pH değerleri belirlenmiştir.

Üretilen filmler arasından seçilen % 0,5 (w/v) konsantrasyonunda ksantan filmlere % 0,5 (w/v) defne ve fesleğen ekstrakt ilave edilerek alabalık filetolarına uygulanmış ve depolama süresince filmlerin antimikrobiyal etkinliği test edilmiştir. Fakat limon yaprağı ekstraktının MİK ve disk difüzyon analizleri sonucunda antimikrobiyal etkinliğin düşük çıkmasından dolayı balıkta yenilebilir film uygulaması yapılmamıştır.

#### 4.1.EKSTRAKSİYON VERİMİ

3 tekrarlı olarak yapılan 50'şer g'lık defne, fesleğen ve limon yaprağın ekstraktların ekstraksiyon verimi çizelge 4.1'de gösterilmiştir. En yüksek verim öncelikle limon yaprağında, ardından defne ve fesleğen bitkilerinde gözlemlenmiştir. Yapılan 2 deneme sonunda bitkilerin verimlerinin birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitki ekstraksiyon verimleri

		Elde Edilen Kuru Özüt	% Verim
1.Deneme	Fesleğen	2.9	5.8
	Defne	3.59	7.8
	Limon yaprağı	4.65	9.3
2.Deneme	Fesleğen	4.42	4.4
	Defne	8.34	8.3
3.Deneme	Fesleğen	5.89	5.9
	Defne	9.42	9.4

Ekstrakt verimleri incelendiğinde fesleğen için % 4-6, defne için % 7,5-9,5 arasında değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Limon yaprağı ekstraktının ise %9,3 ile en yüksek verime sahiptir.

Ekstraktlar arası verim değişimlerin sebebi olarak farklı bitkilerin organik çözümlerdeki farklı çözünürlükleri, maddelerin parçacık büyüklüğü, yoğunluğu ve içeriğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda aynı grubun farklı denemelerindeki ekstraksiyon verimlerinde önemli farklılık görülmezken ( $p>0,05$ ), gruplar arası farklar önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

Vural vd. (2008), kekik (*Thymus argaeus*) ekstraksiyonlarının 5 farklı organik çözümler kullanılarak antimikrobiyal özellikleri üzerine yaptığı çalışmada kuru madde ağırlığı esas alındığında kekikğin (*Thymus argaeus*) metanol ekstraksiyonunun diğer organik çözümlerden en az 3 ila 5 kat daha fazla verimli olduğu belirtilmiştir. Ekstraksiyon işleminin en uygun şartlarda ve istenilen en yüksek verimle gerçekleşmesi seçilen parametrelere göre değişmektedir. Bu parametrelerin en önemli olanları; sıcaklık, basınç, çözümler, parçacık büyüklüğü, süre, karıştırma hızı ve karıştırıcı tipi, nem, yüzey aktif madde etkisi, materyalin por özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Başer, 2010).

## 4.2.ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ANALİZLERİ

Defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktların ve bu maddeleri içeren ksantan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinlikleri Bölüm 3.2.3’de belirtilen MİK ve Disk Difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Analizlerden elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

### 4.2.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu Testi (MİK)

Bu çalışmada defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktlarının MİK değeri için kullandığımız *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7 sakai, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida albicans* bakteri ve mayalara karşı oluşturdukları antimikrobiyal aktivite sonuçları çizelge 4.2 ‘de verilmiştir.

Bitki ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde; defne için bakteriler arasında *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* üzerine önemli derecede etkili ( $p<0,05$ ), fesleğen ekstraktı için tüm bakteriler için etkisinin aynı değerlerde olduğu gözlenmiştir ( $p>0,05$ ). Fesleğen ve defne grupları arasında önemli farklılıklar gözlemlenmezken ( $p>0,05$ ), limon yaprağı ile aralarındaki istatistiksel açıdan farkın önemli olduğu bulgulanmıştır ( $p<0,05$ ).

Mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK sonuçlarında fesleğen ekstraktı için tüm bakterilerde aynı konsantrasyon derecesinde (0,73mg/ml) etkili olduğu görülmüştür. Defne ekstraktı için ise tüm bakteriler için etkilecek olan minimum inhibisyon değerinin 0,90 mg/ml olduğu tespit edilirken, limon yaprağı ekstraktı için bu değer 4,65 mg/ml değeri olduğu edilmiştir. Limon yaprağı ekstraktı en yüksek verime sahip olmasına rağmen MİK sonuçları doğrultusunda antimikrobiyal etkinliği en düşük materyal olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan gıdada antimikrobiyal etkinliği sağlayabilmek için çok miktarda ekstrakt ve limon yaprağı ihtiyacını gerektirecek fakat gıdada daha düşük antimikrobiyal etkinliği olacağı için limon yaprağı ekstraktı antimikrobiyal ajan olarak tercih edilmemiştir.

Çizelge 4.2. Defne ve fesleğen ekstraktların aktimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizmalar	DEFNE EKSTRAKTI (mg/ml)	FESLEĞEN EKSTRAKTI (mg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	<b>0,90</b>	<b>0,73</b>
<i>Escherichia coli</i> <i>O157:H7 Sakai</i>	0,45	0,73
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,23	0,73
<i>Salmonella typhi</i>	0,23	0,73
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,11	0,73
<i>Bacillus cereus</i>	0,11	0,73
<i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>	0,23	0,73
<i>Candida albicans</i>	0,11	0,73

Tüm ekstraktların en yüksek konsantrasyonlarında *E. coli* ve ardından *E. coli* O157:H7 *sakai* bakterilerini etkilediği görülmüştür. Bunun sonucunda bu iki bakterinin üremesinin engellemesi için yüksek konsantrasyonların gerekli olduğu tespit edilmiştir. Fakat fesleğen bitki ekstraktının tüm bakteriler için aynı engelleyici etkisinin olmasının bitkinin yüksek antimikrobiyal etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Akgül vd. (1989), nane, kimyon, rezene ve defne uçucu yağlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*'i engellediğini belirtmişlerdir.

Hammer et al. (1999), yaptıkları çalışmada bitki ekstraktları mikrobiyal aktiviteyi inhibe edici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, limon otu yağı, kekik (oregano) ve defne ekstraktının %2 (v/v)'nin altındaki miktarlarda, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica subsp. enterica serotip typhimurium*, *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus aureus* mikroorganizmaların tümü üzerine inhibe edici etkiye sahip oldukları belirtilmiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyonu testi uygulanarak 20 bitki ekstraktın *C. albicans*, *Staph aureus* ve *E. coli* karşı aktivite için, en düşük minimum inhibisyon konsantrasyonu kekik yağında; %0.03 (v/v) olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Özcan ve Sağdıç (2003), yaptıkları çalışmada 16 bitki (anason, rezene, kimyon, adaçayı, fesleğen, dereotu, defne, nane, mercanköşk, pickling herb, biberiye, dalaşia adaçayı, savory (kekik), sumak, thyme (kekik), seafennel) ekstraktlarının antibakteriyal aktivitelerini 15 bakteri (*Bacillus amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis* var. *niger*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*) üzerinde test etmişlerdir. Sonuç olarak anason, kimyon, mercanköşk, savory (kekik), thyme (kekik) bakteriler üzerinde antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. İnkübasyon süresince tüm bakteriler üzerinde en yüksek antibakteriyal etkinin mercanköşk ve savory (kekik) olduğu, anason, kimyon ve thyme (kekik) ekstraktların ise ancak bakterilerin bir kısmı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Diğer bitki hidrosollerinin ise test edilen bakteriler üzerinde antibakteriyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, sarımsak yağı ilave edilen kitosan filmlerde *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus*. türlerine karşı güçlü antimikrobiyal etkiye sahipken *E. coli* ve *S. typhimurium* türlerine karşı daha zayıf antimikrobiyal etki göstermiştir. Sarımsak yağı miktarı arttıkça antimikrobiyal etki de arttığı bildirilmiştir (Pranoto et al., 2005).

Çenet vd. (2006), defne ve zencefil uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini disk difüzyon metodu ile *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas pyocyaneus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces fragilis* mayaları üzerinde test etmişlerdir. Çalışma sonucunda bitki uçucu yağlarının test mikroorganizmaları üzerine farklı değerde antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada yeşil çay ekstraktın antimikrobiyal etkisinin *P. phosphoreum*, *S. putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Vibrio parahaemolyticus* gibi gram negatif bakterilerde etkili bulunurken (López de Lacey, 2014), başka bir çalışmada ise *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *L. Monocytogenes* gibi gram pozitif mikroorganizmalar üzerine etkili bulunmuş olup bunun yanı sıra *E. coli* ve *Salmonella enterica* gibi gram negatif mikroorganizmalar üzerine etkili olmadığını tespit etmişlerdir (Chiu and Lai, 2010).

Önceki yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere, MİK değeri mikroorganizma çeşidi ve sayısı, besiyeri bileşimi ve pH sı, inkübasyon süresi ve

sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir. MİK testinden farklı antimikrobiyal maddelerin etkinliklerinin ya da farklı mikroorganizmaların aynı antimikrobiyal maddeye karşı duyarlılıklarının karşılaştırılmalarında yararlanılabilmektedir (Ayana, 2007).

Elde ettiğimiz defne ve fesleğen ekstraktların MİK analizleri sonucunda (sırasıyla 0,9 ve 0,73 mg/ml) ortak ve maksimum antimikrobiyal aktivite değeri olarak 1 mg / ml seçilmiş, yenilebilir film çözeltisinde %0,1 (g/100 ml) ekstraktlar kullanılmıştır. Limon yaprağı ekstraktın ise 4,65 mg/ml olarak bulunmuş olup, antimikrobiyal etkinliğin düşük olduğu belirlenmiştir.

#### 4.2.2. Disk Difüzyon Testi

Antimikrobiyal madde içeren ksantan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinliği, Bölüm 3.2.3.2 de belirtilen disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu yöntem ile *Escherichia coli*, *Escherichia coli O157:H7 Sakai*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida albicans* mikroorganizmaların ekildiği petrilere, oyuk içine inoküle edilen maddelerin etrafında oluşan zon çapları ölçülerek tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda öncelikle % 1.5 ve %1 (w/v) oranında ksantan gam ve sabit miktarda (%30 w/w) gliserol kullanılarak formalize edilen (Deneme 1 ve Denem 2) ksantan hidrokolloit film çözeltisi analiz edilmiştir. Film çözeltisine 100 µl/ ml ve 250 µl/ ml ranında defne, fesleğen ve limon yaprağı ekstraktları konularak hazırlanan film çözeltilerinin ve antimikrobiyal madde ilavesiz film çözeltisinin analizleri yapılmıştır. Bu denemelerin sonucunda; film çözeltisinin katı kıvamından kaynaklı ekstraktlar ile homojen karışmayıp, sağlıklı antimikrobiyal sonuçların alınmadığı gözlemlenmiştir. Ardından kaplama için ve homojenizasyonu açısından en uygun olan % 0.5 w/v ksantan gam ve %30 w/w gliserol (Deneme 3) yenilebilir film çözeltisi çalışılmıştır. Film çözeltisine 500 µl/ ml, 250 µl/ ml ve 100 µl/ ml antimikrobiyal maddeleri konularak film çözeltisinin analizleri yapılmıştır. Limon yaprağı ekstraktın minimum inhibisyon değeri çok yüksek (4,65 mg/ml) bulunmuş olup, antimikrobiyal aktivitesi için yüksek konsantrasyonlar gerekeceği için yenilebilir film içinde gıdalara uygulamamıştır. Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraksiyonlarıyla hazırlanmış ksantan yenilebilir filmlerin disk difüzyon testinden elde edilen değerleri çizelge 4.3.'de belirtilmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda biyopolimer olarak kullandığımız ksantan gam çözeltisin de antimikrobiyal özelliğine bakılmış, fakat çalışılan bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Flores et al., 2010 ksantan gam ve potasyum sorbant yenilebilir filmi ile gliserol içerikli tapyoka nişastasası yenilebilir filmin üretmişler, çalışma sonucunda onlarda ksantan gam filmin antimikrobiyal etkinliğinin olmadığı, mikrobiyal negatif etki göstermediğini bunun yanısıra iyi bir bariyer görevi gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.3. Defne ve fesleğen ekstraktlı ksantan gam film çözeltisinin mikroorganizmalar üzerine oluşturduğu zon çapları (mm)

	DEFNE EKSTRAKTLI (mm)			FESLEĞEN EKSTRAKTLI (mm)		
	A 500 µl/ml	B 250 µl/ml	C 100 µl/ml	D 500 µl/ml	E 250 µl/ml	F 100 µl/ml
<i>Escherichia coli</i>	12	-	-	15	14	-
<i>Escherichia coli O157:H7 Sakai</i>	16	14	10	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	15	13	14	13	12
<i>Salmonella typhi</i>	21	14	11	17	14	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	15	12	-	12	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	15	14	11	13	12	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	13	11	-	11	-	-

Çalışmada disk difüzyon analizleri 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Her bir çalışma için yenilebilir film çözeltisi sabit tutulurken antimikrobiyal madde miktarı 3 farklı konsantrasyonlarda ekstrakt kullanılarak çalışılmıştır. Buna göre artan konsantrasyonlara bağlı olarak (sırasıyla 100 µl/ml, 250 µl/ml ve 500 µl/ml) bakterilerde etki değerinin (disk difüzyon çaplarının) önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (p<0,05).

500 µl/ml konsantrasyonda hazırlanan defne ekstraktlı filmin 21 mm çapında oluşturduğu inhibisyon çapının oluşturarak *S. typhi*' e karşı en yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın *E. coli*' ye karşı 12 mm ile en düşük antimikrobiyal etkiyi göstermiştir. Fesleğen ekstraktlı film ise 17 mm çapı ile 500 µl/ml konsantrasyonunda yine *S. typhi* bakterisine karşı en yüksek, 11 mm ile *C.*



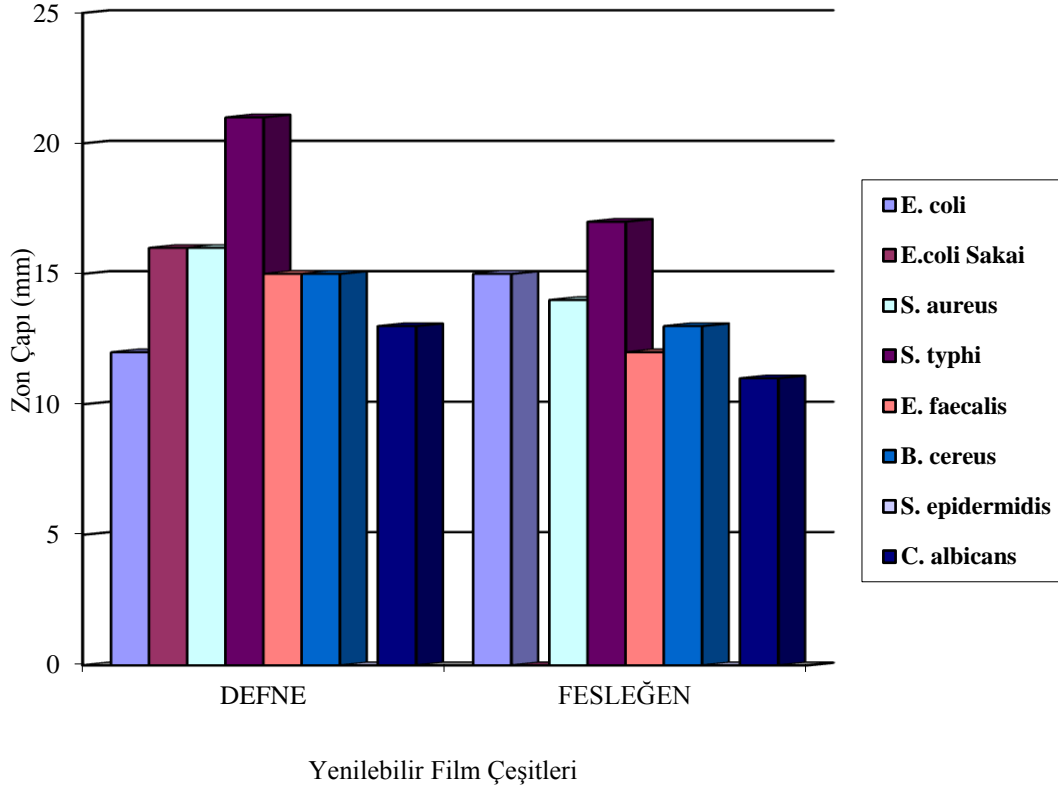
*albicans*' a karşı en düşük antimikrobiyal etki göstermiştir. Oluşan şeffaf zon ölçümleri MİK sonuçlarıyla bağlantılı olarak değişimler gözlemlendiği belirlenmiştir. Limon yaprağı ekstraktlı film çözeltisinin MİK sonuçlarında yüksek oranda ekstrakt gerektiğinden, disk difüzyon sonuçlarında tam olarak şeffaf zon oluşumu görülmemiştir. Yalnızca 500 µl/ml konsantrasyonunda *S. aureus* (12 mm), *S. typhi* (12 mm) ve *B. cereus* (11 mm) bakterilerine karşı en iyi antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir. *S. epidermidis* bakterisinde hiçbir antimikrobiyal etkinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu analizler sonucunda da limon yaprağı ekstraktının yeterli antimikrobiyal etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.

Çalışmada denenen tüm bakterilere karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösteren 500 µl/ml konsantrasyonlu defne ekstraktlı yenilebilir film çözeltisi göstermiştir. Filmin *S. typhi*' e karşı en yüksek, *E. coli*' ye karşı en zayıf inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sonuçların defne ekstraktı MİK analizlerinde tespit edilen farklı ve düşük konsantrasyon değerlerinden kaynaklandığı ve birbiriyle uyumlu sonuçları olduğu bulgulanmıştır. *E. coli* 'de 12 mm, *E. coli* O157:H7 Sakai 'de 16 mm, *S. aureus* 'da 16 mm, *S. typhi* 'de 21 mm, *E. faecalis* 'te 15 mm, *B. cereus* 'da 15 mm *C. albicans* 'da 13 mm'lik yaklaşık ortalama zon çapları ölçülmüştür.

