

**T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**GIDA PROTEİNLERİNDEN KİSMİ HİDROLİZ VE AKTİF MADDE  
İLAVESİYLE ELDE EDİLEN YENİLEBİLİR FİMLERİN YAPISAL VE  
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**RANA ŞEN**

**AĞUSTOS 2020  
UŞAK**

**T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**GIDA PROTEİNLERİNDEN KİSMİ HİDROLİZ VE AKTİF MADDE  
İLAVESİYLE ELDE EDİLEN YENİLEBİLİR FİLMLEİN YAPISAL VE  
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**RANA ŞEN**

**AĞUSTOS 2020  
UŞAK**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Rana ŞEN

**GIDA PROTEİNLERİNDEN KISMİ HİDROLİZ VE AKTİF MADDE  
İLAVESİYLE ELDE EDİLEN YENİLEBİLİR FİLMLEİN YAPISAL VE  
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**(Yüksek lisans tezi)**

**Rana ŞEN**

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Temmuz 2020**

**ÖZET**

Gıda ürünlerinin depolama ve sevkiyat süreçlerinde kalite kayıplarının önlenmesi ve mikrobiyolojik bulaşmaların engellenmesi amacıyla ambalajlama büyük öneme sahiptir. Sentetik ambalajların doğaya verdiği zararları azaltmak amacıyla ve geniş fonksiyonellikleri nedeniyle yenilebilir film ve kaplamalara ilgi son yıllarda artmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada peynir altı suyu ve soya proteinlerinden ısıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz yöntemleri kullanılarak mercanköşk (*Origanum majorana*) yağı ve kekik (*Thymus vulgaris*) suyu eklenmiş antimikrobiyal özellikte yenilebilir film ve kaplama üretimi ve karakterizasyonu hedeflenmiştir. Elde edilen filmlerin fiziksel özellikleri, protein yapısındaki değişimler incelenmiş, kaşar peynirine uygulanan kaplama sonrası tekstürel analizlerle peynirdeki nem kaybı değerlendirilmiştir. Ayrıca filmlerin *Aspergillus niger*'e karşı antimikrobiyal etkinlikleri incelenmiştir. Çalışmanın özgünlüğü hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklı proteinlerden literatürde sıklıkla ifade edilen ısıl işlem değil de enzimatik hidrolizle yenilebilir film oluşturulmasıyla ön plana çıkmaktadır.

Protein çözeltileri için uygun kompozisyonların tespiti sonrası yapılan viskozite tayininde çözeltiler psödoplastik benzeri akışkan özelliği göstermiştir. Kromatografi ve spektroskopi kullanılarak çözeltilerde protein kompozisyonları incelendiğinde gliserol ve antimikrobiyal ajanların protein yapısına bağlandığı tespit edilmiş ve ikincil yapılarda değişiklik meydana getirdikleri gözlenmiştir. Elde edilen yenilebilir filmlerin fiziksel analizlerinde kalınlık ve renk ölçümleri yapılmıştır. Bunun sonucunda antimikrobiyal ilavesinin film kalınlığına etkisi bulunmazken gliserol kalınlığı bir miktar artırmıştır. En

fazla renk değişimi ve yüksek sarılık indeksi soya bazlı filmlerde, en az renk değişimi ise WPI filmlerde gözlenmiştir. Kaplama uygulanan kaşar peynirlerinin tekstürel analizlerine bağlı olarak mercanköşk yağının film yüzeyini sertleştirdiği, dolayısıyla peynirlerde fazla kurumaya sebep olduğu görülmüş, enzimatik hidrolizde ise en az nem kaybı olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal analizler neticesinde mercanköşk yağı ve kekik suyunun *A.niger*'e karşı etki göstermediği ancak sporlanmayı bazı filmlerde baskıladığı grlmştir. Elde edilen tüm bu bulgularla daha fazla detaylı denemeler yapılarak film ve kaplama özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

**Bilim Kodu:**

**Anahtar Kelimeler:** Peynir altı suyu, Soya, Yenilebilir film, Kaplama, Enzimatik hidroliz

**Sayfa Adedi:** 92

**Tez Yöneticisi:** Dr. Öğretim yesi zgr TARHAN

**INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND STRUCTURAL PROPERTIES OF  
EDIBLE FILMS OBTAINED BY PARTIAL HYDROLYSIS OF FOOD PROTEINS  
AND INCORPORATION OF ACTIVE AGENTS**

**(Master Thesis)**

**Rana ŞEN**

**UŞAK UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
July 2020**

**ABSTRACT**

Packaging is of great importance in order to prevent quality losses and to prevent microbiological contamination in food storage and transportation processes. Interest in edible films and coatings has increased in recent years due to their wide functionality and to reduce the damage caused by synthetic packaging to the nature as well. In this study, it was aimed to produce and characterize edible films and coatings with antimicrobial properties by the incorporation of marjoram (*Origanum majorana*) oil and thyme (*Thymus vulgaris*) juice using thermal denaturation and enzymatic hydrolysis methods from whey and soy proteins. The physical properties of the films and changes in protein structure were examined. Moisture loss in cheese samples were evaluated by texture analysis after coating of cheddar cheese. In addition, the antimicrobial activities of the films against *Aspergillus niger* were investigated. The originality of the study comes to the forefront with the creation of edible films from both animal and vegetable-based proteins, not heat treatment, which is often expressed in the literature, but by enzymatic hydrolysis.

The protein solutions showed shear thinning fluid properties in the viscosity measurement performed after determination of appropriate compositions for film solutions. When protein compositions in solutions were examined using chromatography and spectroscopy, it was determined that glycerol and antimicrobial agents binded protein and caused changes in protein secondary structures. In the physical analysis of the edible films obtained, thickness and color measurements were made. As a result, the addition of antimicrobials had no effect on the film thickness, while the glycerol increased the thickness slightly. The highest color change and high yellowness index was observed in soy-based

films, and the least color change was observed in WPI films. Depending on the texture analysis of the cheddar cheese applied to the coating, it has been observed that the marjoram oil hardened the film surface and thus caused excessive drying in the cheeses. The least loss of moisture was achieved in enzymatic hydrolysis. As a result of antimicrobial analysis, it has been observed that marjoram oil and thyme juice had no antimicrobial activity against *A. niger*, but could repress sporulation in some film formulations. With all these findings, it is necessary to conduct more detailed experiments and improve the properties of films and coatings.