Fesleğenden elde edilen ekstraktlı filmde 500 µl/ml konsantrasyonunda defne ekstraktlı filmde olduğu gibi yine *S. typhi* bakterisine karşı en yüksek, fakat *C. albicans*' a karşı en zayıf derecede inhibitör etki göstermiştir. Zon çapları *E. coli* 'de 15 mm, *S. aureus* 'da 14 mm, *S. typhi* 'de 17 mm, *E. faecalis* 'te 12 mm, *B. cereus* 'da 13 mm *C. albicans* 'da 11 mm olarak ölçülmüştür.

Yapılan çalışmaya göre limon yaprağı ekstraktın antimikrobiyal etkinliği için MİK değerleri (4.65 mg/ml) için hem yüksek konsantrasyonun gerekli olduğu hem de yenilebilir film içinde kullanıldığında antimikrobiyal etkisinin diğer ekstraktlara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Limon ekstraktlı yenilebilir film çözeltisinin yalnızca *S. aureus* (12 mm), *S. typhi* 'de (12 mm) ve *C. albicans* 'da (11 mm) etkili olduğu, diğer bakteriler üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir. Bunun sebebi olarak; yüksek konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkinlik gösterecek olan limon yaprağı ekstraktın film çözeltisinde kullanımıyla daha da seyreltilmiş olup, bakteriler üzerine etkinliğinin daha düşük olmasıdır. Bu sebepten dolayı alabalık filetoalarında limon yaprağı ekstraktlı yenilebilir film uygulaması yapılmamıştır.

Test mikroorganizmalarına karşı farklı ekstrakt ilave edilmiş yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitesini gösteren inhibisyon zonları şekil 4.1. de görülmektedir.



Şekil 4.1. Test mikroorganizmalarına karşı farklı bitki ekstrakt ilaveli yenilebilir filmlerin inhibisyon zonları

Disk düfzyon yöntemiyle; ksantan hidrokolloit film çözeltisine eklene antimikrobiyal maddelerin konsantrasyonları artırılarak homojen bir karışım sağlanmasıyla mikroorganizmalara etkinliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalardaki antimikrobiyal filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin farklı olması, kullanılan antimikrobiyal maddelerin miktarına, çeşidine, filmdeki diğer bileşimlerle etkileşimine ve mikroorganizma türüne bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Tüm veriler doğrultusunda, ekstrakt konsantrasyonu düşükçe antibakteriyal etkinin azaldığı; bu da inhibitör etkinin konsantrasyon ile doğrudan bağlantılı olduğunu göstermektedir. Bu amaçla çalışmamızda uygun konsantrasyon olarak 500 µl/ml seçilmiştir. Bu da %0,5 (v/v) [0,5 ml ekstrakt/100 ml film çözeltisi] olmaktadır. Bitki ekstrakt ilaveli yenilebilir filmlerin 500 µl/ ml konsantrasyonda uygulanması ile elde edilen zon çaplarının şiddet değerlendirmesi Çizelge 4.4. verilmiştir.

Çizelge 4.4. Bitki ekstraktların antimikrobiyal etki şiddetleri

ANTİMİKROBİYAL YENİLEBİLİR FİLMER	ETKİ ŞİDDETİ							
	<i>E. coli</i>	<i>E.coli Sakai</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. albicans</i>
Defne	+	++	++	+++	++	++	-	+
Fesleğen	++	-	+	++	+	+	-	+

Pranoto et al. (2005) yaptıkları çalışmada sarımsak yağı, potasyum sorbat, nisin ilave edilen kitosan filmlerin *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *B. Cereus* üzerine antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. 17 mm çapında filmlerdeki 100-400 µl sarımsak yağı/g kitosan, *S. aureus* için 20,4-32,5 mm aralığında inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Film çözeltisine eklenen potasyum sorbat/g kitosan ve nisin/g kitosan, *S. aureus* için sırasıyla 19,6-22,5 mm ve 22,6-26,5 mm inhibisyon zonu oluşturduğu belirtilmiştir.

Zivanovic et al., (2005) yaptıkları çalışmada; anason, fesleğen, kişniş, kekik esansiyel yağlarını içeren kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 ye karşı ve işlenmiş et ürünlerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Esansiyel yağların tek başlarına ve film içerisinde aynı antimikrobiyal aktiviteyi gösterdikleri gözlenmiştir. Bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri sırasıyla; kekik >> kişniş> fesleğen> anason olarak tespit edilmiştir. Test mikroorganizmalarına karşı en yüksek etki kekik esansiyel yağı olduğunda %1 ve %2 (v/v) konsantrasyonları seçilerek kitosan filmler üretilip, salam dilimlerine uygulanmıştır. Muhafazanın sonunda yapılan mikrobiyolojik analizlerde kitosan filminin *L. monocytogenes* sayısını 2 log kadar; % 1 ve % 2 kekik esansiyel yağı içeren kitosan filmlerinin ise 3.6 ve 4 log kadar azalttığı saptanmıştır.

Sarıkuş (2006) yaptıkları çalışmada kekik, sarımsak ve biberiye yağı ilave edilen peyniraltı suyu proteini (PASP) filmlerin *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. enteridis*, *L. monocytogenes* ve *L. plantarum* üzerine antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Biberiye yağı (68,3-273,2 mg/g film) içeren PASP filmler hiçbir mikroorganizma üzerine antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Kekik yağı içeren PASP filmler *S. aureus* için 10,8-11,4 mm inhibisyon zonu oluştururken, sarımsak yağı içeren PASP filmler sırasıyla 9,24 ve 9,38 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. PASP filmlere ilave edilen kekik yağı, *S. aureus* üzerine sarımsak yağından daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Poovarodom et al., 2009 fingerroot, sarımsak, karanfil ve tarçın bitki ekstraktların MİK değerlerinin tespit edip en yüksek aktiviteye sahip olan tarçın ve karanfil ekstraktları karragenan filmlerde ilave ederek MİK sonuçlarından elde edilen sonuçların 5 ve 10 katı değeri yenilebilir filmde uygulanarak disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. MİK yönteminden elde edilen sonuçlardan daha yüksek konsantrasyonların kullanılmasında yine tarçın ekstraktlı filmler karanfil ekstraktlı filmlere göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Tüm bu çalışmalar sonucunda antimikrobiyal filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin farklı olması, kullanılan antimikrobiyal maddelerin çeşidine, miktarına, filmdeki diğer bileşimlerle etkileşimine ve mikroorganizma türüne bağlı olarak değiştiği, bu açıdan en uygun antimikrobiyal madde ve konsantrasyonun; defne ve fesleğen ekstarktlarında 500 µl/ml oranı belirlenmiştir

#### **4.2.3. Antimikrobiyal yenilebilir film kaplı alabalık filetoların analizleri**

Ekstrakt ve antimikrobiyal yenilebilir filmlerin MİK ve disk difüzyon sonuçları doğrultusunda;

- % 0,1 (w/v) defne ve fesleğen ekstrakt oranında,
- % 0,5 (w/v) ksantan gam yenilebilir film çözeltisinde;
- % 0,5 ekstrakt / film çözeltisi oranları

alabalık filetoları kalitesini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla doğal ekstraktlı ksantan gam yenilebilir film kaplamaları uygulanmıştır.

Mikrobiyolojik, pH ve duyuşal analizleri doğrultusunda da filmin balıktaki antimikrobiyal etkinliği ve ürünün duyuşal özelliklerine etkisi incelenmiştir.

##### **4.2.3.1.Mikrobiyolojik Analizler**

Alabalık filetolarına defne ve fesleğen ekstraktları içeren ksantan yenilebilir filmler uygulanarak  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  de 10 gün süreyle depolanmıştır. Depolama periyodu esnasında depolamanın 1, 3, 5 ,7 ve 10. günlerinde toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrotrof bakteri, toplam *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus spp.*, küf-maya ve laktik asit bakteri analizleri 3 paralel olarak yapılmış, antimikrobiyal filmlerin alabalıktaki mikrobiyolojik etkinliği belirlenmiştir. Tüm mikrobiyolojik sonuçlar 3 paralelin ortalaması alınarak değerlendirilmiş ve istatistiksel analizleri yapılmıştır. Duyuşal açıdan bozulduğu tespit edilen

grupların depolanması sonlandırılmıştır. Çalışmada *E.coli* sayısı saptanabilir düzeyin (<10 CFU / g) altında tespit edilmiştir.

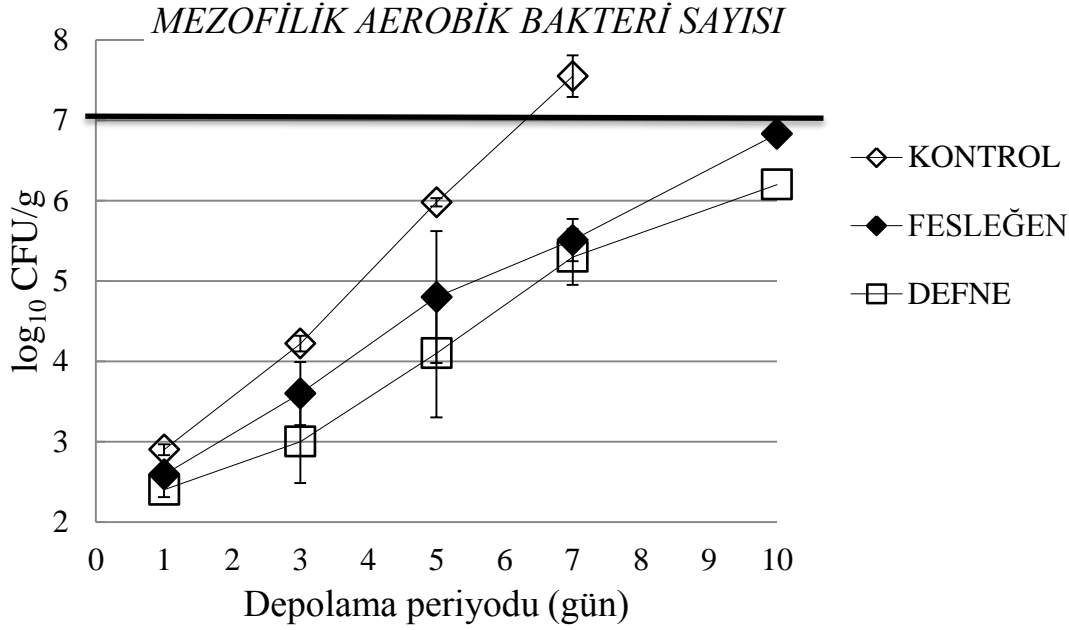
Çalışmamızda defne ve fesleğen ekstratları kullanılarak yenilebilir film kaplanan ve kaplama uygulanmamış alabalık filetoalarının 4°C’de depolama süresince toplam bakteri sayıları şekil 4.2’ de gösterilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde raf ömrü belirleme çalışmalarında da taze balıklarda sınır olarak kabul edilen 7 log CFU/g değerine (ICMSF, 1986); kontrol grubu depolamanın 7. Gününde, defne ve fesleğen yenilebilir kaplı alabalıkların ise istatistiksel anlamda farklılık ( $p<0,05$ ) olmadığı tespit edilmiştir. Defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir film kaplı grupların ise 10. günde limit değere ulaştığı gözlemlenmiştir.

Paketleme işleminin uygulanmasının ardından ilk gün yapılan mikrobiyolojik analizlerde, 4°C’de depolanan alabalık filetoalarında 2,9 log CFU/g, defne ekstraktlı yenilebilir filmlerde 2,4 log CFU/g, fesleğen ekstraktlı yenilebilir filmlerde 2,59 log CFU/g tespit edilmiştir. Duyusal analizleri doğrultusunda ilk rededilen grup olan kontrol grubu 4°C’de 7 gün raf ömrü olduğu ve toplam canlı sayısı 7,75 log CFU/g tespit edilirken, yenilebilir film kaplı gruplar yaklaşık 2 log düşük değerde olduğu gözlemlenmiştir. Defne ve fesleğen film kaplı grupların ise 10. günde sırayla 6,2 log CFU/g ve 6,8 log CFU/g olduğu belirlenmiş olup kontrol grubunun 7. günde tespit edilmiş olduğu değerden daha düşük olduğu tespit edilmiş fakat duyusal anlamda reddedildiğinden depolaması da 10. gününde sonlandırılmıştır.

Çizelge 4.5. Buzdolabında depolanan alabalık filetoalarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	Kontrol	Fesleğen	Defne
1	2,9 ± 0,07 <sup>a1</sup>	2,59 ± 0,05 <sup>a1</sup>	2,4 ± 0,09 <sup>a1</sup>
3	4,22 ± 0,10 <sup>a2</sup>	3,6 ± 0,39 <sup>b1</sup>	3,00 ± 0,51 <sup>b1</sup>
5	5,98 ± 0,05 <sup>a12</sup>	4,8 ± 0,82 <sup>b1</sup>	4,10 ± 0,80 <sup>b1</sup>
7	7,55 ± 0,26 <sup>a3</sup>	5,51 ± 0,26 <sup>b2</sup>	5,30 ± 0,35 <sup>b2</sup>
10	-	6,83 ± 0,32 <sup>a3</sup>	6,20 ± 0,35 <sup>b3</sup>

Sonuçlar (X±SS) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler muhafaza periyodu süresince grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar gruplar arası farkı belirtmektedir ( $p<0.05$ ). n=3



Şekil 4.2. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

Kontrol ve kaplanmış gruplar arası farkın önemli olduğu ( $p>0,05$ ), fakat film kaplı gruplar arasında önemli olmadığı ( $p<0,05$ ) gözlemlenmiştir. Burada ekstrakt ilave edilen grupların önceden MİK ve disk difüzyon analizleriyle antimikrobiyal etkisinin olduğunu ve birbirine yakın değerlerde tespit edilmesi ile uyumlu sonuçlar göstermektedir. Depolama süresince en yüksek değerler kontrol grubu, bunu takiben fesleğen ve defne yenilebilir film kaplı gruplarda gözlemlenmiştir. Defne ekstraktı yenilebilir film uygulaması bakteri gelişiminde önemli düşümlere yol açmıştır ( $p<0,05$ ). Yaptığımız çalışmada alabalık örneklerin mikrobiyolojik verileri ile duyusal analiz sonuçlarının raf ömrü açısından değerlendirildiğinde paralellik gösterdiği bulgulanmıştır..

Arashisar et al. (2004),  $4\pm 1$  °C’de %100 CO<sub>2</sub> içeren modifiye atmosfer paketlerde depolanan gökkuşağı alabalığı filetolarının toplam canlı sayısının depolama sonunda olan 14. gününde 6 log kob/g’a ulaştığını bildirmişlerdir.

Yener (2007), halka dilimlenmiş taze kalamara, antimikrobiyal ve koruyucu etkisi olan laktoperoksidaz ilaveli (sırasıyla 4000 ve 8000  $\mu\text{M}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) alginat yenilebilir filmlerin uygulandığı çalışmada 4°C’de depolanarak raf ömrü belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Depolamanın son günü olan 7. günde; kaplanmamış ve kaplanmış kalamar örneklerinde yaklaşık 2 ile 3 log arasında fark ettiği gözlemlenmiştir.

Carno et al. (2008), biberiye ekstraktı ilave edilmiş filmler ile kaplanan bifteklerde toplam bakteri sayısının azalmasını tespit etmiştir. Çalışmada 1°C'de 8 gün süren depolama sonunda kontrol gruplarında toplam bakteri sayısı 7-8 log CFU/g, kekik ve biberiye ekstraktı katkılı yenilebilir film kullanılan gruplarda bu değer 5-6 log CFU/g olduğu belirtilmiştir.

Mexis et al. (2009, yaptığı çalışmasında 4 °C'de depolanan alabalıklardaki toplam canlı sayımı kontrol örnekleri için depolamanın 4. gününde, oksijen absorberi içeren örnekler için 7-8. günde ve oksijen absorberi (oksijen emici) ve kekik esansiyel yağını kombine olarak içeren örneklerde ise 12-13. günde 7 log CFU/g'ı aşmıştır.

Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, antimikrobiyal yenilebilir film içeren alabalık fileto ların toplam canlı sayısını azalttığı, antimikrobiyal etkinliğinin MİK ve Disk Difüzyon sonuçlarında olduğu gibi balıkta da defne ekstraktlı filmin ardından fesleğen ekstraktlı filmin takip ettiği belirlenmiştir.

**Toplam mezofilik aerobik bakteri tayini:** Depolama boyunca yapılan analizlerinden koloni örnekleri alınarak saflaştırılmış ve API 20 NE bakteri identifikasyon test kitleriyle tayinleri yapılmıştır.

Toplam bakteri sayımı genel olarak hijyen kontrolü amacıyla yapılmaktadır (Anonymous, 2005). Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı olarak da söylenen toplam bakteri sayısı ile; gıda ham maddeleri, yardımcı maddeleri, ambalaj materyali, genel işletme koşulları, işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları ile ilgili genel kirlilik hakkında mikrobiyolojik standartlara uyulup uyulmadığı belirlenebilmektedir (Yapar, 2006).

Yapılan analizlerin bilgisayar tanımlama programından alınan sonuçlarına göre tanımlama oranları ile birlikte izole edilen bakteriler;

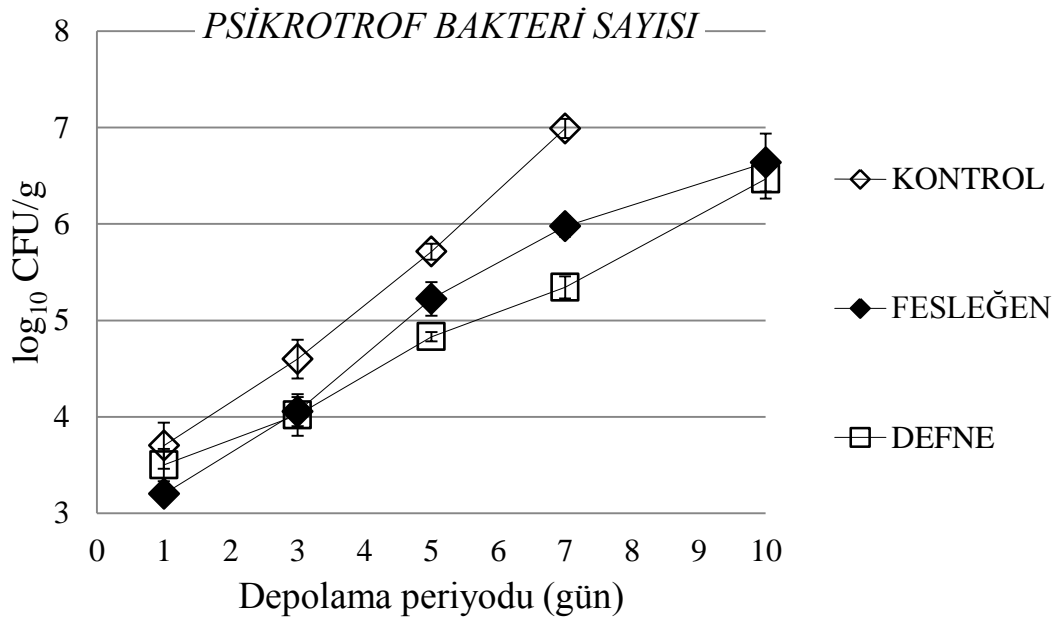
- *Pseudomonas fluorescens* %99,9
- *Pseudomonas luteola* %99,7
- *Vibrio metschnikovii* %99,4
- *Pasteurella multocida* %98
- *Pseudomonas putida* %96,8
- *Ralstonia picketti* %91,1

Defne ve fesleğen ekstratları kullanılarak yenilebilir film kaplanan ve kaplama uygulanmamış alabalık filetolarının 4°C’de depolama süresince psikrotrof bakteri sayıları şekil 4.3’ de gösterilmiştir. Psikrotrof bakteri sayısını genel olarak değerlendirildiğinde toplam canlı sayısı paralelinde değerler göstermiş olup, depolama periyodu boyunca kontrol grubu sonuçların en yüksek olduğu ( $p<0,05$ ), defne ekstrakt yenilebilir film kaplı grup ile arasında farkın önemli olmadığı ( $p>0,05$ ) bulgulanmıştır.

Çizelge 4.6. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında psikrotrof bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	Kontrol	Fesleğen	Defne
1	$3,50 \pm 0,22^{a1}$	$3,20 \pm 0,04^{a1}$	$3,50 \pm 0,17^{a1}$
3	$4,59 \pm 0,20^{a1}$	$4,02 \pm 0,15^{b1}$	$4,01 \pm 0,22^{b1}$
5	$5,71 \pm 0,24^{a1}$	$5,22 \pm 0,17^{b1}$	$4,83 \pm 0,05^{c1}$
7	$6,99 \pm 0,03^{a2}$	$5,97 \pm 0,09^{b1}$	$5,34 \pm 0,18^{b2}$
10	-	$6,63 \pm 0,02^{a2}$	$6,46 \pm 0,02^{a2}$

Sonuçlar ( $X \pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p<0.05$ ).  $n=3$



Şekil 4.3. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin psikrotrof bakteri sayıları değişimi (log CFU / g)



Balığın duyusal olarak reddedildiği depolamanın 10. gününde defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir film uygulanmış grupta psikrotrof bakteri sayısı sırasıyla 6,63 ve 6,46 log CFU/g iken, film uygulanmamış kontrol grubu için depolamanın 7. gününde 7,01 log CFU/g' a ulaşmıştır.

Gram-negatif psikrotrofik bakterilerin (PTC) büyük bir kısmının soğuk derecelerde depolanan taze balıkların aerobik bozulmalarından sorumlu mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir (İbrahim Sallam, 2007).

Shaw et al. (1983), morina balıklarının potasyum sorbanta daldırılarak mikrobiyolojik değişimleri inceledikleri çalışmasında, psikrofilik bakteriler üzerine etkisinin mezofilik bakterilerden daha etkili olup, daha düşük sayıda aerobik gelişimine neden olduğu tespit edilmiştir.

Ojagh et al. (2010) yaptıkları çalışmada alabalık filetoların depolamanın başlangıcında (0.gün) tarçınla zenginleştirilmiş kitosan kaplı ve sadece kitosan kaplı grupta psikrotrof bakteri değeri birbirine çok yakın ve 2,88 log CFU/g, kontrol grubunda ise 3,85 log CFU/g bulgulamışlardır. Depolanmanın son günü olan 16. günde kontrol grubu en yüksek değer de 8,43 log CFU/g, ardından kitosan kaplı grup 6,79 log CFU/g, en düşük olarak tarçın kitosan kaplı örneklerde 6,68 log CFU/g olarak tespit edilmiştir. Psikrotrof bakteri sayılarının toplam canlı sayısında olduğu gibi benzer büyüme göstermiş olduğu bildirilmiştir.

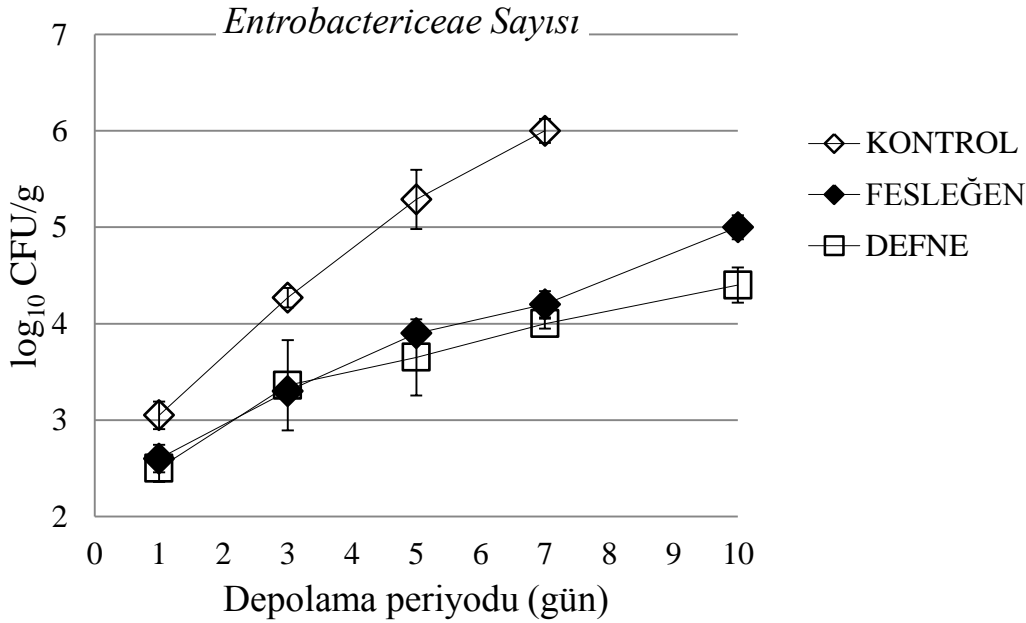
Yenilebilir film kaplanan ve kaplanmamış alabalık filetoları 4°C'de depolanması süresince *Enterobacteriaceae* sayısındaki değişimler şekil 4.4'de verilmiştir. Depolama süresince *Enterobacteriaceae* sayısında kademeli artışlar gözlenmiştir. *Enterobacteriaceae* bakterileri taze alabalıklarda hijyen indikatörü olan bir bakteri florasıdır (Mexis et al., 2009).

Depolamanın 10. gününde defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir film uygulanmış grupta *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla 4,4 ve 5 log CFU/g iken, film uygulanmamış kontrol grubu için depolamanın 7. gününde 5,8 log CFU/g' a ulaşmıştır.

Çizelge 4.7. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında *Enterobacteriaceae* bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	Kontrol	Fesleğen	Defne
1	3,05 ± 0,57 <sup>a1</sup>	2,50 ± 0,09 <sup>a1</sup>	2,50 ± 0,20 <sup>a1</sup>
3	4,27 ± 0,12 <sup>a2</sup>	3,36 ± 0,29 <sup>b2</sup>	3,36 ± 0,12 <sup>b2</sup>
5	5,29 ± 0,07 <sup>a3</sup>	3,90 ± 0,52 <sup>b2</sup>	3,65 ± 0,12 <sup>b2</sup>
7	6,00 ± 0,01 <sup>a3</sup>	4,20 ± 0,81 <sup>b2</sup>	4,00 ± 0,49 <sup>b2</sup>
10	-	5,00 ± 0,30 <sup>a3</sup>	4,40 ± 0,50 <sup>b3</sup>

Sonuçlar ( $X \pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p < 0.05$ ).  $n=3$



Şekil 4.4. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin *Enterobacteriaceae* sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresince en yüksek değerler kontrol grubunda tespit edilmiş, depolama periyodu boyunca kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık gözlemlendiği belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Defne ekstraktı yenilebilir film uygulaması bakteri gelişiminde önemli düşüşlere yol açmıştır ( $p < 0,05$ ). Fesleğen ve defne ekstraktlı grupların arasında özellikle ilk 7 günkü fark istatistiksel açıdan önemli bulunmazken ( $p > 0,05$ ); kontrol grubuyla arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

Paleologos et al. (2004), buzdolabında muhafaza edilen levrekte (*Dicentrarchus labrax*) temizleme ve fileto çıkarmanın biyojen aminlerin

olumuna etkisini ve mikrobiyal ve duyuşal özellikleri ile ilişkisini incelemişlerdir. *Enterobacteriaceae* türlerinin tüm, temizlenmiş ve fileto levreklerdeki dominant mikroorganizmalar olduğunu saptamışlardır. Duyusal verilere dayanarak yazarlar 8-9 gün sonrasında hem temizlenmiş hem de fileto levrek örnekleri için (istenmeyen koku başlangıcının gelişimi için zaman) *Enterobacteriaceae* sayımları  $10^6$  CFU/g'ın altında ya da civarlarında kaldığı bildirilmiştir.

Jouki et al. (2014), farklı konsantrasyonlarda mercanköşk (M) ve kekik (K) esansiyal yağları içeren ayva çekirdeği gamı (AÇG) yenilebilir filminleri ile kaplanan gökkuşuğı alabağın 4 °C'de depolanma başlangıcında *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* bakteri sayıları sırasıyla 1,9 log CFU/g ve 3,2 log CFU/g tespit etmişlerdir. *Enterobacteriaceae* sayılarının depolama periyodunun 3. gününden sonra kontrol grubunda  $10^4$  CFU/g değerine ulaşırken ayva çekirdeği gamı yenilebilir film kaplı alabalık filetoların  $10^3$  CFU / g değeri altında kaldığı bildirilmiştir. Ayva çekirdeği gamı yenilebilir film + % 2 kekik ekstraktı içeren grubun *Enterobacteriaceae* bakterileri büyümesini inhibe ederek, tüm depolama süresi boyunca değerin 5 log CFU/g altında kaldığı bildirilmiştir.

Yaptığımız çalışmalar sonucunda kontrol grubunda depolama boyunca *Enterobacteriaceae* artışın hızlı olduğu, bu sebepten de bozulmanın hızlı gerçekleştiğı düşünülmektedir. Bunun aksine antimikrobiyal yenilebilir film kaplı gruplarda depolama boyunca artış antimikrobiyal etkinlik sebebiyle inhibe edilmiş olduğu bu sebeple depolamanın sonunda ancak 5 log CFU / g değerine ulaşmış olduğu gözlemlenmiştir.

***Enterobacteriaceae* Bakteri Tayinleri:** Yapılan analizlerin bilgisayar tanımlama programından alınan sonuçlarına göre tanımlama oranları ile birlikte izole edilen bakteriler;

- *Serratia liquefaciens* %98
- *Serratia marcescens* %98
- *Erwinia spp.* %85
- *Moraxella* %76

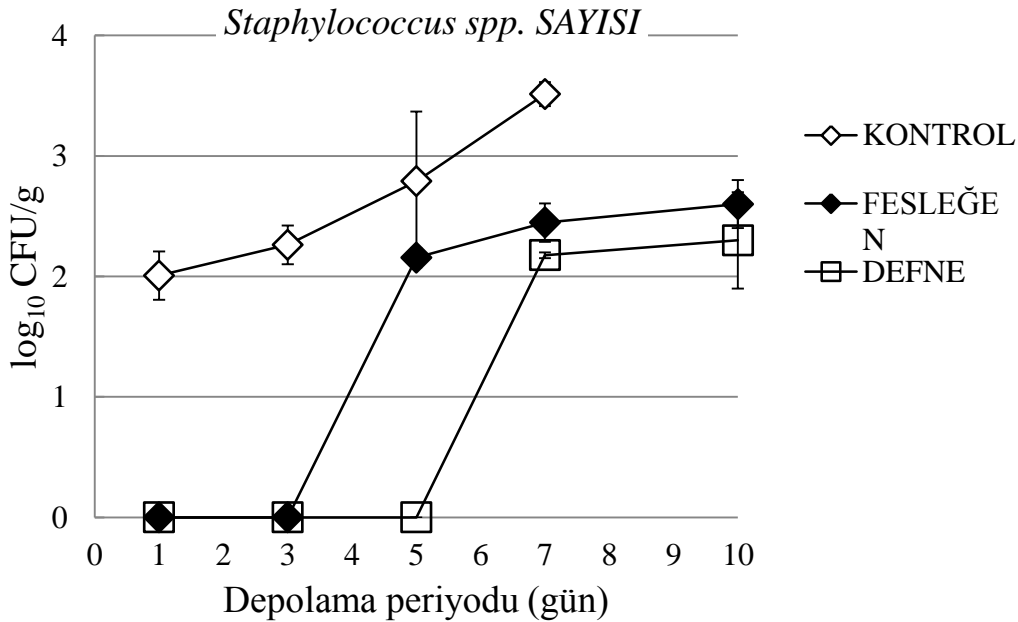
Yenilebilir film kaplanan ve kaplanmamış alabalık filetoları 4°C'de depolanması süresince *Staphylococcus spp.* sayısındaki değışimler sekil 4.5'de verilmiştir. Depolama süresince *Staphylococcus spp.* sayısında kontrol grubu için başlangıç değeri 2,1 log CFU/g olup depolamanın son günü olan 7. gününde ise 3,51 log CFU/g tespit edilmiş olup, depolama boyunca kademeli artışlar gözlemlenmiştir. *Staphylococcus spp.* üzerine defne ekstraktlı kaplamanın 5 gün,

fesleğen ekstrakt kaplamanın ise 3 gün üremeyi engellediği gözlemlenmiştir. Depolamanın 5. gününde kontrol grubunda 2,79 log CFU/g, fesleğen grubunda 2,16 log CFU / g tespit edilirken, defne ekstraktı kullanımı ile tanımlanabilir değerlerin altında (<10 log CFU/g) tespit edilmiştir. Defne ve fesleğen grupları arasında 7. ve 10. günlerde aralarındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmazken ( $p>0,05$ ), 5. günde bu değerlerin istatistiksel açıdan önemli ölçüde farklılık olduğu bulgulanmıştır ( $p<0,05$ ). Film uygulanmamış kontrol grubu ile yenilebilir film kaplı gruplar arasında depolama periyoduna bağlı istatistiksel açıdan önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ).

Çizelge 4.8. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında *Staphylococcus spp.* sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	Kontrol	Fesleğen	Defne
1	2,01 ± 0,20 <sup>a1</sup>	<10	<10
3	2,26 ± 0,16 <sup>a1</sup>	<10	<10
5	2,79 ± 0,58 <sup>a1</sup>	2,16 ± 0,08 <sup>a1</sup>	<10
7	3,51 ± 0,10 <sup>a2</sup>	2,45 ± 0,16 <sup>b2</sup>	2,80 ± 0,02 <sup>c1</sup>
10	-	2,6 ± 0,02 <sup>a2</sup>	2,3 ± 0,40 <sup>b2</sup>

Sonuçlar ( $X\pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p<0,05$ ).  $n=3$



Şekil 4.5. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin *Staphylococcus spp.* sayıları değişimi (log CFU / g)

*Staphylococcus* türlerine insanların ağız, burun, el ve derilerinde normal veya geçici flora üyeleri olarak her zaman rastlanmaktadır. Bu bakteriler özellikle derideki sivilce ve yaralarda yaygın olarak bulunurlar. *Staphylococcus*'un patojen (*Staphylococcus aureus*) ve patojen olmayan tipleri vardır. Ayrıca *Staphylococcus* koagülaz pozitif ve koagülaz negatif olarak da incelenmektedirler (Yapar, 2006).

*S. aureus* patojen bir bakteridir ve intoksikasyon tipi gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. İşlem görmüş gıdalarda bulunmasına izin verilmez ancak, çiğ et gibi gıdalarda az sayıda bulunmasına izin verilebilir. Buna göre arama ya da sayma yöntemi kullanılır. Gıdadaki varlığı her zaman zehirlenme yapacağı anlamına gelmez. Toksin oluşturması gıdanın asitliği, kuru maddesi vb. faktörlere bağlıdır (Anonymous, 2005).