**Science Code:**

**Keywords:** Whey, Soy, Protein Edible Film, Edible Coating, Enzymatic Hydrolysis

**Number Page:** 92

**Thesis Supervisor:** Dr. Öğretim Üyesi Özgür TARHAN

## TEŞEKKÜR

Tez alıőmasının her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, karőılaőtığım tüm zorluklarda yol göstererek ilgi ve yardımını esirgemeyen, her türlü imkânı sağlayarak destek olan değerli danıőman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgür TARHAN'a,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olup beni destekleyen değerli aileme ve hep varlıklarıyla bana güç veren oğlum Yiğit ve kızım Bilge'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.





# İÇİNDEKİLER

|  | Sayfa |
|--|-------|
| ÖZET .....   | i     |
| ABSTRACT .....   | iii   |
| TEŞEKKÜR.....  | v     |
| İÇİNDEKİLER.....   | vi    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....  | ix    |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....  | xi    |
| SİMGE VE KISALTMALAR .....                                       | xii   |
| 1.GİRİŞ.....   | 1     |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ.....  | 3     |
| 2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar .....                        | 3     |
| 2.1.1 Protein Bazlı Film ve Kaplamalar .....                     | 5     |
| 2.1.1.1 Peynir Altı Suyu Proteini Bazlı Film ve Kaplamalar ..... | 7     |
| 2.1.1.2 Soya Proteini Bazlı Film ve Kaplamalar .....             | 8     |
| 2.2.Yenilebilir Filmlerin Üretimi.....                           | 10    |
| 2.2.1 Isıl Denatürasyon .....                                    | 10    |
| 2.2.2 Enzimatik Hidroliz.....                                    | 11    |
| 2.3.Yenilebilir Kaplamaların Gıda Uygulamaları.....              | 12    |
| 2.3.1 Daldırma Metodu.....                                       | 12    |
| 2.3.2 Püskürtme Metodu.....                                      | 13    |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                                       | 23    |
| 3.1. Materyaller.....  | 23    |
| 3.2. Protein Film ve Kaplama Çözeltilerinin Hazırlanması .....   | 23    |
| 3.2.1. Hayvansal Kaynaklı Proteinler ile Film Üretimi .....      | 23    |
| 3.2.2. Bitkisel Kaynaklı Protein ile Film Üretimi .....          | 26    |

|   |    |
|---|----|
| 3.3. Fiziksel Analizler .....   | 28 |
| 3.3.1. Görünümün Değerlendirilmesi .....  | 28 |
| 3.3.2. Film Kalınlığı .....   | 28 |
| 3.3.3. Renk Ölçümü.....   | 28 |
| 3.4. Film Çözeltilerinin Viskozite Ölçümleri .....  | 29 |
| 3.5. Spektroskopik ve Kromatografik Ölçümler.....   | 29 |
| 3.5.1. Fourier Dönüştürümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi.....                            | 29 |
| 3.5.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi .....                                   | 30 |
| 3.6. Gıda Uygulaması: Kaşar Peynirlerinin Kaplanması .....  | 30 |
| 3.6.1. Kaplama sonrası tekstür ölçümleri (Mekanik Özelliklerin Değerlendirilmesi).....                | 31 |
| 3.6.2. Mikrobiyolojik Ölçümler (Antimikrobiyal Aktivite Tayini) .....                                 | 31 |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....   | 33 |
| 4.1. Yenilebilir Filmlerin Fiziksel Parametrelerinin (Görünüş, Renk, Kalınlık) Değerlendirilmesi..... | 33 |
| 4.1.1. Ön Denemeler.....  | 33 |
| 4.1.1.1 Konsantrasyon Miktarı, Denatürasyon Süresi ve Gliserol Miktarı Belirleme .....                | 34 |
| 4.1.1.2 Hidroliz Denemeleri .....   | 36 |
| 4.1.1.3 Antimikrobiyal Miktarının Film Yapısına Etkisini İzleme Denemeleri.....                       | 38 |
| 4.1.2. Ön Denemelerde Başarılı Bulunan Film Formülasyonları.....                                      | 38 |
| 4.1.3. Film Kalınlıklarının Değerlendirilmesi.....  | 41 |
| 4.1.4. Renk Ölçümlerinin Değerlendirilmesi.....   | 44 |
| 4.2. Film Çözeltilerinin Viskozite Ölçümlerinin Değerlendirilmesi .....                               | 48 |
| 4.3. Spektroskopik ve Kromatografik Ölçümlerin Değerlendirilmesi.....                                 | 52 |
| 4.3.1 FT-IR Analizi .....   | 52 |