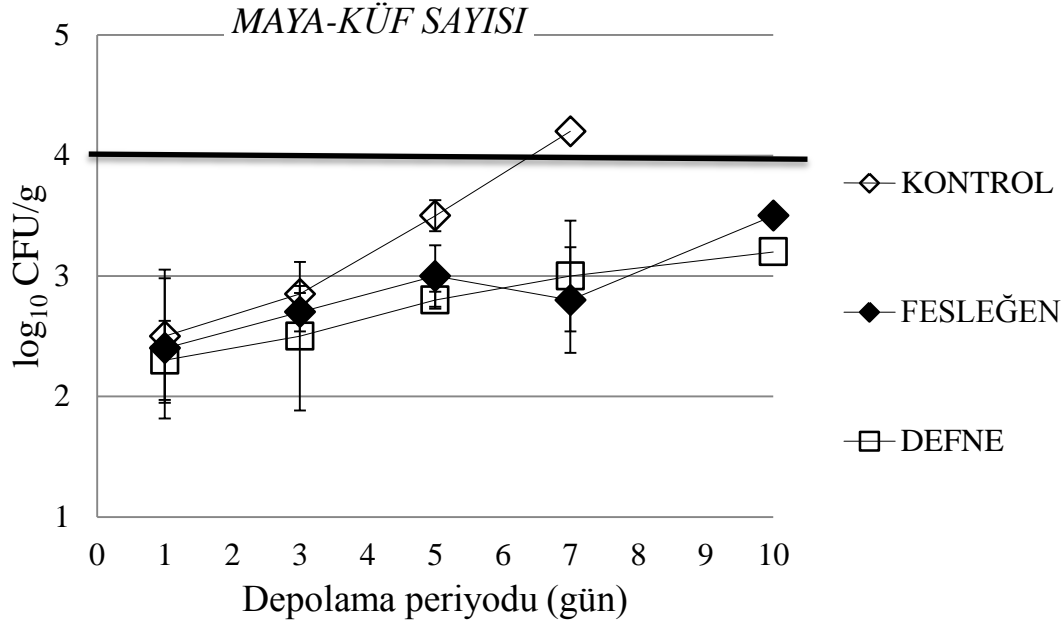
Çalışmada kontrol ve kaplanmış grupların 4°C'de depolama boyunca küf ve maya değerleri şekil 4.6' de gösterilmiştir. Film kaplı gruplar arasında ve depolama günleri boyunca istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Kontrol grubu ile kaplanmış gruplar arasında ilk 3 gün önemli farklılık gözlemlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Depolamanın 5. gününden sonra kontrol grubunda küf ve maya sayılarında önemli artışlar görülmüştür ( $p<0,05$ ) ve 4 log CFU / g değerine ulaşmıştır. Film kaplı gruplarda ise ufak artışlar ile değişim gösterirken ( $p>0,05$ ), depolamanın 10. gününde 3,5 log CFU/g değeri bulgulanmıştır.

Çizelge 4.9. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında maya-küf sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	KONTROL	FESLEĞEN	DEFNE
1	2,50 ± 0,55 <sup>a1</sup>	2,30 ± 0,58 <sup>b1</sup>	2,30 ± 0,33 <sup>b1</sup>
3	2,85 ± 0,07 <sup>a1</sup>	2,50 ± 0,16 <sup>b1</sup>	2,70 ± 0,62 <sup>a1</sup>
5	3,50 ± 0,13 <sup>a2</sup>	2,80 ± 0,25 <sup>b1</sup>	3,00 ± 0,07 <sup>b1</sup>
7	4,20 ± 0,06 <sup>a2</sup>	3,00 ± 0,44 <sup>b1</sup>	2,80 ± 0,46 <sup>b1</sup>
10	-	3,20 ± 0,09 <sup>a1</sup>	3,50 ± 0,02 <sup>a2</sup>

Sonuçlar ( $X\pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p<0,05$ ). n=3



Şekil 4.6. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin küf-maya sayıları değişimi (log CFU/g)

Defne ve fesleğen ekstraktlı grupların kontrol grubuna kıyasla depolamanın 7. gününde maya küf sayısını üremesini yaklaşık 1,5 log inhibe ettiği ve ayrıca tüm depolama periyodu boyunca üremeyi yavaşlattığı tespit edilmiştir.

Can vd. (2007), aynalı sazan filetoları, kontrol grubu, %0.5, %1 ve %1.5 eugenol solüsyonları içerisinde bekleterek +4 °C'de muhafaza etmişler, filetonun başlangıçtaki maya ve küf sayısı sırası ile 4,50-4,47, 4,61-4,53, 4,63-4,51 ve 4,20-4,27 log CFU/g iken 42. günde 7,13-7,45, 5,96-5,69, 5,73-6,39 ve 5,88-6,72 log CFU/g tespit etmişlerdir.

Avila-Sosa et al. 2011, farklı 3 tür yenilebilir filmlerde (amaranth, kitosan ve nişasta) antimikrobiyal ajan olarak kullandığı kekik, tarçın ve limongrass esansiyel yağların farklı konsantrasyonlarda deneyerek antifungal aktivitelerini değerlendirmiştir. En iyi kitosan filmlerin %0,25 oranında kekik esansiyel yağı ve %0,50 oranında tarçın esansiyel yağı içeren olduğu, ardından amaranth filmlerin sırayla %2 ve %4 kekik ve tarçın esansiyel yağı içeren filmlerin etkili olduğu bildirilmiştir. Kekik ve tarçın esansiyel yağları içeren kitosan yenilebilir filmlerin gıda yüzeyinde maya ve küf gelişimini içerdiği uçucu bileşikler sayesinde inhibe ettiği ve böylece gıda kalitesini koruduğu bildirilmiştir.

Flores et al., 2010 ksantan gam ve potasyum sorbant yenilebilir filmi ile gliserol içerikli tapyoka nişastası yenilebilir filmin ekstrüzyon teknolojisiyle farklı oranlarda karışımlarının fiziksel ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Ksantan gamın karışım yenilebilir filmin önemli ölçüde ( $p<0,05$ ) diğer bileşenleriyle etkileşim gösterdiği, nem içeriğini azalttığını ve antimikrobiyal etkinliğinin olmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada antimikrobiyal özellikte hazırlanan filmlerin maya ve küf gelişimini inhibe ettiği yönünde elde edilen bulgular belirtilen çalışmalarda elde edilen bulgular ile paralel özellik göstermektedir.

Alabalık fileto örneklerinde 4°C’de depolama süresince görsel olarak küflenme gözlemlenmemiştir. Küf-maya analizlerimiz ve bakteri tayinlerimiz sonucunda maya üremeleri tespit edilmiştir. Alabalıkta başlangıçta bulunan mikroorganizmanın, streç film paketlenme ile kalan havayı kullanıp, sayıca artmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca yenilebilir film kaplı örneklerimizde antimikrobiyal özellikleri dışında gıdanın etrafında bariyer görevi görmesinden kaynaklı hava ile teması kesilip kontrol grubundan daha düşük küf-maya değerleri gösterdiği düşünülmektedir.

**Maya-Küf Bakteri Tayinleri:** Maya küf sayımı gıdalarda genel hijyenik kontrol olarak değerlendirilmektedir (Anonymous, 2005).

Depolama boyunca yapılan analizlerinden koloni örnekleri alınarak saflaştırılmış ve API 20 C AUX bakteri identifikasyon test kitleriyle tayinleri yapılmıştır.

Yapılan analizlerin bilgisayar tanımlama programından alınan sonuçlarına göre tanımlama oranları ile birlikte izole edilen bakteriler;

- *Candida zeylanoides* %98,3
- *Trichospora inkin* %92,7
- *Candida calliculosa* %84,5

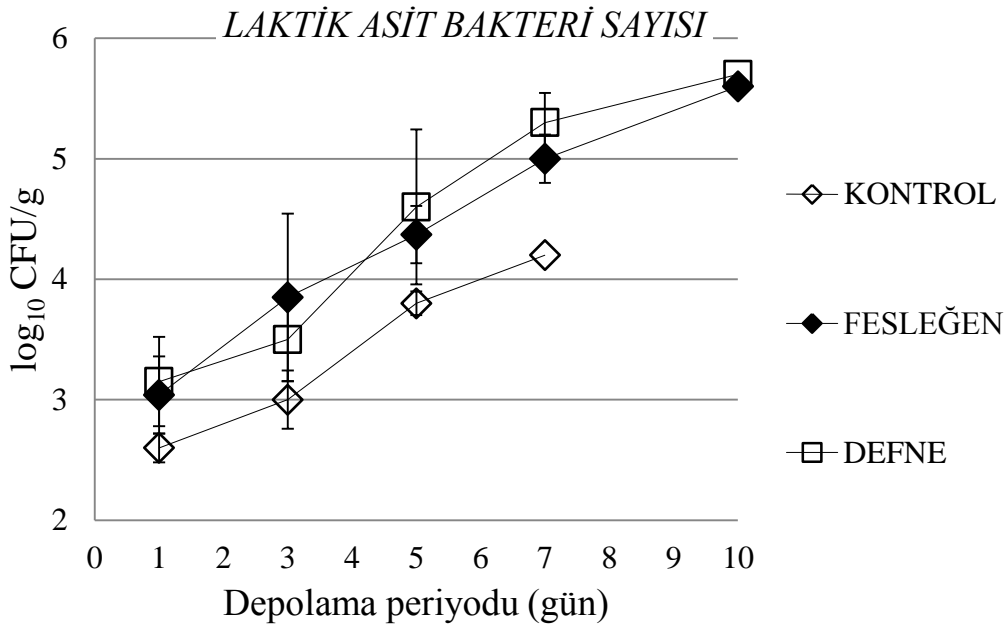
Yenilebilir film kaplanan ve kaplanmamış alabalık filetoları 4°C’de depolanması süresince laktik asit bakteri sayısındaki değişimler şekil 4.7’ de verilmiştir. Depolama boyunca defne ve fesleğen kaplı gruptaki benzer artış gözlenmesinden istatistiksel anlamda farklılık önemsiz bulunurken ( $p>0.05$ ), kontrol grubuyla aralarında fark önemli olarak ( $p<0.05$ ) bulgulanmıştır. Depolama periyodu boyunca defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir film uygulanmış gruplarında laktik asit bakteri sayısında artış gözlenmiştir. Laktik asit

bakterileri fakültatif anaerob bakteriler olup mikroaerofilik ortamda en iyi fazla üreyebilmektedir (Jouki et al., 2014). Bu açıdan değerlendirildiğinde depolama boyunca yenilebilir filmler kaplanmış alabalık filetolarıkontrol grubuna göre daha fazla artış olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Çizelge 4.10. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında laktik asit bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

Depolama süresi (gün)	KONTROL	FESLEĞEN	DEFNE
1	2,60 ± 0,56 <sup>a1</sup>	3,04 ± 0,32 <sup>b1</sup>	3,15 ± 0,37 <sup>b1</sup>
3	3,00 ± 0,43 <sup>a1</sup>	3,85 ± 0,70 <sup>b1</sup>	3,50 ± 0,29 <sup>ab1</sup>
5	3,80 ± 0,10 <sup>a1</sup>	4,37 ± 0,24 <sup>b2</sup>	4,60 ± 0,11 <sup>b2</sup>
7	4,20 ± 0,01 <sup>a1</sup>	5,00 ± 0,30 <sup>b2</sup>	5,30 ± 0,33 <sup>b2</sup>
10	-	5,6 ± 0,05 <sup>a3</sup>	5,70 ± 0,02 <sup>a3</sup>

Sonuçlar ( $X\pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p<0.05$ ).  $n=3$



Şekil 4.7. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin laktik asit bakteri sayıları değişimi (log CFU/g)

López de Lacey et al. (2014), biyoaktif yenilebilir film materyali olarak agar ve yeşil çay ekstraktı ile probiyotik bakteri (*Lactobacillus paracasei* L26 ve *Bifidobacterium lactis* B94) kullanarak berlam balığındaki 15 gün süren raf ömrü

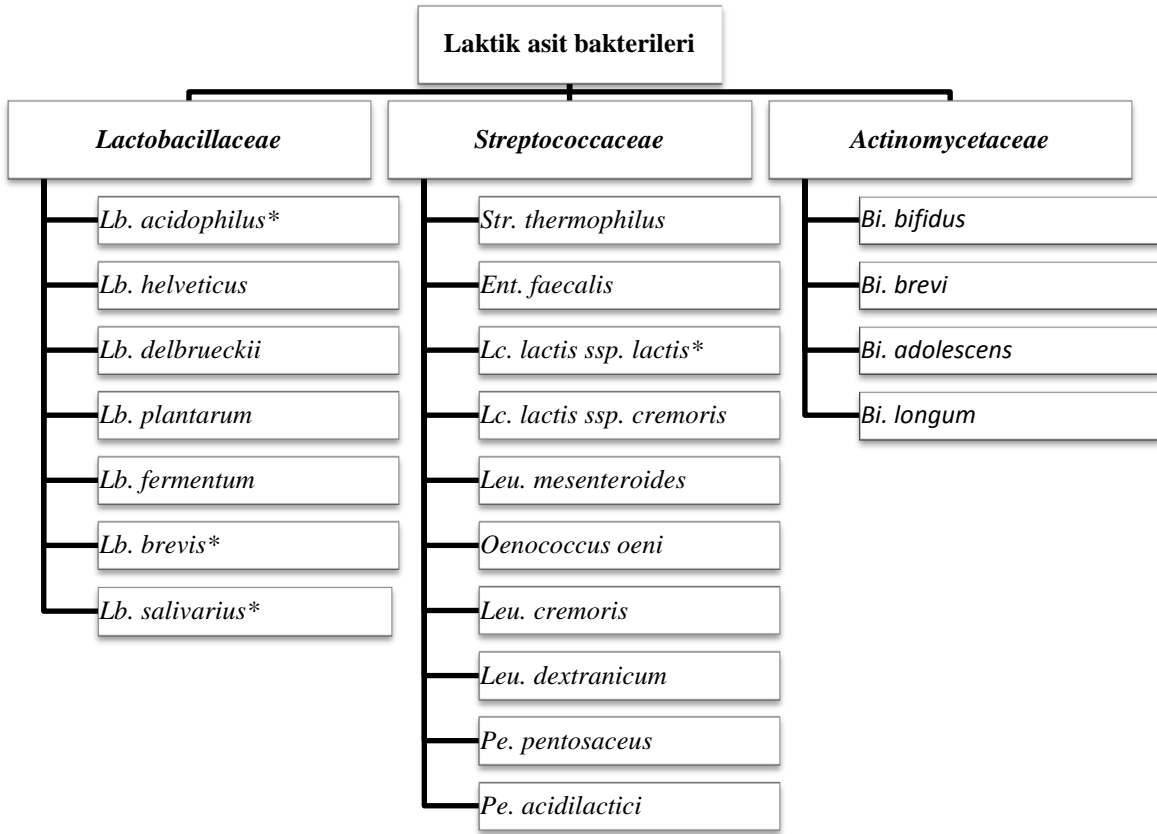


çalışmasında yeşil çay ekstraktlı filmle kaplanmış grup dışında tüm gruplarda laktik asit probiyotik bakteri sayılarında artış olduğu bildirilmiştir. Özellikle probiyotik bakteri kullanıldığı film kaplamalı gruplarda laktik asit bakteri artışın daha fazla olmasından kaynaklı mikrobiyal büyümeyi geçiktirme üzerine etkisinin olabileceği belirtilmiştir. Kontrol berlan fileto ların bakteri sayılarının laktik asit bakterileri dışında artış gösterdiği, bu sebepten kontrol grubun raf ömrün daha kısa sürdüğü bildirilmiştir. Sonuç olarak çalışmada yeşil çay ve probiyotik yenilebilir agar filmlerin berlam bağında 1 hafta boyunca raf ömrü arttırıp, balıkta yararlı laktik asit bakteri sayısı arttıldığı tespit edilmiştir.

Baharatların gıdalardaki antimikrobiyal etkisi, besiyerindeki antimikrobiyal etkisinden daha düşük çıktığı ve bu nedenle de gıdalardaki antimikrobiyal etkileri gıdanın yapısına ve kullanılan baharat miktarına bağlı olduğu, bu açıdan en hassas mikroorganizmalar Gram(+) bakteriler, en dirençli mikroorganizmalar ise laktik asit bakteriler olduğu bildirilmiştir (Cerit, 2008). Laktik asit bakterilerinin hızlı gelişimi bozulma yapan mikroorganizmaların sayısında azalma yapıp, ürettikleri enzimler sayesinde patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettikleri bildirilmektedir (Adam et al., 1987; Ostergaard et al., 1998; Gómez-Estaca et al., 2010).

Bu değerlendirmeler ışığında çalışmamızda ekstraktlı grubun balıkta gerek bariyer görevi üstlenmesi gerek antimikrobiyal etkinliğinden kaynaklı belirgin artışın gözlemlendiği tespit edilmiştir. Kontrol grubunda düşüş yaşanmamış aksine bozulmayla birlikte artış gözlenmiş olsa bile 4,2 log CFU/g değerinde kaldığı bulgulanmıştır.

**Laktik Asit Bakteri Tayinleri:** Depolama boyunca yapılan analizlerinden koloni örnekleri alınarak saflaştırılmış ve API 50 CH bakteri identifikasyon test kitleriyle tayinleri yapılmıştır.



Şekil 4.8. Laktik asit bakterileri familyaları ve belli başlı türleri (Kılıç, 2008).

“\*” Çalışmamızda tespit edilen bakteri türleridir.

Laktik asit bakterilerin *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* ve *Actinomycetaceae* familyaları ait oldukları alt türleri gösterilmiş ve çalışmamızda tespit etmiş olduğumuz bakteri türleri şekil 4.8’ de gösterilmiştir.

Laktik asit bakterileri (LAB) taksonomik sınıflandırmasında değişimler olmasına karşın, gıdalarda en yaygın olarak görülen cinsleri *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella*’dır (Holzapfel ve ark., 1995).