|   |    |
|---|----|
| 4.3.1.1 Kontrol Protein Çözeltilerine Ait FT-IR Sonuçları .....   | 54 |
| 4.3.1.2 WPI Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları .....   | 56 |
| 4.3.1.3. WPC(80) Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları.....   | 58 |
| 4.3.1.4. WPC(35) Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları.....   | 59 |
| 4.3.1.5. Soya Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları.....  | 62 |
| 4.3.2 HPLC Analizi .....  | 63 |
| 4.3.2.1 Kontrol Protein Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları .....  | 64 |
| 4.3.2.2 WPI Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları .....  | 65 |
| 4.3.2.3 WPC(80) Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları.....   | 66 |
| 4.3.2.4 WPC(35) Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları.....   | 67 |
| 4.4. Kaşar Peynirine Uygulanan Yenilebilir Kaplamaların Değerlendirilmesi .....                               | 68 |
| 4.4.1. Yenilebilir Kaplama Uygulanan Peynirlerin Tekstürlerinin İncelenmesi....                               | 68 |
| 4.4.1.1 WPI Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları .....  | 70 |
| 4.4.1.2 WPC(80) Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları .....  | 71 |
| 4.4.1.3 WPC(35) Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları .....  | 72 |
| 4.4.1.4 Soya Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları .....   | 73 |
| 4.5. Antimikrobiyal Değerlendirme.....  | 74 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....  | 77 |
| KAYNAKLAR.....  | 80 |
| EKLER.....  | 90 |
| EK-1 Protein Çözeltilerine Eklenen Ajanların FTIR Sonuçları.....  | 90 |
| EK-2 Film Çözeltilerinin Viskozite Grafiklerine Ait Korelasyon Bağlıtısı ve R <sup>2</sup><br>Değerleri ..... | 91 |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 92 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil   | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1 Gıdaya uygulanan yenilebilir kaplamaların işlev ve özellikleri .....  | 5     |
| Şekil 2.2 Fibril ve globular protein yapıları .....   | 6     |
| Şekil 2.3 Disülfid bağı reaksiyonu .....  | 7     |
| Şekil 2.4 Peynir altı suyu proteini bileşenleri .....   | 8     |
| Şekil 2.5 Soya proteini bileşenleri .....   | 9     |
| Şekil 2.6 Protein hidrolizi .....   | 11    |
| Şekil 2.7 Mercanköşk ( <i>Origanum majorana</i> ) bitkisi.....  | 19    |
| Şekil 2.8 Kekik ( <i>Thymus vulgaris</i> ) bitkisi .....  | 20    |
| Şekil 3.1 Peynir altı suyu protein filmi üretim akış şeması .....   | 25    |
| Şekil 3.2 Soya protein filmi üretim akış şeması .....   | 27    |
| Şekil 3.3 Kaşar peyniri örneklerine yenilebilir kaplama işlemi .....  | 30    |
| Şekil 3.4 Kaplama örneklerinin depolanması .....  | 31    |
| Şekil 3.5 Kesilen ve agar üzerine yerleştirilen antimikrobiyal film diskleri .....  | 32    |
| Şekil 4.1 a) 90°C/1 s denatürasyonda WPI'da gözlenen jelleşme b) 90°C/30 dk denatürasyonda gözlenen protein koagülasyonları ..... | 34    |
| Şekil 4.2 PAS ve soya protein konsantrasyon denemeleri.....   | 35    |
| Şekil 4.3 Soya protein filmlerde gliserol miktarı denemeleri .....  | 36    |
| Şekil 4.4 Protein filmlerde hidroliz süresi denemeleri .....  | 37    |
| Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlarda mercanköşk yağı ilavesinin film görünümüne etkisi..   | 38    |
| Şekil 4.6 Elde edilen yenilebilir protein filmlerin renk değişimleri .....  | 46    |
| Şekil 4.7 Elde edilen yenilebilir protein filmlerin beyazlık indeksleri .....   | 47    |
| Şekil 4.8 Elde edilen yenilebilir protein filmlerin sarılık indeksleri .....  | 48    |
| Şekil 4.9 Protein film çözeltilerine ait artan dönme hızıyla değişen viskozite grafikleri....                                     | 49    |

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 4.10</b> 20, 50 ve 100 rpm dönüş hızlarında protein film çözeltileri viskozite değerleri.<br>.....   | 51 |
| <b>Şekil 4.11</b> Kontrol protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları .....                                   | 54 |
| <b>Şekil 4.12</b> WPI çözeltilerine ait FTIR spektrumları .....   | 56 |
| <b>Şekil 4.13</b> WPC(80) çözeltilerine ait FTIR spektrumları .....   | 58 |
| <b>Şekil 4.14</b> WPC(35) protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları .....                                   | 60 |
| <b>Şekil 4.15</b> Soya protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları.....                                       | 62 |
| <b>Şekil 4.16</b> Kontrol protein çözeltilerine ait HPLC kromatogramları .....                                | 64 |
| <b>Şekil 4.17</b> WPI çözeltilerine ait HPLC kromatogramları .....  | 65 |
| <b>Şekil 4.18</b> WPC(80) çözeltilerine ait HPLC kromatogramları .....  | 66 |
| <b>Şekil 4.19</b> WPC(35) protein çözeltilerine ait HPLC kromatogramları.....                                 | 67 |
| <b>Şekil 4.20</b> 4. ve 8. gün depolama sonrası WPI kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri<br>.....  | 70 |
| <b>Şekil 4.21</b> 4 ve 8 gün depolama sonrası WPC(80) kaplama peynirlerine ait penetrasyon<br>grafikleri..... | 71 |
| <b>Şekil 4.22</b> 4 ve 8 gün depolama sonrası WPC(35) kaplama peynirlerine ait penetrasyon<br>grafikleri..... | 72 |
| <b>Şekil 4.23</b> 4 ve 8 gün depolama sonrası soya kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri<br>.....   | 73 |

## ÇİZELGELER LİSTESİ

| Çizelge  | Sayfa       |
|--|-------------|
| Çizelge 2.1 Farklı antimikrobiyal ajanlar eklenen yenilebilir film ve kaplamalarla ilgili literatür çalışmaları .....                            | 15-16-17-18 |
| Çizelge 4.1 Yenilebilir film formülasyonlarına uygulanan denemeler .....   | 33          |
| Çizelge 4.2 Gliserollü ve gliserolsüz denatüre protein film denemeleri.....  | 36          |
| Çizelge 4.3 Film ve kaplama için uygun bulunan formülasyonlar.....   | 39          |
| Çizelge 4.4 Elde edilen yenilebilir film görselleri.....   | 40          |
| Çizelge 4.5 Kurutma sonrası elde edilen film kalınlıkları .....  | 43          |
| Çizelge 4.6 Kurutma sonrası elde edilen filmlerin renk değerleri.....  | 45          |
| Çizelge 4.7 FTIR titreşim bölgelerine ait referans literatür çizelgesi.....  | 53          |
| Çizelge 4.8 Kontrol protein çözeltileri FTIR pik noktaları.....  | 55          |
| Çizelge 4.9 Kontrol protein çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları .....  | 55          |
| Çizelge 4.10 WPI çözeltileri FTIR pik noktaları.....   | 56          |
| Çizelge 4.11 WPI çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları .....   | 57          |
| Çizelge 4.12 WPC(80) çözeltileri FTIR pik noktaları.....   | 58          |
| Çizelge 4.13 WPC(80) çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları .....   | 59          |
| Çizelge 4.14 WPC(35) protein çözeltileri FTIR pik noktaları .....  | 60          |
| Çizelge 4.15 WPC(35) protein çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları.....  | 61          |
| Çizelge 4.16 Soya protein çözeltileri FTIR pik noktaları .....   | 62          |
| Çizelge 4.17 Soya protein çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları.....   | 63          |
| Çizelge 4.18 4 ve 8 günlük depolama sonrasında kaplama kaşar peynirlerinin penetrasyon dirençleri.....   | 69          |
| Çizelge 4.19 Aktif madde eklenmiş filmlerin <i>A. niger</i> 'e karşı agar difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal etkisinin araştırma bulguları ..... | 76          |

## SİMGE VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

| Simgeler      | Açıklama         |
|---------------|------------------|
| $\mu\text{l}$ | Mikrolitre       |
| $\mu\text{m}$ | Mikrometre       |
| rpm           | Round Per Minute |
| g             | Gram             |
| ml            | Mililitre        |
| C°            | Santigrat Derece |

### Kısaltmalar

| Kısaltmalar | Açıklama                               |
|-------------|--|
| HPLC        | High Performance Liquid Chromatography |
| FT-IR       | Fourier Transform Infrared             |
| IR          | Kızıl ötesi                            |
| UV          | Ultraviyole                            |
| kDa         | Kilodalton                             |
| Mw          | Moleküler ağırlık                      |
| pI          | İzoelektrik nokta                      |
| WPI         | Peyniraltısuyu protein izolatu         |
| WPC         | Peyniraltısuyu protein konsantratu     |
| PAS         | Peynir Altı Suyu                       |
| G           | Gliserol                               |
| MK          | Mercanköşk yağı                        |
| KS          | Kekik suyu                             |
| PDA         | Potato Dextrose Agar                   |
| NB          | Nutrient Broth                         |

## 1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte gıda üretiminin yanı sıra depolama sırasında gıda güvenliği de önem taşımaktadır. Gıda ambalajlarının amacı depolama ve nakliye sırasında gıda ürünlerinin kalitesini ve güvenliğini sağlayarak tehlikeli mikroorganizmalardan, kimyasal bileşiklerden ve güneş ışığı, oksijen, nem gibi dış ortam etmenlerinden koruyarak gıdanın raf ömrünü uzatmaktır. Günümüzde meyve ve sebzeler de dahil olmak üzere birçok gıda ürününde en yaygın olarak kullanılan ambalaj materyali plastiktir. Ancak, plastiğin doğaya verdiği zararlar nedeniyle alternatif olarak etkili ve ucuz ambalaj materyali arayışı başlamıştır. Biyolojik olarak parçalanabilen ambalaj materyalleri içinde, çeşitli biyopolimerlerden elde edilen yenilebilir film ve kaplamalar son yıllarda oldukça ilgi görmektedir. Yenilebilir filmler doğal kaynaklardan elde edilen, gıda yüzeylerine veya gıda katmanları arasına uygulanarak gıdayı dış etkenlerden koruyan, kontrollü oksijen, yağ ve nem geçirgenliği sağlayan bir bariyer görevi gören ve mikrobiyolojik üremeyi yavaşlatarak veya engelleyerek gıdanın raf ömrünü uzatan yenilebilir nitelikteki ambalaj materyalleridir [1].

Yenilebilir kaplamaların gıda ambalajlamasında kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. Çin'de yenilebilir kaplamalar 12. Yüzyıl'dan beri kullanılmaktadır. Turunçgiller başta olmak üzere, meyve ve sebzelere parlaklık vermek ve nem kaybını önlemek için mumdan yapılan kaplamaların uygulandığı bilinmektedir [2]. Daha sonra 15. Yüzyıl'da Japonya'da gıda kalitesini korumak ve görünümü iyileştirmek için soyadan elde edilen Yuba denilen ilk yenilebilir film kullanılmıştır 19. Yüzyıl'da ise ABD'de et ürünlerinde jelatin kaplamalar kullanılmaya başlamıştır [3]. İlk başlarda, genellikle depolama ve taşıma sırasında nem kaybını önlemek için kullanılan yenilebilir film ve kaplamalar, günümüzde antimikrobiyal, antioksidan, renklendirici gibi ajanların ilavesi ile gıdaların kalite özelliklerinin iyileştirilmesi ve raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmaktadır.

Yenilebilir film ve kaplamaların üretiminde proteinler, karbonhidratlar, polisakkaritler ve lipitler tek olarak ya da birleştirilerek kullanılabilir. Peynir altı suyu ve soya proteinleri, kolay elde edilebilir ve ucuz olmaları nedeniyle bu proteinlerden elde edilen film ve kaplamalar son yıllarda aktif gıda ambalajlamasında üzerinde en çok çalışılan film ve kaplama çeşitlerinden olmuştur [4].



Yenilebilir filmler, gıda maddesinden ayrı olarak üretilirken, yenilebilir kaplamalar doğrudan gıda maddesinin yüzeyinde oluşturulmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalar arasındaki temel fark, yenilebilir kaplamaların genelde damlatma, daldırma veya püskürtme yöntemleriyle gıdaya uygulanması, yenilebilir filmlerin ise katı bir tabaka şeklinde hazırlandıktan sonra gıdanın bu film ile sarılması veya gıda tabakaları arasına uygulanmasıdır.

Yenilebilir filmler, bir nem bariyeri veya bir gaz bariyeri olarak işlev görmek, su / lipit çözündürülmesini önlemek, renk ve görünüşü korumak, mekanik ve reolojik özellikleri temin etmek ve toksik olmamak üzere bir dizi spesifik gereklilik yerine getirmelidir. Bu özellikler kullanılan hammaddelerin tipine, üretim sürecine ve nihai amaçlanan uygulamaya bağlıdır.

Termal denatürasyon ve enzimatik hidroliz, yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. Protein yapısındaki moleküler zincirler arasındaki çeşitli molekül içi bağlanmalar, elektrostatik, hidrofobik ve iyonik etkileşimlerle istenilen fizikokimyasal ve mekanik özelliklerde yenilebilir filmler elde edilebilmektedir [5]. Kurutma işleminden sonra filmlerin esnekliğini arttırmak için plastikleştiricilerin kullanımına da ihtiyaç vardır.

Yenilebilir kaplama çözeltisine eklenen antimikrobiyal ajanlar ile kaşar peynirinde mikrobiyal gelişmeyi inhibe etmek, nem kaybını engellemek ve raf ömrünü uzatmak mümkün olabilmektedir. Esansiyel yağların ve bitki özütlerinin bakteriler, mayalar ve küflere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir [6].