Yapılan analizlerin bilgisayar tanımlama programından alınan sonuçlarına göre tanımlama oranları ile birlikte izole edilen bakteriler;

- *Lactobacillus salivarius* %99,9
- *Lactobacillus brevis* %99,6
- *Lactobacillus acidophilus* %89,1
- *Lactococcus lactis spp.* %81,8

#### 4.2.3.2.Duyusal Analizler

Yenilebilir film kaplı örneklerin ve kaplanmamış kontrol grubunun depolama sonrası çiğ ve pişirilmiş olmak üzere iki farklı form kullanılarak duyusal analizleri gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizleri için 2 ayrı test ve skala kullanılmıştır. Analiz ve formları bölüm 3.2.6 de gösterilmiştir. Uygulanan testlerden birincisi Kalite İndeks Metoduna göre uyarlanmış, depolama periyodu süresince çiğ alabalık filetolarının duyusal değerlendirmesi ve bununla beraber panelistlerin genel beğenilerine göre tercihleri belirlenmiştir. Bir diğeri ise tüketici beğeni testi olarak 9'dan 1'e kadar olan tanımlayıcı kriterler ile renk, koku, lezzet, doku yapısı (tekstür) ve genel kabul edilebilirlik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Pişmiş alabalık filetoların duyusal değerlendirmelerin hem depolama periyodu boyunca genel beğenisi hem ilk gün tüketim beğenisi değerlendirmeler yapılmıştır..

Çalışmada yapılan denemelerde farklı ekstrakt konsantrasyonların farklı etkileri olduğu gözlemlenmiş, uygulamada kullanılacak film kompozisyonu seçilirken antimikrobiyal etkinliği yüksek ve ürünün duyusal özelliklerini etkilemeyecek özelliklerde olmasına dikkat edilmiştir. Ksantan gam yenilebilir filmlere eklenen ekstrakt miktarı arttıkça filmlerin antimikrobiyal etkinliği artmış, fakat film çözeltilerin şeffaflığı azalıp renk yoğunluğu artmaktadır. Özellikle fesleğen ekstraktlı filmlerde duyusal açıdan beğenilmediği, bu nedenle defne ekstraktı kullanılan grubun daha tercih edildiği gözlemlenmiştir.

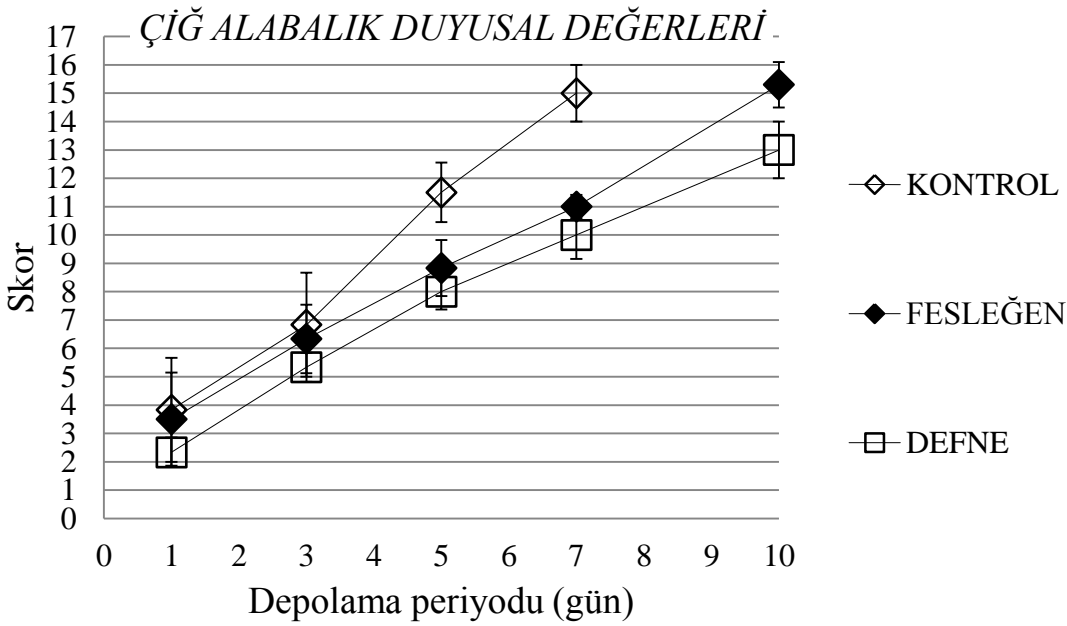
#### **Çiğ Alabalık Filetoları Genel Beğeni ve Kabul Edilebilirlik Testi;**

Buzdolabı koşullarında depolama periyodu süresince alabalık filetolarının duyusal kalitelerindeki değişimleri, şekil 3.2.6'da verilmiştir. Panelistler tarafından yapılan duyusal değerlendirmeye göre 4°C'de depolanan yenilebilir film kaplı alabalık filetolarının duyusal puanları depolama süresince artış göstermiştir. Kontrol grubu depolama süresince diğer gruplara göre daha kısa zamanda daha yüksek duyusal skorlarda bulgulanmıştır. Fesleğen ve defne yenilebilir kaplı alabalık filetoları buzdolabı sıcaklığında raf ömrünü 3 gün uzatmıştır. Kontrol grubu duyusal olarak 7. gün, ekstraktlı yenilebilir film kaplı alabalıklar ise 10. günden itibaren duyusal olarak reddedilmiştir.

Defne ve fesleğen kullanılan gruplarda duyusal yönden istatistiksel önemli farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Duyusal parametreler bakımından kontrol ve muamale grupları arasında depolamanın ilk 3 gününde önemli farklılıklar gözlenmezken ( $p>0,05$ ), 3. günden sonra kontrol grup ile film kaplı grupların duyusal değişimlerindeki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Depolamanın ilerleyen günlerinde ekstrakt film kaplı alabalık filetolarda bozulmuş balık kokusundan çok bitki ve yosun kokusu alındığından beğeni kontrol grubuna göre tercih sebebi olmuştur. Kullanılan ekstraktlı yenilebilir film

kaplı alabalıkların kontrol grubu ile kıyaslandığında, kaplama işleminin balık etine kabul edilebilir bir parlak görüntü, aroma ve koku sağlamıştır. Özellikle defne ekstraktı uygulanan örnekler hoş aroması ve balıgımsı kokuyu uzaklaştırmadığı belirtilerek panelistler tarafından en çok tercih edilen grup olmuştur. Depolamanın 5. gününden itibaren kontrol grubunda çiğ alabalık paketlerinde mukus salgısı gözlemlenirken, yenilebilir film uygulanmış gruplarda balığa özgü salgı gözlenmemiş, yalnızca balıkların çözeltiye daldırma sonrası kurutma işlemi ardından paketlenen örneklerin strofor tabaklarında film çözeltisi olduğu belirlenmiştir. Çiğ alabalıktaki duyuşal puanlar depolama süresince artış sergilemiştir.



Şekil 4.9. Depolama boyunca çiğ alabalık filetoları duyuşal değişimi

Kalite İndex Metoduna göre hazırlanmış duyuşal analiz değerlendirilmesinin ardından panelistlere hangi balığı tercih edecekleri sorulmuştur. Depolamanın ilk 3 gününe kadar ağırlıklı olarak kontrol grubu ve ardından defne ekstraktlı yenilebilir kaplı grup tercih edilmiştir. 5. günden sonra kontrol grubu tercih edilmemiş defne grubu 5. ve 7. günlerde tekrar tercih edilmiştir. Depolama periyodu boyunca fesleğen ekstraktlı grup tercih edilmemiştir. Fesleğen ekstraktının balıkta oluşturduğu renk ve koku yoğunluğu nedeniyle tercih edilmediği belirlenmiştir. Bunun yanısıra kontrol grubunda bozulmaya bağlı renk ve kokuda meydana gelen değişimlerin film kaplı gruplara göre daha belirgin olduğu belirlenmiştir.

Mexis et al. (2009) yılında yaptıkları çalışmada 4 °C’de depolanan alabalık filetolarının raf ömrünün kontrol grubu için 4 gün, kekik yağı içeren gruplar için 7–8 gün, O<sub>2</sub> absorber içeren gruplar için 13–14 gün, O<sub>2</sub> absorber ve kekik yağı içeren gruplar için 17. gün tespit etmişlerdir.

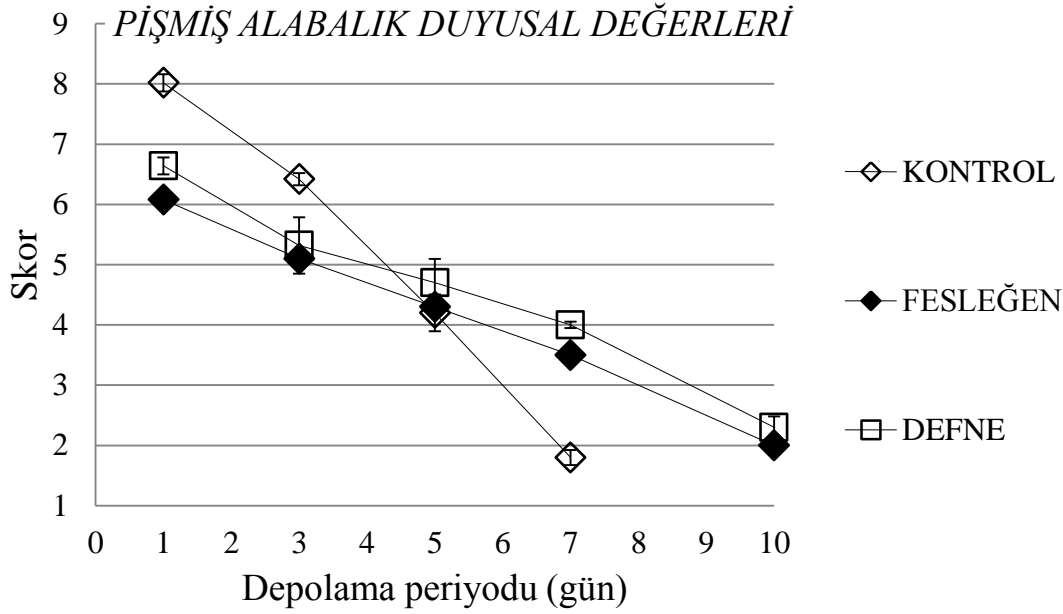
Kılınç ve Yavuz (2011), kontrol grubu, %1,%2,%3,%4 ve %5’lik laktik asit solusyonlarında bekletilen taze alabalık filetolarının duyu kabul edilebilirlik değerleri depolamanın başlangıcında sırasıyla; 7.8, 7.4,8.3,7.8,6.9 ve 7.3 olarak saptamışlardır. Kontrol grubu depolamanın 3.gününde 2.8’e düşerek panelistler tarafından reddedilmiştir. Depolamanın 6.gününde ise diğer gruplar sırasıyla duyu kabul edilebilirlik 1.8,1.8,1.4,1.2 ve 1.2 değerlerine düşerek panelistler tarafından reddedilmişlerdir.

### **Pişmiş Alabalık Fileto Kabul Edilebilirlik Testi;**

Buzdolabı koşullarında depolama periyodu süresince alabalık filetolarının Paulus et al. (1979) yapmış oldukları duyu analizi metoduna göre uyarlanan duyu özelliklerindeki değişimleri, şekil 4.10’da verilmiştir. 4°C’de depolanan yenilebilir film kaplı alabalık filetoların 3 dakika mikrodalga fırında pişirildikten sonra panelistler tarafından duyu değerlendirilmeleri yapılmış, puanları depolama süresince azalış göstermiştir. Sonuçlarda 5 panelistin değerlerin ortalaması alınmış, 9 tamamen taze balığı, 1 ise tamamen bozulmuş balığı göstermektedir. Skalada; 9-çok iyi, 8-oldukça iyi, 7-iyi, 6-biraz iyi, 5-yorumsuz, 4-biraz kötü, 3-kötü, 2-oldukça kötü, 1-çok kötü olarak değerlendirilmiştir. Genel beğeniye dayalı pişmiş alabalık filetoların duyu değerlendirmelerin hem depolama periyodu boyunca ortalama beğeni hem üretim gününde ilk tüketim beğenisi sonuçları alınmıştır.

Analizde 9’lu hedonik skala (1:çok kötü, 9:çok iyi) üzerinden yapılan değerlendirmede, ortalama değerler dikkate alındığında depolama başlangıcında film kaplanmamış alabalık filetoların, defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir film kaplı alabalık filetolarına göre daha fazla beğenildiği belirtilmiş, istatistiksel anlamda da bu fark önemli görülmektedir ( $p<0,05$ ). Fakat film kaplı alabalık filetoların; birbirleri arasında ve tüm depolama süresince belirgin bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Kontrol grubu ise depolama boyunca önemli derecede farklılıklar ile değişim göstererek ( $p<0,05$ ) duyu değerlerinin depolamanın ilk gün 8 (oldukça iyi), son günü olan 7. günde ise 2 (oldukça kötü) değerlerinde olduğu bulunmuştur. Kontrol grubunun ardından genel olarak beğenilen defne ekstraktlı grubun depolamanın ilk gününde 6,64 (biraz iyi), son günü olan 10. gününde 2,3 (oldukça kötü) değerlerinde olduğu saptanmıştır. Fesleğen ekstraktlı grup ile defne ekstraktlı grup karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda farklılık gözlenmemiş olup ( $p>0,05$ ) depolamanın ilk günü 6,08 (biraz iyi), son günü olan 10. gününde 2 (oldukça kötü) olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu için depolamanın son günü olan 7. günde defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir filmli

alabalık filetoların değerleri sırayla 4 ve 3,5 olup “biraz kötü” olarak değerlendirilmiştir. Buradaki esas neden doğal antimikrobiyal özelliği olan ekstraktların yanısıra, yenilebilir film kaplamasıyla balıkta kötü görüntü ve bozulma kokusunu kapattığı belirlenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda yenilebilir film kaplamanın kontrol grubuna göre 3 gün daha duyuasal etkisi olmaktadır.

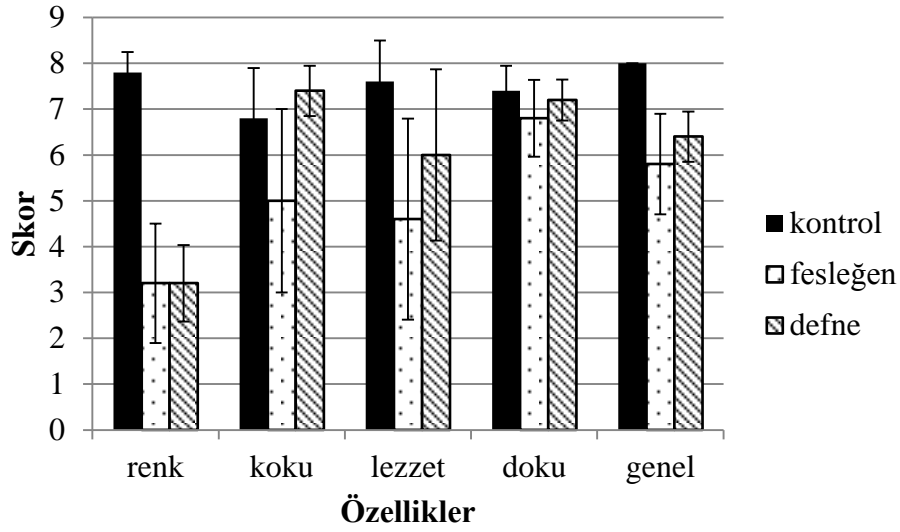


Şekil 4.10. Depolama boyunca pişmiş alabalık filetoları duyuasal değişimi

Depolama başlangıcından itibaren yenilebilir film grupları arasında defne ekstraktlı yenilebilir filmlerin panelistler tarafından beğenilmesine karşın depolamanın 3. gününden sonra fesleğen ekstraktı kullanılan grup duyuasal açıdan beğenilmemiştir, defne ekstrakt kaplı alabalık filetolarının daha fazla tercih edildiği gözlemlenmiştir. Bunun yanısıra; ekstraktlı yenilebilir filmlerin alabalık filetolarında renk açısından görsel dezavantaj yarattığı gözlemlenmiştir. Bu sebeplerden dolayı yenilebilir film kaplı gıdaların duyuasal nitelikleri geliştirilmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yenilebilir film uygulanmamış ve film kaplama uygulanan alabalık filetolarının üretimden sonra ilk günün panelistler tarafından duyuasal değerlendirme sonuçları şekil 4.11’ de gösterilmiştir. Kontrol grubu, fesleğen ekstraktlı ve defne ekstraktlı yenilebilir film kaplı grupların sırasıyla renk, koku, lezzet, doku yapısı ve genel kabul edilebilirlik kriterleri genel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubun daha fazla tercih edilebilir olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanısıra defne ve fesleğen ekstraktları ilave edilerek antimikrobiyal özellik kazandırılan ksantan yenilebilir filmler ile kaplanmış alabalık filetoların genel beğeni puanları beklenen yüksek puanları alamamıştır. Fakat defne ekstraktının kullanımın koku yönünden daha beğenildiği, doku, lezzet ve genel beğeni açısından kontrol grubuna yakın

olduğu belirlenmiştir. Fesleğenin ise değerlendirmede en düşük değerleri aldığı bulgulanmıştır.



Şekil 4.11. Pişmiş alabalık filetoların duyuusal beğenisi

Ayana (2007), yaptığı çalışmada zeytin yaprağı özütü (ZYÖ) içeren metilselüloz (MS) esaslı antimikrobiyal filmlerin üretimi ve karakterizasyonu yapılmış, ZYÖ içermeyen MS filmler şeffaf, ancak ilave edilen özütün etkisiyle renk şeffaf yeşilimsi bir renge dönüşmekte ve artan özüt derişimiyle renk yoğunluğu da artmakta olduğunu bildirmiştir. Bitki özütü içerdiğindeki fenolik bileşiklerden dolayı acı tat yarattığı ve filmlerde, antimikrobiyal ajan olarak kullanılan maddeler film solüsyonlarında düşük derişimlerde kullanıldığından film tat ve kokusunu etkilemediğini belirtmiştir.

Kenar et al. (2010), buzdolabı koşullarında vakum pakette depolanan sardalya filetosunun raf ömrü hedonoik skalaya göre kontrol grubu yaklaşık 6.75 puanda (10.gün) biberiye ve adaçayı ekstraktı uygulanan grupların 6.50 puanda (13.gün) tüketilebilir olduğu bulunmuştur. Balık tamamen red edildiğinde ortalama duyuusal puan kontrol için (13.gün) yaklaşık 4.00 biberiye ve adaçayı (20.gün) için ise, 3 olarak bulunmuştur.