Bu çalışmada hayvansal kaynaklı proteinlerden peynir altı suyu ve bitkisel kaynaklı proteinlerden soya proteinlerinin ısıl denatürasyon ve enzimatik hidrolizi ile yenilebilir film ve kaplama malzemelerinin elde edilmesi, film çözeltilerinin ve elde edilen filmlerin bir takım fizikokimyasal ve yapısal özelliklerinin incelenmesi ve bu yapılara mercanköşk yağı ile kekik suyu eklenerek antimikrobiyal etkileri değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın özgünlüğü hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklı proteinlerden literatürde sıklıkla ifade edilen ısıl işlem değil de enzimatik hidrolizle yenilebilir film oluşturulması ve bunların aktif ajanlar için taşıyıcı matriks olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması noktasında kapsamlı bir çalışma olarak ele alınmıştır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Çeşitli gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda yüzeyine uygulanarak birlikte tüketilebilen veya tüketim öncesi gıda yüzeyinden çıkarılabilen doğada çözünebilir malzemeler yenilebilir film veya kaplama olarak kabul edilmektedir. Yenilebilir filmler ve kaplamalar genellikle tek başına veya birbirleriyle kombinasyon halinde kullanılan proteinler, polisakkaritler ve lipitlerden üretilmektedir [7]. Polisakkarit filmler nişasta (patates, mısır, buğday ve türevleri), selüloz (pamuk, odun ve türevleri), gumlar (karragenan, aljinatlar, pektinler, lokust bean ve türevleri) ve kitinden elde edilmektedir. Protein filmler hayvansal bazlı olarak kollajen, kazein, peynir altı suyu ve jelatinden, bitkisel bazlı olarak soya, zein ve glütenden üretilirken; lipit filmler vakslar ve çapraz bağlı trigliseridlerden üretilmektedir [8].

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdaların doğal tabakalarından oksijen, karbondioksit ve etilen gibi önemli gazların kontrollü geçişini sağlarken ürün raf ömrünün uzamasına katkı sağlamakta, su buharı geçirgenliğini de kontrol altında tutarak nem kayıplarını önlemektedir. Ayrıca gıda bileşenlerinde yer alan yağlar, çeşitli aroma bileşikleri ve besinlerin de migrasyonunu kontrol altında tutmaktadır [3]. Ek olarak, bir gıda ürününün görünümünü ve kalitesini iyileştirebilmekte ve parlaklık veya renk ekleyerek, mikrobiyolojik gelişimi önleyerek tüketicilere daha çekici hale getirebilmektedir.

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, formülasyonlarına, oluşum yöntemine ve uygulanan modifikasyon işlemlerine bağlı olarak yenilebilir ve / veya biyolojik olarak bozunabilir olabilir. Formülasyonda yer alan bileşikler ve katkı maddeleri gıda sınıfı ise ve film oluşumu sadece ısı işlem, pH modifikasyonu, enzimatik işlem ve UV uygulaması ile elde edilirse, üretilen film veya kaplama yenilebilir ve biyolojik olarak bozunabilir. Bununla birlikte, film veya kaplamanın oluşmasından önce veya sırasında yenilebilir olmayan bileşikler ilave edildiğinde artık yenilebilir değildir [9]. Yenilebilir film ve kaplamaların tüketim için güvenli olması gerekirken, uygulandığı ürünlerin duyu özelliklerini etkilememesi, gıda kalitesi ve güvenliğini koruması gerekmektedir. Film ve kaplamaların uygulanabilirliğini büyük ölçüde filmlerin mekanik özellikleri (kopma mukavemeti ve uzama), fizikokimyasal özellikler (nem içeriği, çözünürlük ve şişme indeksi), bariyer

özellikleri (gaz ve su buharı geçirgenliği) ve biyolojik aktiviteleri (antimikrobiyal ve antioksidan özellikler) belirlemektedir [5, 6].

Yenilebilir filmler ve kaplamalar için gereken özellikler kaplanan gıdanın ihtiyaçlarına göre modifiye edilmektedir. Örneğin, oksidasyona duyarlı ürünler düşük oksijen geçirgenliği gerektirirken, meyve ve sebzelerin depolama sırasında dehidrasyonlarını sınırlamak için güçlü nem bariyeri, respirasyonlarını kontrol etmek için uygun gaz bariyeri gerekmektedir [11].

Yenilebilir film ve kaplamalar sentetik ambalajlar ile birlikte çok tabakalı gıda ambalaj malzemeleri olarak uygulanabilmekte ve böylelikle gıda maddeleri ile sentetik materyalin gıda ile doğrudan temasını engelleyebilmektedirler.

Yenilebilir film ve kaplamaların sentetik ambalajlara göre bazı avantajları bulunmaktadır. Buna göre,

1. Biyobozunur özellikte oldukları için çevre dostu olmaları,
2. Film yapısına eklenebilen aroma ve renk maddeleri, tatlandırıcı gibi katkılarla uygulandıkları gıdaların organoleptik özelliklerini geliştirebilme potansiyelleri,
3. Proteinden yapılan filmler başta olmak üzere, gıdaların beslenme özelliklerini geliştirebilme yetenekleri,
4. Heterojen gıdalarda farklı tabakalar arasına uygulanabilirlikleri,
5. Antimikrobiyal ve antioksidan maddelerin yapıya eklenebilmesi ve dolayısıyla gıdaların raf ömrünü uzatmaya fayda sağlamaları, önemli avantajlar arasında sıralanmaktadır.

Avantajlarının yanı sıra yenilebilir filmler bazı dezavantajlara da sahiptir;

1. Sentetik ambalaj materyallerine göre daha maliyetli olması,
  2. Bazı film materyallerinin higroskopik olması mikrobiyal üremeyi artırabilmesi,
  3. Yeni bir teknoloji olduğu için çok fazla tüketici tarafından tanınmıyor olması,
  4. Yenilebilir özellikte oldukları için tüketici sağlığı için ikinci ambalaj materyaline ihtiyaç duyulabilmesi,
  5. Birtakım antioksidan ilavelerinde kanserojen etkilerinin ortaya çıkabilmesi,
- gibi hususlar bu ürünlerle ilgili olarak dikkate alınabilecek dezavantajlardır.