Mohan et al., 2012, yenilebilir kitosan film kaplamaların (%1 ve %2) sardalyanın buzdaki kalite değişimleri üzerine araştırma yapmışlardır. Grupların tüketilebilirliği açısından %1 ve %2 kitosan kaplı gruplar için sırasıyla 8 ve 10.günler, buna karşılık kaplama uygulanmamış kontrol grubunda 5 gün olarak tespit edilmiştir.

Zambrano-Zaragoza et al., 2014, taze kesilmiş elmaların dolapta depolanmaları sırasında korunması için ksantan gam filmleri ile daldırma, nanokapsülasyon ve nanoemülsiyon yöntemleri kullanılmıştır. Yenilebilir film kaplama olarak ksantan gamın taze meyvelerde kullanımı ile meyvenin lezzet ve aromasını muhafaza ettiği tespit edilmiştir.

#### 4.2.3.3.pH Analizleri

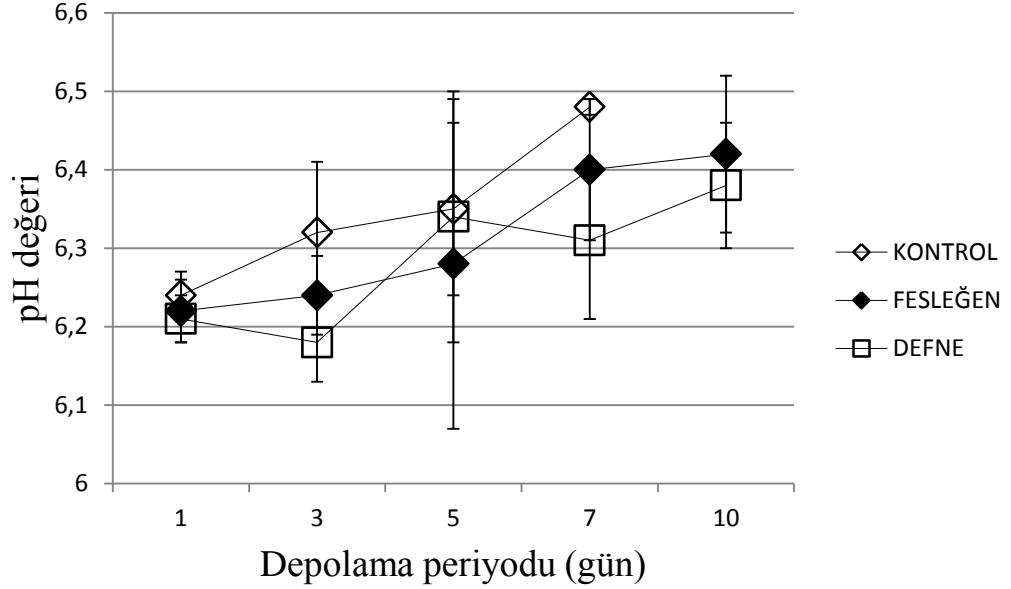
Depolama süresince balık etinin pH değişimleri şekil 4.12' de gösterilmiştir. Gruplar arası pH değerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). Alabalık etindeki pH değeri 6.2 ve 6.5 arasında değişkenlik göstermiş olup, depolama süresince dalgalanmalar tespit edilmiştir. pH değeri tüm gruplar için depolama sonunda 6,5' in altında kalmıştır. Kullanılan ekstraktlar balık etinin pH değerinde önemli bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir ( $p>0.05$ ). Depolama süresi boyunca oluşan pH değerinde kontrol grubunda artışlar görülmüş olup, film kaplamalarında dalgalanmalar tespit edilmiş, değişimlerin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ( $p>0.05$ ). Bilindiği gibi mikrobiyal gelişim ürün pH'sını önemli ölçüde etkileyen bir faktördür. Grupların mikrobiyal değişimleri ile pH değişimlerinin de benzer değişimler olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.11. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarında pH değişimi

Depolama süresi (gün)	KONTROL	FESLEĞEN	DEFNE
1	6,24 ± 0,03 <sup>a1</sup>	6,22 ± 0,04 <sup>a1</sup>	6,21 ± 0,03 <sup>a1</sup>
3	6,32 ± 0,09 <sup>a1</sup>	6,24 ± 0,05 <sup>a1</sup>	6,18 ± 0,05 <sup>a1</sup>
5	6,35 ± 0,11 <sup>a1</sup>	6,28 ± 0,21 <sup>a1</sup>	6,34 ± 0,16 <sup>a1</sup>
7	6,48 ± 0,01 <sup>a1</sup>	6,40 ± 0,09 <sup>a1</sup>	6,31 ± 0,10 <sup>a1</sup>
10		6,40 ± 0,10 <sup>a1</sup>	6,38 ± 0,08 <sup>a1</sup>

Sonuçlar ( $X\pm SS$ ) olarak verilmiştir. Aynı satırdaki harfler gruplar arası istatistiksel farkı, aynı sütundaki rakamlar muhafaza periyodu süresince grup içi farkı belirtmektedir ( $p<0.05$ ). n=3





Şekil 4.12. Alabalık filetoların pH değişimleri

Erkan (2002), soğukta (+4°C) depolanan kolyoza (*Scomber japonicus*) uyguladığı propil gallatın pH değerine etkisini incelediği araştırmasında, depolamanın ilk günü pH değerini 6,07; 12. Gün kontrol grubunda 6,96; % 0,2 propil gallat grubunda 6,61 ve % 4'lük propil gallat grubunda 6,47 olarak bulmuş ve depolamanın 12. gününde sadece kontrol grubunun tüketilebilirlik değerini aştığını vurgulamıştır.

Karpinska (2008), %1 biberiye ekstraktı ilave ettikleri hindi köftelerinde soğuk (4°C) depolama süresince yapılan pH ölçümlerinde, kontrol grubunda pH değerlerinin (6,50-6,38) biberiye içeren gruplara (6,40-6,33) kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Mexis et al. (2009), buzdolabı koşulları altında depolanan (4 °C) gökkuşuğu alabalığında pH, 6.65–6.09 olan başlangıç değerinden düşüşler sergilemiş ve sonrasında protein yıkım ürünlerinin oluşumundan dolayı 6.86'a ulaşmıştır.

Mantoğlu (2010), yaptığı çalışmada kekik ekstraktı kullanılarak levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) raf ömrünü tespit etmek amacıyla yapılan analizlerden olan pH ölçümleri sonucunda, kontrol grubunun pH'ı 1. ayda 6.11, kekik ekstraktı uygulanmış deney grubunda ise 6.07'lik bir değere ulaşılmıştır. 6.27'lik başlangıç pH'ı elde edilen levrek filetolarına bakıldığında, depolama periyodu sonunda kontrol grubunun pH değeri 6.47, deney grubunun pH değeri ise 6.44 tespit edilmiş, 6 aylık depolama periyodu sonrasında kontrol grubunun pH değeri ortalamasının 6.28 olurken, deney grubunun pH değeri ortalaması ise 6.23 olduğu bulunmuştur.

Balıklarda pH değerinin 6.0'dan 7.1'e kadar çeşitlilik göstermesini ölüm sonrasındaki; mevsim, tür, yem kompozisyonu ve miktarını gibi çeşitli faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir (Olsson et al., 2007). pH'taki farklılıklar muhtemelen balıktaki farklı beslenme durumundan kaynaklı da olabileceği düşünölmektedir. Depolama süresince pH'taki artış balık bozulması bakterileri tarafından diğer biyogen aminlerin yanı sıra amonyak ve trimetilamin gibi temel bileşenlerin ortaya çıkması ile alakalı olabileceği bildirilmektedir (Kyrona et al., 1997).

Çalışmamızda bulmuş olduğumuz sonuçlarla önceki yapılan çalışmalar uyumlu olup, bozulma dolayısıyla dalgalanmalar ve gruplar arasında farklılıklar önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

#### 4.2.3.4.Bakteri tayinleri

Balıklarda bakteriyel floranın çoğunlukla aerobik veya fakültatif anaerobik, psikrofilik Gram negatif çubuklardan *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* ve *Vibrio* cinslerini dominant olarak içerdieği bildirilmektedir. Gerek doğada yaşıyan gerekse yetistiriciliği yapılan gökkuşaeğı alabalıklarının solungaçlarında *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Aeromonas* ve *Coryneform* grubun predominant oldukları bildirilmektedir. Ancak *Corynebacteria* ve *Vibrio*'nun kültürü yapılan salmonidlerden ziyade doğada yasayanlarda daha fazla görölebildiği belirtilmektedir (Diler vd., 2000).

İnsan gıdası olarak tüketilen tatlı ve deniz suyu balıklarında dominant bakteri tanımlamaları bu besinlerin bakteriolojik kalitesini belirleyip, aynı zaman da bozulma nedenlerini ortaya koymaktadır. Spesifik bakteri tayinleri ve yoğunluğu ile balığın avlandığı çevrenin mikrobiyal popölasyonu ve yoğunluğu hakkında bilgi edinilebilir (çizelge 3.13). Bu amaçla deniz ve tatlı su balıkların deri, solungaç ve bağırsak florası bakterileri incelenmektedir (Yaman ve Esendal, 2004). Tatlısu balıklarının sindirim kanalında özellikle *Aeromonas*, *Plesiomonas*, ve *Enterobacteriaceae* familyasının üyeleri bulunur. Diğer bakteri cinslerinden *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella* ve *Pseudomonas* ise sudan ve diyetten kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae*'nin gökkuşaeğı alabalığı (*Salmo gairdneri*), kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) ve sazan (*Cyprinus sp.*)'da dominant olduğu belirlenmiştir. (Diler vd., 2000).

Çizelge 4.12. Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak bakteriyel florası (Yaman ve Esendal, 2004).

Tatlı su balıkların deri mikroflorası	Deniz balıkların deri mikroflorası	Deniz balıkların solungaç mikroflorası	Tatlı su balıkların bağırsak mikroflorası
<i>Acinetobacter spp.</i> <i>Alcaligenes spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Flexibacter spp.</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Acinetobacter spp.</i> <i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Cytophaga spp.</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas marina</i> <i>Vibrio spp.</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus firmus</i> <i>Coulobacter spp.</i> <i>Coryneform spp.</i> <i>Hyphomicrobium vulgare</i> <i>Lucibacterium harveyi</i> <i>Photobacterium angustum</i> <i>Prostecomicrobium spp.</i>	<i>Alcaligenes spp.</i> <i>Flavobacterium spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i> <i>Achromobacter spp.</i>	<i>Acinetobacter spp.</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Serratia spp.</i> <i>Aeromonas spp.</i> <i>Flexibacter spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i>

Balıklarda bulunan bakteri florasının derilerindeki mukusun inhibe edici etkisi ile bakteri oluşumun gözlenebileceği ve yaşadıkları suyun bakteriyel florasına göre de değişiklik göstereceği bildirilmiştir (Horsley, 1997). Yaptığımız bu çalışma sonuçlarına göre de Gram negatif bakterilerden *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* türlerin daha yoğun geliştiği, bunun da alabalıkta var olan bakteri florasından kaynaklı üremelerin olduğu gözlemlenmiştir.

Vibriolarda türlerinden olan *V. metschnikovii* sulu ortamları seven ve o ortamlarda bulunan bir bakteridir. Vibrioların neden olduğu hastalıkların çoğu, deniz suyu ya da deniz ürünlerinin yenilmesi ile ilgilidir. Nitekim *V. metschnikovii*, içme suları, nehir ve lağım sularından, midye, istiridye, karides, yengeç, istakoz ve balık gibi deniz ürünlerinden sık olarak izole edilebilmektedir (Güdücüoğlu, vd., 2003).

*Pseudomonas spp.*; Son derece önemli olan bu cinsin türlerinin bazıları oksidaz pozitif, bazıları oksidaz negatiftir. Türlerin tamamı katalaz(+), gram(-),

aerobik, polar flagellası ile hareket edebilen çubuk şekilli bakterilerdir. Aerobik olmaları nedeniyle gıdaların yüzeyinde hızla gelişebilmeleri sonucu okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Psikrofil, mezofil veya psikrotrof türleri vardır. Özellikle soğukta saklanan et, tavuk eti, yumurta ve deniz ürünlerinin birinci derecede bozulma etmenidirler. Bazı gıda maddeleri üzerinde *Pseudomonas fluoresans* yeşilimsi pigment oluştururlar. Isı ve radyasyonla kolayca öldürülürler, oksijen olmadığı zaman ve 42 ° C' nin üzerinde üreyemezler ve kurumaya direçlilikleri zayıftır (Yapar, 2006).

*Serratia liquefaciens* ve *Serratia marcescens* türleri *Enterobacteriaceae* familyasına ait en önemli türlerindedir. Gram(-), aerobik, proteolitik, bazı gıdalarda ve agar yüzeyinde genellikle kırmızı pigment oluştururlar. *Serratia marcescens* ette ve sütte gelişerek kırmızı pigment oluşturur (Yapar, 2006).

*Erwinia* spp.; *Enterobacteriaceae* familyasına dahil gram(-), katalaz(-), anaerobik enterik çubuklardır. Çoğu 37°C'de gelişme gösterirken bazı suşlarının buzdolabı sıcaklığında geliştiği (hatta 1°C'de gelişebilen suşları) belirlenmiştir. Bitkilerde protopektin halinde bulunan pektini, sahip oldukları protopektinaz enzimi ile parçalayarak bakteriyel yumuşak çürümeye neden olurlar (Ayhan, 2000). *Enterobacteriaceae* familyasının bazı üyeleri, işlem görmemiş gıdalar ile ekipmanlar üzerinde *E. coli*'den daha uzun süre canlılığını devam ettirmektedirler. *Erwinia* suşları ile *Serratia* türleri bitkisel kaynaklıdır ve fekal kontaminasyona işaret etmezler (Yapar, 2006). Çalışmamızda bu türün tayini defne ve fesleğen ekstraktlı gruplarda tespit edilmiş olup, bitkisel kaynaklı bakteriyel üremenin olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda tespit edilen toplam *Enterobacteriaceae* değerlerin tamamının bozulma yapan bakterilerden olmaması olduğu düşünülmektedir.

Maya ve küfler, balıklarda normal flora içerisinde bulunmazlar. Bu mikroorganizmalar genellikle toprak orijinli olup, balıkların avlandığı anda sudan veya avlanma sonrası kullanılan alet ve malzemelerden bulaştığı bilinmektedir. *Trichospora inkin*; Oksidatif ve askospor oluşturmayan maya cinsidir. Gerçek misel oluştururlar ve şekerleri ya zayıf ya da hiç fermente edemezler. Taze karides, sığır kıyması, kanatlı etleri, dondurulmuş kuzu eti ve diğer pek çok gıdada bulunmaktadır. (Can vd., 2007). Bu çalışmada da maya türlerinden *Candida zeylanoides*, *Trichospora inkin* ve *Candida calliculosa* spesifik tür tayinleri yapılmış olup, ekstraksiyonunda kullanılan bitki kaynaklı ve ya tesisten getirilen alabalıkların fileto işlemi esnasında hijyenik çalışılmamış olmasından kaynaklı olacağı düşünülmektedir. Balıkların paketlenmesi esnasında ise hijyenik ve aseptik şartlarda çalışılarak, eldiven ve steril malzemeler kullanılarak çalışılmıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Raf ömrü sona ermeden üründe oluşan mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal bozulmalar gıda güvenliği açısından tüketiciyi, gıda kaybı açısından da üreticiyi yakından ilgilendirmektedir. Ayrıca tüketiciler tarafından tüketilmeyip firmaya geri gönderilen ürünler ülkemizde toplam gıda kaybını da arttırmaktadır. Antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösteren bazı antimikrobiyal maddelerin yenilebilir filmlerde kullanımı ile tüketimi fazla olan ve çabuk bozulan su ürünlerinde ekonomik kayıpların engellenmesi, raf ömrünün arttırılması ve yeni bir aktif ambalaj teknolojisinin uygulanabilirliğinin sağlanması planlanmıştır.

Çalışmamızda ekstraktların MİK analizleri ve yenilebilir filmlerde yapılan disk difüzyon sonuçları doğrultusunda antimikrobiyal etkinlik değerleri tespit edilmiştir. Buna göre; test bakterileri üzerinde % 0,1 (w/v) defne ve fesleğen ekstraktın minimum inhibe edici konsantrasyon olduğu belirlenmiştir. Limon yaprağı ekstraktın ise bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitesini sağlamak için çok miktarda limon yaprağı ekstraktına ihtiyaç olacağından yalnızca defne ve fesleğen ekstraktıyla çalışmanın daha etkili olacağı saptanmıştır. Yapılan denemelerde alabalık filetolarına kaplama işlemin uygulanmasında uygun konsantrasyonun % 0,5 (w/v) ksantan gam yenilebilir film çözeltisi olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın son aşaması olarak alabalık filetoları kalitesini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yenilebilir filmler ile kaplama işlemi için % 0,5 ekstrakt / film çözeltisi oranları doğal ekstraktlı ksantan gam yenilebilir film çözeltileri üretilmiştir. Mikrobiyolojik, pH ile çiğ ve pişmiş duyuşal analizleri doğrultusunda antimikrobiyal yenilebilir filmin alabalık filetolarının 4°C depolamada duyuşal analiz sonuçlarına göre 3 gün raf ömrünü uzattığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak alabalık filetoların 4°C depolama sonucunda mikrobiyolojik sonuçları ve panelistler tarafından duyuşal değerlendirmeleri doğrultusunda kontrol grubu 7. gün, defne ve fesleğen ekstrakt grubu 10. günde depolama sonlandırılmıştır. Duyuşal analizleri doğrultusunda ilk reddedilen grup olan kontrol grubu 7. gündeki toplam mezofilik arerobik bakteri sayısı 7,75 log CFU / g tespit edilirken, antimikrobiyal kaplı gruplar yaklaşık 2 log düşük değerde olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışma sonuçların bitki ekstraktlarında bulunan etken maddelerin bakterilerin üremesinde azaltıcı veya yavaşlatıcı etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı zamanda yenilebilir film kaplama yöntemiyle; kullanılan doğal ve antimikrobiyal ekstraktların gıda yüzeyi ile temas halinde olup mikrobiyolojik gelişimi engellerken, gıda için koruyucu bariyer tabakası oluşturmuştur. Böylece antimikrobiyal olarak kullanılan madde gıdaya yüzeyden itibaren etkilemekte, ambalaj materyalinden dışarı difüzenmesi engellenmektedir. Bunun için; antimikrobiyal yenilebilir filmlerde insan ve gıdaya yan etkisi olmayacak doğal ajanların tercih edilerek, gıdaya uygun biyopolimer ve antimikrobiyal maddelerin kullanılması önerilmektedir.