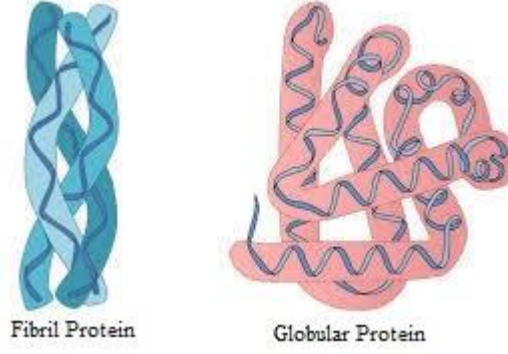
Yenilebilir kaplama formülasyonları hedeflenen gereklilikleri karşılamak için, uygulanacak gıdanın kimyasal bileşimi, saklama koşulları, korunacak veya geliştirilecek özelliklere göre dikkatle seçilmelidir. Gıdaya uygulanacak kaplamalar, gıda güvenliğini sağlamak, besinsel, bariyer ve duyu özellikleri iyileştirmek gibi fonksiyonlara sahip olmalıdır. Ayrıca kaplama seçiminde gıda sınıfı olması, mekanik bütünlüğe sahip olması ve iyi yüzey özelliklerine sahip olması aranmalıdır. Bir kaplamanın istenen fonksiyonel özellikleri şekil 2.1’de verilmiştir.

| Depolama Şartları<br>(Nem, Sıcaklık) | Ürün | Kompozisyon   | Duyusal Özellikler | Formülasyon   | Kaplama | Özellikleri   |
|--------------------------------------|------|---|--------------------|---|---------|---|
|                                      |      | Karbonhidratlar<br>Proteinler<br>Su<br>Aroma<br>Pigmentleri |                    | Tat/Renk<br>Bileşenleri<br><br>Antimikrobiyaller<br>Antioksidanlar<br><br>Proteinler<br>Polisakkaritler<br>Lipidler<br>Emülsifiye<br>Ediciler |         | <b>Güvenlik</b><br><br><b>Besinsel Özellikler</b><br><br><b>Bariyer Özellikleri</b> |

Şekil 2.1 Gıdaya uygulanan yenilebilir kaplamaların işlev ve özellikleri [12]

### 2.1.1 Protein Bazlı Film ve Kaplamalar

Proteinler, spesifik amino asit dizilerine ve moleküler yapıya sahip makromoleküllerdir. Proteinler doğal hallerinde genellikle fibril ve globular yapıda bulunmaktadır (Şekil 2.2.).



**Şekil 2.2.** Fibril ve globular protein yapıları

Fibril proteinler suda çözünmezken globular proteinler suda çözünür. Globular proteinler, hidrojen, iyonik, hidrofobik ve kovalent(disülfür) bağlarla bir arada tutulan karmaşık küresel yapılara katlanır. Bu proteinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri, amino asit kalıntılarının miktarlarına ve bunların protein polimer zinciri boyunca dizilimine bağlıdır. Kolajen, fibril protein yapısındayken; buğday gluteni, mısır zeini, soya proteini ve peynir altı suyu proteini globular yapıdadır [13].

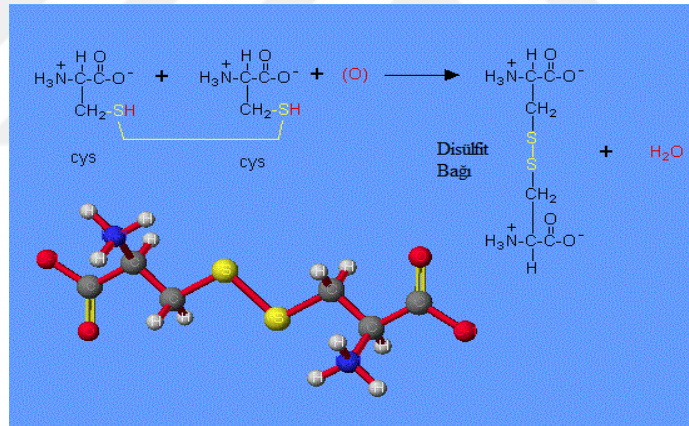
Protein yapısında (ikincil, üçüncül ve kuaterner), ısı denatürasyon, basınç, ışınlama, mekanik işlemler, asidik veya alkali işlemler, hidroliz veya enzimatik işlemler, tuzların eklenmesi veya kimyasal çapraz bağlanma kullanılarak oluşturulabilen konformasyonel değişimlerle istenilen özelliklerde film ve kaplamalar elde etmek mümkündür [14].

Protein bazlı filmlerin, genel olarak mekanik özellikleri iyi, gazlara (oksijen, karbondioksit) karşı bariyer özellikleri güçlü olup, hidrofilik karakterleri sebebiyle su buharı geçirgenlikleri zayıftır. Protein bazlı filmlerde, gaz ve nem geçirgenliği protein kompozisyonuyla farklılık göstermektedir [3]. Protein polimer zincirlerinde etkileşimin desteklenmesi, daha güçlü fakat daha az esnek olan ve gazlar ve su buharı için daha az geçirgen olan filmlerin oluşumuna sebep olmaktadır. Hidrojen veya iyonik bağ yoluyla birleşebilen gruplar içeren polimerler, mükemmel oksijen bariyerleri olan ancak neme duyarlı filmlerle sonuçlanır. Dolayısıyla protein filmlerinin düşük bağıl nemde iyi oksijen bariyerleri olması beklenir [13].

### 2.1.1.1 Peynir Altı Suyu Proteini Bazlı Film ve Kaplamalar

Peynir altı suyu, peynir üretimi sırasında elde edilen bir yan üründür. %85-90'ı sudan oluşan peynir altı suyunun katı kısmı laktoz, proteinler, yağlar ve minerallerden oluşmaktadır. Peynir altı suyu proteinleri, peynir altı suyundan termal çökeltme sonrasında ultrafiltrasyon, santrifüj yoluyla ya da düzenli filtrasyon yoluyla geri kazanılabilir [15]. Özünde besleyici özelliklerinin yanı sıra, peynir altı suyu proteinleri, yenilebilir filmlerin oluşumu için gerekli olan çeşitli fonksiyonel özellikler sergiler. Peynir altı suyu proteinlerinde moleküller arası disülfid bağlarının oluşması için ısı denatürasyona gereksinim vardır. Bu bağlar sayesinde filmler dayanıklı hale gelmektedir. Süt proteini ağındaki trigliseritlerin varlığı, düşük polariteleri nedeniyle su buharı bariyer özelliklerini önemli ölçüde artırır. Ayrıca, daha opak ve nispeten esnek olmayan filmlere ve kaplamalara yol açarlar [16].

Proteinlerin ısı denatürasyona uğratılması sonucu, sülfidril grupları okside olmakta ve tiol-disülfid değişimi ile polimerizasyon gerçekleşmektedir (Şekil 2.3).

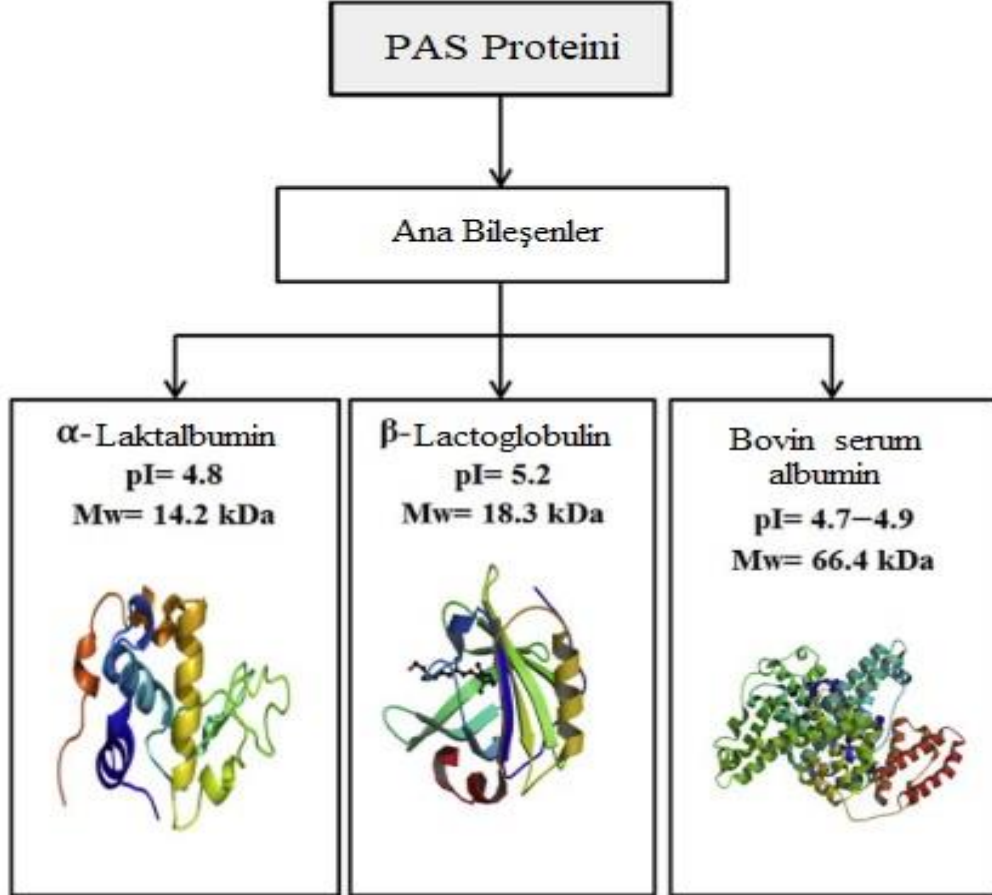


Şekil 2.3. Disülfid bağı reaksiyonu

Yenilebilir filmler, polimerizasyon sırasında meydana gelen kovalent disülfid bağları sayesinde suda çözünmeyen yapıda oluşmaktadır. Peynir altı suyu proteinlerinden elde edilen yenilebilir filmler şeffaf, tatsız, renksiz ve düşük nem geçirgenliğine sahiptirler. Çok kırılğan olmaları nedeniyle yapıyı yumuşatıcı madde ilavesi gerekmektedir. Bu nedenle yapıya eklenen plastikleştiriciler ile filme esneklik sağlanır ve fakat bu su buharı geçirgenliğinin de artmasına sebep olur [12]. Lipit gibi hidrofobik maddelerin yapıya eklenmesiyle peynir altı suyu protein filmlerin su buharı geçirgenliği azaltılabilmektedir. Fakat lipit ilavesinde filmin duyusal özellikleri etkilendiği için, eklenecek lipit miktarı

dikkatli seçilmelidir. Bu film ve kaplamalar ayrıca aroma bileşikleri ve yağa karşı mükemmel bariyer özellikleri sergilerler [2].

Şekil 2.4'de gösterildiği gibi peynir altı suyu proteinlerinin ana bileşenleri,  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin ve sığır serum albümini içeren küresel proteinlerdir.

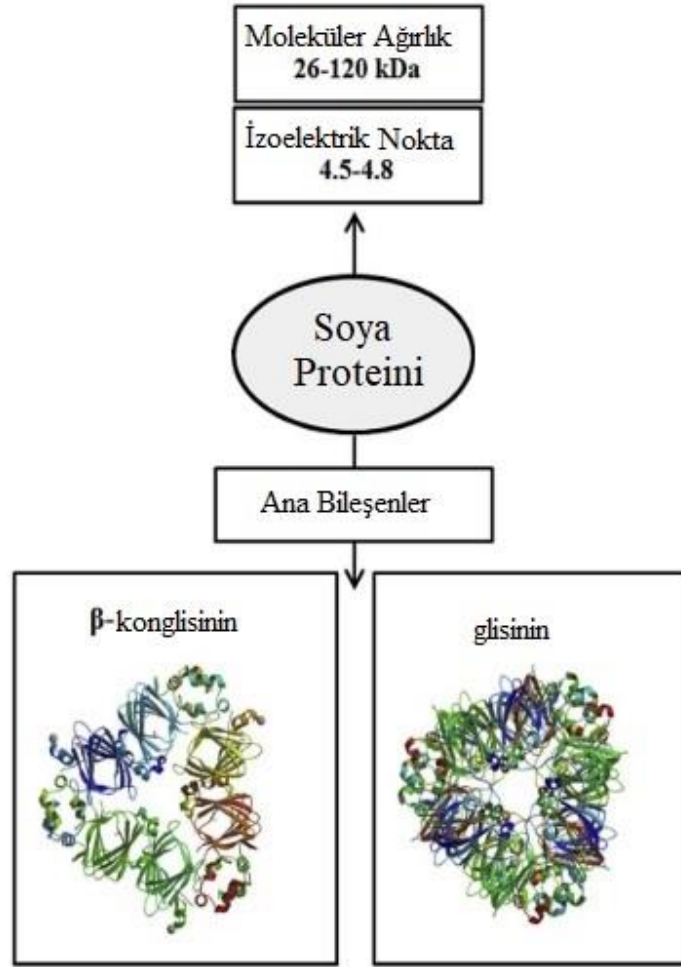


Şekil 2.4 Peynir altı suyu proteini bileşenleri [17]