Mikrobiyolojik açıdan alabalık filetoalarında defne ve fesleğen ekstraktlı filmlerin kullanımı ile MİK ve disk difüzyon sonuçları doğrultusunda bakteriler üzerine inhibe edici etkisi olduğu, yalnızca laktik asit bakterilerinde belirgin artışın yaşandığı tespit edilmiştir. Defne ve fesleğen doğal antimikrobiyalleri içeren ksantan gam yenilebilir filmler ile kaplamanın örneklerin mikrobiyolojik kalitesine etkilerinin, alabalık filetoaların et dağılımının homojen olmayışına bağlı olarak değiştiği; ancak genel olarak kaplamaların mikrobiyal kalitesi üzerine olumlu bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Yapılacak yeni çalışmalarla antimikrobiyal yenilebilir filmlerin özelliklerinin geliştirilerek hava ve nem geçirgenlik özelliklerinin iyileştirilmesi, modifiye atmosfer uygulaması, vakum uygulaması ile yenilebilir film kaplanan ve doğal antimikrobiyal içeren alabalıklar için raf ömrü ve kalite özellikleri artırılabilir.

Çalışmamızda belirlenmiş olan % 0,1 (w/v) defne ve fesleğen ekstraktlarının; ksantan yenilebilir filmine ilave edildiğinde ve ardından alabalığa kaplanmasıyla bakteriler üzerinde etkinliğinde farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Yapılan önceki çalışmalar ve yapmış olduğumuz bu çalışmanın sonucunda insan sağlığını olumsuz yönde etkilemeyen doğal maddelerin yenilebilir filmlerle kullanımında gıdalarda da muhafaza süresini artırdığı görülmüştür. Fakat tüketici beğenisini en çok etkileyen lezzet ve koku bileşenleri dikkate alındığında, ürüne

uygun dogal antioksidan ve antimikrobiyal ilave edilen maddelerinin uygun miktarlarda ve uygun bileşenler ile kullanılması gerektiği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmada defne ve fesleğen ekstraktlı yenilebilir filmlerin alabalık filetolarında kaplanarak bakterilere azaltıcı etki gösterme nedenleri; bitki ekstraktlarda bulunan etken maddelerin enzimleri inaktif etme yeteneğine ve film kaplama ile gıdada bariyer görevi oluşturmaya bağlanabilir. Fakat alabalık filetolarının heterojen et dağılımından dolayı film kaplamada bulunan antimikrobiyal maddelerin etin yüzeyinden itibaren yayılımının farklı olduğu, bundan dolayı balıkta farklı antimikrobiyal ve duyuşsal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bunun temel nedeni antimikrobiyal paketlemenin ağırlıklı olarak gıda yüzeyi ve yüzeye yakın çevresine nüfus etmesinden dolayı gıdada etkisinin farklı olmasıdır.

Çalışmada API bakteri identifikasyon kitleriyle bozulma yapan 14 farklı bakteri ve 3 farklı maya tanımlaması yapılmıştır. Tanımlama oranları ile birlikte izole edilen maya türleri; %98,3 oranında *Candida zeylanoides*, % 92,7 oranında *Trichospora inkin* ve %84,5 oranında *Candida calliculosa*, laktik asit bakterileri olarak; *Lactobacillus salivarius* %99,9, *Lactobacillus brevis* %99,6, *Lactobacillus acidophilus* %89,1, *Lactococcus lactis spp.* %81,8 tanımlamaları yapılmıştır. *Enterobacteriaceae* türlerinden; *Serratia liquefaciens* %98, *Serratia marcescens* %98, *Erwinia spp.* %85 türleri bitkisel kaynaklı bakteriler olup yalnızca defne ve fesleğen yenilebilir film kaplı gruplarda, *Moraxella* %76 türü ise tüm gruplarda tayin edilmiştir. Mezofilik bakteri türlerinden; *Pseudomonas fluorescens* %99,9, *Pseudomonas luteola* %99,7, *Vibrio metschnikovii* %99,4, *Pasteurella multocida* %98, *Pseudomonas putida* %96,8, *Ralstonia picketti* %91,1 tespit edilmiştir.

Son yıllarda yenilebilir filmler üzere çok sayıda çalışma yapılmasına karşın, doğal antimikrobiyal yenilebilir filmlerin su ürünlerin raf ömrü arttırması yönünde çalışmalar sınırlı sayıdadır. Ayrıca fesleğen ve defne ekstraktların ksantan gam biyopolimerinde uygulanarak antimikrobiyal film üretimi ve su

ürünlerinde kullanımı ile raf ömrü ve bozulma yapan bakterin saptanması üzerine yapılan ilk çalışma olmuştur. Yenilebilir filmlerde diğer bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğinin ölçülmesinde ve değerlendirilmesinde, bu çalışmanın yararlı olacağına ve çalışma sonuçların daha sonra yapılacak çalışmalara öncülük edeceğine inanılmaktadır. Uygun antimikrobiyal doğal bitki ekstraktları içeren filmler, taze olarak tüketilecek su ürünlerinde depolama süresince görülen mikrobiyolojik bozulmaların önlenmesinde, gıda güvenliğinin sağlanmasında ve ürün raf ömrünün arttırılmasında yarar sağlayabilecektir. Ayrıca biyolojik olan bu yenilebilir film kaplama ambalajlarının çevre kirliliği yaratmayıp, insanlara ve çevreye zararı olmayacaktır. Bununla beraber dış yüzeyde bulunan plastik ambalaj materyal kalınlığı azalacağından dolayı ambalaj atıkları miktarı azalacak ve çevre kirliliği bir ölçüde önlenmiş olacaktır. Ekstraktların, doğal olmaları ve kalıntı sorununa yol açmamaları nedeniyle bitkilerin, özellikle sağlıklı ve bitkisel gıda destekli fonksiyonel gıdaların üretiminde önemli bir değer olacağı tahmin edilmektedir. Geliştirilmiş olan filmler su ürünlerinde antimikrobiyal paketlenme veya koruyucu paketlenme amacıyla kullanılacak, tüketiciye güvenilir ulaşması sağlanacaktır. Ancak, geliştirilen filmlerin çeşitli su ürünlerinde denenmesi amacıyla ilave çalışmalar gerçekleştirilmesi gerekmektedir.



**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Adams, M.R., Cooke R.D. and Twiddy D.R.**, 1987, Fermentation Parameters Involved In The Production Of Lactic Acid Preserved Fish-Glucose Substrates, *International Journal of Food Science & Technology*, 22(2), 105–114pp.
- Akcan, T., Ergezer, H. ve Serdaroğlu S.**, 2012, Yenilebilir Defne ve Adaçayı Ekstraktı Katkılı Filmlerin Köfte Tipi Et Ürünlerinde Yağ Oksidasyonu Üzerine Etkileri, Türkiye 11. Gıda Kongresi; Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 537s.
- Akgül A. and Kıvanç M.**, 1989, Sensitivity four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs, and citrus peel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47: 129-132 pp.
- Akgül, A.**, 1993, Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın no: 15 Ankara. 451 s.
- Aksu, M. İ. ve Derman H.**, 2012, Sığır Kıymasının Kalite Özellikleri ve Raf Ömrü Üzerine *Trachystemon Orientalis L.* Ekstraktlarının Etkisi, Türkiye 11. Gıda Kongresi; Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 41s.
- Altundağ, Ş. ve Aslım, B.**, 2005, Kekiğin Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisi, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 3: 7, 12-14s. [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050702.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050702.pdf)
- Alzokery, N., S. and Nakahara, K.**, 2003, Antibacterial activity of ectracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80:223-230 pp.
- Anonim, 2000**, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Anonymous**, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 s.
- Appendini, P. and Hotchkiss, J.H.**, 2002, Review of Antimicrobial Food Packaging, *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 3: 113-126pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M. and Yanık, T.,** 2004, Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 97:209–214pp.
- Arismendi, C., Chillo, S., Conte, A., Nobile, M. A. D., Flores, S. and Gerschenson, L. N.,** 2013, Optimization of physical properties of xanthan gum/tapioca starch edible matrices containing potassium sorbate and evaluation of its antimicrobial effectiveness, *LWT - Food Science and Technology*, 1-7pp.
- Avila-Sosa R., Palou E., Jiménez Munguía M.T., Nevárez-Moorillón G.V., Navarro Cruz A.R. and López-Malo A.,** 2012, Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films, *International Journal of Food Microbiology* 153, 66–72pp.
- Ayana, B.,** 2007, Antimikrobiyal yenilebilir filmlerin üretimi ve özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Mersin, 61 s.
- Ayhan, K.,** 2000, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara 522 s.
- Baki, B. İ.,** 2013, Organik Orta Nemli Bazı Meyvelerin Üretiminde Organik Biyokoruyucu İçeren Yenilebilir Levan Filmle Kaplamanın Kaliteye Etkileri, yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- Baron, J. and Sumner, S.,** 1993. Antimicrobial Containing Edible Films As An Inhibitory System To Control Microbial Growth On Meat Products, *J. Of Food Prot.*, 56; 916pp.
- Başer, K.H.C.,** 2010, Tıbbi ve Aromatik Bitkisel Ürünlerin Üretimi ve Kalite Kontrolü, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, Eylül 2010.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Baumgart, J., Firnhaber, J. und Spicher, G.,** 1986, Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg-Germany.
- Bayram, E., Kırıcı, E., Tansi, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S. ve Telci, İ.,** 2010, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Bildiriler Kitabı-1, 11-15 Ocak 2010 Ankara, 437-457s.
- Baytop, T.,** 1999, Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, Geçmişte ve Bugün. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 550s.
- Biomérieux,** 2002, API 20 CH, REF 50 300, 07945F-tr.
- Biomérieux,** 2002, API 20 STAPH, REF 50 300, 07945-tr.
- Biomérieux,** 2004, API 20 NE, REF 20 050, 07615-tr.
- Biomérieux,** 2005, API 20 C AUX, REF 20 210, 07628F-tr.
- Biomérieux,** 2006, API 20 E, REF 20 100 / 20 160, 07584F-tr.
- Bonilla, A., Sveinsdottir, K. and Martinsdottir, E.,** 2007, Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study, *Food Control*, 18, 352–358pp.
- Bouaziz, M. and Sayadi, S.,** 2005, Isolation and Evaluation of Antioxidants from Leaves of Tunisian Cultivar Olive Tree, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107: 497-504pp.
- Cadun, A., Kışla, D. and Çaklı, S.,** 2008, Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life, *Food Chemistry*, 109; 81–87 p.
- Cagri, A., Ustunol, Z., Osburn, W. and Ryser, E.T.,** 2003, Inhibition of *Listeria monocytogenes* on hot dogs using antimicrobial whey protein-based edible casings, *J Food Science*, 68(1), 291–9 pp.
- Campo, J., Amiot, M. J. and Nguyen-The, C.,** 2000, Antimicrobial effect of rosemary extracts, *Journal of Food Protection*, 63; 1359-1368pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Can, P.Ö., Arslan, A. ve Özdemir, P.,** 2007, Eugenolün Çiğ Balık Filetolarının Muhafaza Süresi Üzerine Etkisi, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, 5 (2), 125-128s.
- Caner, C. ve Küçük, M.,** 2004, Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Gıdalara Uygulanabilirliği. Gıda Mühendisliği ve Gıda Sanayi Dergisi, 2, 8s.
- Carno, J., Beltran J.A. and Roscales, P.,** 2008, Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging, Meat Science, 80; 1086-1091pp.
- Cerit, L. S.,** 2008, Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, D: Yard. Doç. Dr. Ramazan GÖKÇE, Denizli.
- Cha, D., Hyuk Choi, J., Chinnan, M.S. and Jin Park, H.,** 2002, Antimicrobial Films Based on Na-Alginat and  $\kappa$ -Carrageenan, Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 35, 715-719 pp.
- Chiu, P.E., and Lai, L.S.,** 2010, Antimicrobial activities of tapioca starch/decolorized hsian-tsau leaf gum coatings containing green tea extracts in fruit-based salads, romaine hearts and pork slices. International Journal of Food Microbiology, 139, 23-30 pp.
- CLSI,** 2012, Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second First Informational Supplement, M100-S22, 32: (3), Wayne, PA January.
- Coşkun, F.,** 2010, Gıdalarda Kullanılan Bazı Baharat ve Baharat Özülerinin Antimikrobiyal Aktivitesi, Akademik Gıda, 8 (4), 41-46 s.
- CSPI,** 2014, Outbreak Alert 2014, A REVIEW OF FOODBORNE ILLNESS IN AMERICA FROM 2002 to 2011, CENTER FOR SCIENCE IN THE PUBLIC INTEREST, APRIL 2014, Center for Science in the Public Interest, (<http://cspinet.org/reports/outbreakalert2014.pdf>) (Erisim tarihi: 25.06.2014).

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Çalıkoğlu, E.**, 2008, Fındıkların Uçucu Yağ İçeren Yenilebilir Protein Filmlerle Kaplanması Depolama Sırasındaki Oksidatif Stabilite Ve Duyusal Kalite Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Çeliker, G.**, 2006, Nanotechnology in packaging industry and its applications, Yaşar paint and chemical group, 8 s.
- Datta, S., Janes, M. E., Xue, Q. G., Losso, J. and La Peyre, J. F.**, 2008, Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella anatum* on the Surface of Smoked Salmon Coated with Calcium Alginate Coating Containing Oyster Lysozyme and Nisin, *Journal of Food Science*, 73(2): 67-71pp.
- Debeaufort, F., Quezade J.A. and Voilley, A.**, 1998, Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299–313p.
- Del-Valle, V., Herná'ndez-Munoz, P., Guarda, A. and Galotto, M.J.**, 2005, Development of a cactus mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life, *Food Chemistry*, 91, 751–756pp.
- Demirci A.Ş. ve Arıcı, M.**, 2008, Mikrobiyal Yolla Üretilen Gamlar ve Gıda Sanayinde Kullanımı, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 897-900 s.
- Diler, Ö., Altun, S., Çalıkuşu, F. ve Diler, A.**, 2000, Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin Yasadığı Ortam ile İlişkili Kalitatif ve Kantitatif Bakteriyel Florası Üzerine Bir Arastırma, *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 251–259s.
- Dursun, S., Erkan, N. ve Yeşiltaş, M.**, 2010, Doğal biyopolimer bazlı (biyobozunur) nanokompozit filmler ve su ürünlerindeki uygulamaları, *Journal of FisheriesSciences.com*, 4(1): 50-77s.
- Ekşi, A.**, 2005, Bilimsel ve yasal açıdan gıdaların fonksiyonelliği, Gıda Kongresi 2005, 19-21 Nisan, 6-12 s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Field, C.E., Pivarnick, L.F., Barnett, S.M. and Rand, A.,** 1986, Utilization Of Glucose Oxidase For Extending Shelf Life Of Fish, *J. Of Food Sci.*, 51: 66-70 pp.
- Fitzpatrick, P., Meadows, J., Ratcliffe, I. and Williams P.A.,** 2012, Control of The Properties of Xanthan/Glucomannan Mixed Gels by Varying Xanthan Fine Structure, *Carbohydrate Polymers*, 92, 1018–1025pp.
- Flores, S.K., Costa, D., Yamashita, F., Gerschenson, L.N. and Grossmann, M.V.,** 2010, Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion, *Materials Science and Engineering*, 30, 196–202 pp.
- Frutos M.J. and Hernandez-Herrero J.A.,** 2004, Effects of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on the stability bread with an oil, garlic and parsley dressing, *LWT-Food Sci Technol* 38, 651-655pp.
- Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L. and Krochta, J.M,** 1994, Edible Coatings and Films Based on Proteins”, JM. Krochta, EA. Baldwin, MO. Nisperos- Carriedo, *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Company, 201-277 pp.
- Glicksman, M.,** 1969, *Gum Technology in the Food Industry*, Academic Press, New York.
- Gogotsi, Y., Welz, S., Ersoy, D.A. and McNallan, M. J.,** 2001, Conversion of silicon carbide to crystalline diamond-structured carbon at ambient pressure, *Nature*, 411 (6835), 283-287pp.
- Gök, V.,** 2007, Gıda Paketleme Sanayinde Akıllı Paketleme Teknolojisi, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1: 45-58s.
- Gökmen, V. ve Öztan, A.,** 1995, Gıdaların Raf Ömrünü Etkileyen Faktörler Ve Raf Ömrünün Belirlenmesi, *GIDA, Gıda Teknolojisi Derneği*, 20(5): 265-271s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Guo, J., Ge, L. Li, X., Mu, C. and Li, D.,** 2014, Periodate oxidation of xanthan gum and its crosslinking effects on gelatin-based edible films, *Food Hydrocolloids*, 39, 243-250pp.
- Güdücüoğlu, H., Bozkurt, H., Kurtoğlu, MG., Bayram, Y., Yaman, G. ve Berktaş, M.,** 2003, Çeşitli örneklerden izole edilen *vibrio metschnikovii* suşlarının biyokimyasal özellikleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları, *Van Tıp Dergisi*, 10:(4), 1001-1007s.
- Harrigan, W.F. and Mc Cance, M.E.,** 1976, *Labaratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, Revised ed., Academic Press, London.
- Hisar, Ş.A., Hisar, O., Alak, G. ve Yanık, T.,** 2008. Isırgan Otunun Gökkuşacağı Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. 1. Ulusal Alabalık Sempozyumu, 14-16 Ekim 2008, Isparta.
- Holetz F.B., Pessini G.L., Sanches N.R., Cortez D.A., Nakamura C.V. and Filho B.P.,** 2002, Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*, 97 (7): 1027-1031pp.
- Holzapfel, W.H., Geisen, R. and Schillinger, U.,** 1995, Biological Preservation of Foods with Reference to Protective Cultures, Bacteriocins and Food-Grade Enzymes, *International J. Food Microbiol.*, 24: 343-362pp.
- Horsley, R. W.,** 1977, A review of the bacterial flora of teleost and elasmobranchs, including methods for its analysis, *J.Fish Biology*, 10:6,529-553pp.
- International Commission On Microbiological Specifications For Foods (ICMSF),** 1998, *Microorganisms in Foods, 6, Microbial Ecology of Food Commodities*. Baltimore, MD: Blackie Academic and Professional.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)**, 1986, Sampling plans for fish and shellfish ICMSF, Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications, (2nd ed.). Toronto, Canada: University of Toronto Press 181–196.
- İbrahim Sallam, K.**, 2007, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566–575 pp.
- İlhan, E.**, 2010, Farklı Oranlarda Dana Kırıntı Eti İle Formüle Edilen Hamburger Köftelerinde Biberiye Ekstraktı İlavesinin Raf Ömrüne Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- İnanlı, A.G. ve Kuzgun, N.K.**, 2012, Uçucu Yağlarla Zenginleştirilmiş Kitosan Filmlerin Antimikrobiyal Aktivitesi, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 28-35 s.
- Jouki, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Koocheki, A. and Khazaei, N.**, 2014, Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets, *International Journal of Food Microbiology* 174 (2014) 88–97 pp.
- Kamel, C.**, 2000, A Novel Look at a Classic Approach of Plant Extracts. *Feed Mix, Special-2000*, 19-21 pp.
- Karpinska, M.** 2008, Effect of the addition of ground rosemary on the quality and shelf-life of turkey meatballs during refrigerated storage, *British Poultry Science*, 49 (6); 742-750 pp.
- Kenar, M., Ozogul, F. and Kuley, E.**, 2010, Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) fillets. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 2366–2372 pp.
- Kester J.J. . and Fennema, O.R.**, 1986, Edible Films and Coatings: A Review, *Food Technology*, 40, 12,47-58 pp.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kılıç, S.**, 2008, Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 451s.
- Kılıççeker, O. ve Küçüköner, E.**, 2004, Balığın Türkiye'deki Durumu, beslenmemiz ve Sağlığımızdaki Yeri. Bilimsel Gıda, (2):25-29 s.
- Kılınc, B. ve Yavuz, A.B.**, 2011, Farklı Laktik Asit Konsantrasyonlarının 4 °C'da Depolanan Alabalık Filetolarının Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkileri, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 4 (1), 31-36 s.
- Kıran, F., ve Osmanağaoğlu, Ö.**, 2011, Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 27(1): 62-74s.
- Krochta, J., Baldwin, E. and Nisperos, M., 1994**, Edible Coating and Film to Improve Food Quality. Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, Basal, 379pp.
- Krochta, J.M. and DeMulder-Johnston, C.**, 1997, Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. Food Technologie, 51(2), 61-74 pp.
- Kuş, B.**, 2012, Altınotu Ve Ökseotu Bitki Ekstrelerinin Alabalık Filetosu Üzerindeki Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkilerinin İncelenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Kyrana, V. R., Lougovois, V. P. and Valsamis, D. S.**, 1997, Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice, International Journal of Food Science and Technology, 32: 339–347 pp.
- Lacroix, M., Saucier, L., Caillet, S. and Qussalah.,** 2006, Inhibitory Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth of Four Pathogenic Bacteria: E.coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control. 18(5), 414-420 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Laohakunjit, N. and Noomhorm, A.**, 2004, Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film, *Starch/Starke*, 56: 348–356 pp.
- López de Lacey, A.M., López-Caballero, M.E. and Montero P.**, 2014, Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life, *LWT - Food Science and Technology*, 55, 559-564 pp.
- Mantoğlu, S.**, 2010, Kekik Ekstraktının Levrek Balığının (*Dicentrarchus Labrax*) Raf Ömrüne Etkisi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- McHugh, T.H. and Krochta, J.M.**, 1994, Milk protein-based edible films and coatings. *Food Technologie*, 48(1), 97-103 pp.
- Meral, R. ve Doğan, İ. S.**, 2009, Fonksiyonel Öneme Sahip Doğal Bileşenlerin Unlu Mamullerin Üretiminde Kullanımı, *Gıda*, 34 (3): 193-198s.
- Mexis, S.F., Choulara, E. and Kontominas, M.G.**, 2009, Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C, *Food Microbiology*, 26:598–605 pp.
- Milci, S. ve Yaygın, H.**, 2006, Peynirlerden Kaynaklanan *Staphylococcus aureus* Zehirlenmesi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 297,298 s.
- Min, S. C., Harris, L. J., Han, J. H., and Krochta, J. M.**, 2005, *Listeria monocytogenes* inhibition by whey protein films and coatings incorporating lysozyme, *J. Food Protect.*
- Mohan, C.O. , Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V. and Srinivasa Gopal, T.K.**, 2012, Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage, *Food Hydrocolloids*, 26, 167-174 pp.
- Nasar-Abbas, S.M., Halkman, A.K. and Al-Haq., M.I.**, 2004, Inhibition of Some Foodborne Bacteria by Alcohol Extrakt of Sumac (*Rhus Coriaria L.*), *Journal of Food Safety*, 24 (2): 257-267 pp.
- Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C. and Silva, G.L.**, 2000, Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria, *Brazilian Journal of Microbiology*, 31, 247 – 256 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Marino, A. and Canatelli, M. A.,** 2000, Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity. *Letters in Applied Microbiology*. 30:379-384 pp.
- O'Gara E., Hill D.J. and Maslin D.J.,** 2000, Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 2269-2273pp.
- O'Neil, J.M., Smith, A., Heckelman, P.E., Obenchain, J.R., Gallipeau-R., J.R., D'Arecca and M.A., Budavari, S.,** 2001, The Merck Index. Published by Merck Research Laboratories Division of Merck&Co., Inc.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Sosseini, S. M. H.,** 2010, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chemistry*, 120 193–198 pp.
- Olsson, G. B., Seppola, M. A. and Olsen, R. L.,** 2007, Water-holding capacity of wild and farmed cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) muscle during ice storage, *LWT-Food Science and Technology*, 40: 793–799 pp.
- Ostergaard, A, Embarek, P.K.B., Wedell-Neergaard, C., Huss, H.H. and Gram, L.,** 1998, Characterization of anti-listerial lactic acid bacteria isolated from Thai fermented fish products, *Food Microbiol*, 15(2), 223–233 pp.
- Özçandır, S. and Yetim, H.,** 2010, Intelligent Packaging Technologies and Food Traceability, *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1) 1-11 pp.
- Palalı, H.,** 2007, Laktik Asit Bakterilerinde Transkripsiyon Regülasyonu, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Paleologos, E. K., Savvaidis, I. N. and Kontominas, M. G.,** 2004, Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Food Microbiology*, 21: 549–557pp.
- Paulus, K., Zacharias, R., Robinson, L. and Geidel, H.,** 1979, Kritische Betrachtungen Zur “Bewetenden Prüfung Mit Skale” Als Einem Wesentlichen Verfahren Der Sensorischen Analyse. *LWT - Food Science and Technology*, 12 (1), 52-61pp.
- Perry, R. H. and Green, D.W.,** 1997, *Perry’s Chemical Engineers Handbook*, McGraw-Hill, 7th edition, USA, 2581 p.
- Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R. and Casanova, J.,** 2002, Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L.oils from Sardinia and Corsica, *Flavor and Fragrance Journal*, 17; 15-19 pp.
- Polat, H.,** 2007, İşlenmiş Et Ürünlerinde Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı, Afyon.
- Poovarodom, N., Tarakhet W. and Wanchaitanawong, P.,** 2009, Antimicrobial Effects of Herb Extracts and Their Applications in Edible Films, *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43 : 760 – 767pp.
- 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 Food Sci Technol*, 38, 859–865pp.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K., and Salokhe, V.M.,** 2005, Physical and Antibacterial Properties of .Alginate-Based Edible Film Incorporated with Garlic Oil, *Food Research International*, 38, 267-272 pp.
- Purma, Ç. ve Serdaroğlu, M.,** 2006, Akıllı ambalaj sistemlerinin gıda sanayinde kullanımı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Quintavalla, S. and Vicini, L.,** 2002, Antimicrobial Food Packaging In Meat Industry, Meat Science, 62, 373-380pp.
- Rhim, J. W. and Ng P. K. W.,** 2007, Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(4): 411-433pp.
- Roura, S. I., Valle, C. E., Ponce, A. G. and Moreira, M. R.,** 2005, Inhibitory Parameters of Essential Oils to Reduce a Food Borne Pathogen. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 38: 565-570pp.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M. and Özçelik S.,** 2002, Effects of Turkish Spice Extracts at Various Concentrations on the Growth E. coli O157:H7. Food Microbiology. 19:473-480pp.
- Sarıkuş, G.,** 2006, Farklı Antimikrobiyal Maddeler İçeren Yenilebilir Film Üretimi ve Kaşar Peynirinin Muhafazasında Mikrobiyal İnaktivasyona Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, 69 s.
- Schelz, Z., Molnar, J. and Hohmann, J.,** 2006, Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia, 77 (4): 279-285 pp.
- Seydim, A.C. and Sarikus, G.,** 2006, Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils, Food Research International, 39; 639-644 pp.
- Seydim, A.C., Seydim, Z., Ekinçi, F.Y., Demir, N. ve Özdemir, M.,** 2007, Peynir Aktı Suyu Proteini İçeren Aktif Yenilebilir Ambalaj Geliştirilmesi ve Kaşar Peyniri Ambalajı Olarak Kullanılması, TÜBİTAK Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Grubu, Proje NO: TOVAG-3343.
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D. and Corke, H.,** 2007, The In Vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts, International Journal of Food Microbiology, 117: 112-119 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Shaw, S.J., Bligh, E.G. and Woyewoda, A. D.**, 1983, Effect of potassium sorbate application on shelf-life of atlantic cod, *Food Science Tech.*, 16, 237-241pp.
- Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enrione, J., Osorio, F. and Aguilera, J.M.**, 2010, Food hidrocoloids edible films and coatings. In Hollongworth, C. (ed). *Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures*, 41–80 pp.
- Soares, R. M. D., Lima, A. M. F., Oliveira, R. V. B., Pires, A.T.N. and Soldi, V.**, 2005, Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources, *Polymer Degradation and Stability*, 90 (3), 449–454pp.
- Sothornvit, R.**, 2011. Edible coating and post-frying centrifuge step effect on quality of vacuum-fried banana chips, *Journal of Food Engineering*, 107, 3–4, 319–325 pp.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G. and Vittoria, V.**, 2007, Potential Perspectives Of Bio-Nanocomposites For Food Packaging Applications, *Trends İn Food Sci & Tech*, 18, 84-95pp.
- Sungur, B. ve Ercan, R.**, 2004, Suda Çözünebilir Gamların Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17, 28-32s.
- Sürengil, G.**, 2010, Antimikrobiyal ambalajlama ve su ürünlerinde kullanımı, Lisans Tezi, Danışman Kılınç, B., Ege Üniversitesi, İzmir.
- Şahin, O.I. ve Bayazit, A.A.**, 2008, Nanokompozit Filmlerin Gıda Sanayi Uygulamaları, Tür-kiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Tekeli, A.**, 2007, Etlik Cıvcıv Rasyonlarında Doğal Büyüme Uyarıcı Olarak Bitkisel Ekstraktların Ve Propolisin Kullanım Olanakları, Çukurova Üniversitesi Zooteknoi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Telci, İ.**, 2005, Reyhan (*Ocimum basilicum L.*) Genotiplerinde Uygun Biçim Yüksekliklerinin Belirlenmesi. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2); 77-83s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Torlak E. ve Nizamlıoğlu M.**, 2009, Doğal antimikrobiyal maddeler ile hazırlanan yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri, Vet. Bil. Derg. 25, 1-2; 15-21 s.
- Toroğlu, S. ve enet, M.**, 2006, Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanlar ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi için Kullanılan Metodlar. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi. 9(2): 12-20 s.
- Tsai G.J., Su W.H., Chen H.C. and Pan C.L.**, 2002, Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation, Fisheries Sci, 68, 170-177pp.
- Turan, F., Gurağaç, R. ve Sayın, S.**, 2012, Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Esansiyel Yağlar, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 5 (1), 35-40s.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., Kruijf, N. and Debevere, J.**, 1999, Developments In The Active Packaging Of Foods, Trends In Food Science and Technology, 10(3), 77-86pp.
- Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J.**, 1998, The effect of essential oils of basil on growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. J.Appl. Microbiol 84(2): 152-158 p.
- Ward, F.M. and Andon, S.A.**, 1993, Water-soluble gums used in snack foods and cereal products. Cereal Foods World, 38: 748-752pp.
- Yaman, F. Ve Esendal, Ö.**, 2004, Balıklarda Probiyotik Kullanımı, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2:6, 1-18s.
- Yapar, F.**, 2006, Parça Et Ve Kıymalarda Erik Ekşisi, Nar Ekşisi ve Limon Tuzunun Antibakteriyal Etkisi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Yemenicioğlu A., Mecitoğlu, ., Arslanoğlu, A., Baysal, T., Arcan, İ. ve Kandemir N.**, 2005, Bıyoprezervatifler Kullanılarak Antimikrobiyel Ve Antioksidant Etkisi Bulunan ok Fonksiyonlu Gıda Ambalajlarının Üretilmesi.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Yener,** 2007, Development of Antimicrobial Protective Food Coating Materials From Edible Alginate Films, the Graduate School of Engineering and Science of Izmir Institute of Technology in Partial Fulfilment of Requirements for the Degree of Master of Science, İzmir.
- Yılmaz, E., Tekinay, A. A. ve Çevik, N.,** 2006, Deniz Ürünleri Kaynaklı Fonksiyonel Gıda Maddeleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (1/1): 523-527 s.
- Yiğit, N. ve Benli, M.,** 2005, Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (Thymus vulgaris) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3(8), 1-8 s.
- Zambrano-Zaragoza, M.,L., Mercado-Silva, E., Del Real L.A., Gutiérrez-Cortez, E., Cornejo-Villegas,M.A. and Quintanar-Guerrero, D.,** 2014, The effect of nano-coatings with  $\alpha$ -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut “Red Delicious” apples, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 22, 188–196pp.
- Zinoviadou, K.G., Koutsoumanis, K.P. and Biliaderis, C.G.,** 2009, Physico-Chemical Properties of Whey Protein Isolate Films Containing Oregano Oil and Their Antimicrobial Action Against Spoilage Flora of Fresh Beef, Meat Science, 82, 338–345pp.
- Zivanovic, S., Chi, S. and Draughton, A.E.,** 2005, Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils, Journal of Food Science, 70, 45-51pp.



## ÖZGEÇMİŞ

Göknur SÜRENGİL, 28.03.1988 İzmir doğumlu, Karşıyaka Ankara İlköğretim ve Karşıyaka Gazi Lisesi'nde öğrenimini tamamlamıştır. 2010 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü 2.'liği ile mezun olmuştur. Lisans eğitimi 2. Sınıftan itibaren Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Gıda Mikrobiyolojisi konusunda çalışmakta olup, son yılında 2209-TÜBİTAK Üniversite Öğrencileri Yurt İçi/Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı ile proje yürütücüsü olarak çalışmıştır. "Antimikrobiyal Ambalajlama ve Su Ürünlerinde Kullanımı" lisans tezi konusunda farklı çalışmalarla ulusal, uluslararası kongre ve seminerlere katılıp, gıda işleme, gıda kalitesi, güvenliği ve mikrobiyolojisi üzerine çalışılmıştır. Ege Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programında çalışmalarına Doç. Dr. Berna KILINÇ ile devam etmiştir. 16-18 Eylül 2010 yılında 6. Uluslararası Ambalaj Kongresi'nde "The Determination of the Microbiological Quality of Shrimps (*Panaeus longirostris*) Coated With whey Protein" çalışmasıyla en iyi poster ikincik ödülü kazanılmıştır. 2011 yılında Doç. Dr. Berna KILINÇ ile "Gıda – Ambalaj Sektöründe Nanoteknolojik Uygulamalar ve Su Ürünleri Açısından Önemi" adlı ilk derleme makalesi yayınlanmıştır. Yüksek lisans eğitimi boyunca akademik çalışmalarına devam etmiş olup, 2012 yılında Erasmus programını kazanarak Belçika Gent Üniversitesi Bioscience Mühendislik Fakültesi Gıda Güvenliği ve Gıda Kalitesi Bölümü, Gıda Mikrobiyoloji ve Gıda Koruma Laboratuvarı'nda bir dönem çalışmaları sonucunda 3 SCI makalesi basılmıştır. Bu SCI kapsamında yayınlar ile Mart 2014'de TÜBİTAK Uluslararası Bilimsel Yayınlar Teşvik (UBYT) ödülü kazanmıştır. Aynı zamanda 3-4 Haziran 2013 tarihlerinde Türkiye İhracat Meclisi'nin (TİM) tarafından gerçekleştirilen "II. Uluslararası Gıda Ar-Ge Proje Pazarı"nda Su Ürünleri kategorisinde "Antimikrobiyal Ambalajlamanın Su Ürünlerine Etkisi" çalışması ile katılıp, yapılan değerlendirmeler sonucunda; 28-30 Kasım 2013 "Türkiye İnovasyon Haftası 2013"de ve 29-30 Mayıs 2014 gerçekleşen "Türkiye İnovasyon Haftası 2014"de sergilenerek, "Su Ürünleri" kategorisinde 1. seçilmiştir.