### 2.1.1.2 Soya Proteini Bazlı Film ve Kaplamalar

Kolay elde edilebilir, ucuz ve işlevselliğinin fazla olması nedeniyle son yıllarda soya proteini bazlı film ve kaplamalara ilgi artmıştır. Soya proteini, soya yağı üretimi sırasında soya fasulyesinden ekstrakte edilir. Soya proteinlerinin yaklaşık %90'ı globulindir. Globulinler, alt birimlerin hidrofobik ve hidrojen bağlanması ile ilişkili olduğu protein fraksiyonlarıdır [5]. Soya proteinin başlıca bileşenleri, polimerleştirme yeteneğine sahip moleküler ağırlığı 150 ila 200 kDa olan  $\beta$ -konglisin (7S) ve moleküler ağırlığı 300 ila 380

kDa olan glisindir (11S) [7]. Soya proteini filmleri genellikle 11S ve 7S proteininin disülfür bağları ile polimerleştirilmesiyle oluşturulur [18]. Glisinin agregasyonu, daha organize yapıların şekillenmesi nedeniyle daha sert bir jel oluşumuna katkıda bulunur. Bununla birlikte, glisinin köpürme kabiliyeti ve emülsifiye edici performansının, disülfür bağları ile stabilize edilmiş yoğun ağı nedeniyle  $\beta$ -konglisinden daha düşük olduğu bildirilmiştir [17]. Soya proteinlerinin bazı temel özellikleri şekil 2.5'te gösterilmektedir.



**Şekil 2.5** Soya proteini bileşenleri [17]

Soya protein filmleri lipid ve polisakkarit filmlere kıyasla daha iyi bir gaz bariyeri özelliğine sahiptir. Bununla birlikte soya protein filmleri hidrofiliğe neden olan %58 polar amino asitler içerir. Doğal hidrofiliplikleri, proteinin güçlü moleküler etkileşimi nedeniyle



pratik uygulamalarda tatmin edici mekanik özellikler veya su buharı bariyer özellikleri göstermez. Bu özellikler yüksek nemli koşullar altında zayıflar. Protein filmlerinin fiziksel özelliklerini arttırmak için çeşitli yöntemler önerilmiştir. En yaygın çözümlerden biri, uygun film formülasyonu ve hazırlama koşullarını kullanmaktır [19].

## **2.2.Yenilebilir Filmlerin Üretimi**

Filmin üretim koşulları, elde edilen filmin fiziksel özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yenilebilir film oluşturmak için kullanılan en yaygın yöntem solvent döküm yöntemidir. Bir çözücü içerisinde hazırlanan protein çözeltilerine plastikleştirici gibi malzemeler eklenerek homojenize edilir. Daha sonra ısı uygulaması veya enzimatik hidroliz gibi yöntemler kullanılarak protein yapısında molekül içi etkileşim sağlanır. Oda ısısına getirilen çözelti düz bir yüzey üzerine yayılır ve daha sonra kurutulur. Çözeltinin kurutulması sırasında, polimer zincirleri film yapısı oluşturmak için kendilerini hizalayana kadar, çözücünün buharlaşması polimerin çözünürlüğünde bir azalmaya yol açar [20]. Kurutma sonrasında herhangi bir zarar vermeden yüzeyden kolayca soyulabilen filmler elde etmek için döküm yüzeyinin seçimi önemlidir. Film yapıları, kurutma koşullarına (sıcaklık ve bağıl nem), çözelti döküm kalınlığına ve ayrıca döküm çözeltisinin bileşimine bağlıdır. Saf polimerlerden hazırlanan filmler kırılma eğilimindedir ve genellikle kuruduktan sonra çatlarlar, bu nedenle plastikleştiricilerin ilavesi gereklidir. Çözeltilerin hızlı bir şekilde kurutulması, çözücü konsantrasyonu azaldığında polimer zincirlerinin hareketliliği kısıtlandığından, film yapısı içinde moleküller arası bağlanmayı sınırlar. Bu nedenle, hızlı kurutma genellikle filmlerde çatlak veya kıvrılma gibi kusurlara neden olur [3].

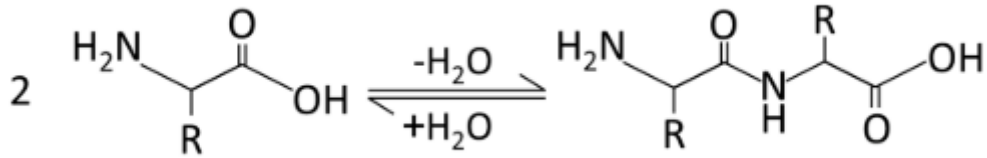
### **2.2.1 Isıl Denatürasyon**

Filmlerde protein çapraz bağlanmasını arttırmak için kullanılan fiziksel yöntemler arasında en sık kullanılan ısı işlemidir. Film oluşturucu çözeltilerin termal muamelesi sırasında proteinlerin ve mevcut fonksiyonel grupların üç boyutlu yapısı açılarak protein denatüre edilir, bu da hidrofilik grupların açığa çıkmasına sebep olur [14]. Kurutma sırasında, katlanmamış proteinler birbirine yaklaşır ve moleküller arası etkileşimler (disülfür ve hidrofobik etkileşim) ile bağlanır. Bu, plastikleştirici maddeler gibi film bileşenlerinin tutulması için matris görevi gören bir protein ağının oluşumunu sağlar. Film oluşumu

denatürasyon koşullarında meydana geldiğinde, proteinin filmde tamamen denatürasyon durumunda kaldığı varsayılır [13]. Farklı proteinlerin değişen zaman ve sıcaklıklarda ısıl denatürasyona uğratılması ile protein filmlerin gerilme ve bariyer özellikleri geliştirilebilmektedir. Denatürasyon sonrası oluşturulan filmlerin gerilme kuvvetindeki artış, başlangıçta protein molekülünün içine doğru yer alan S-H gruplarının ısıl denatürasyon sırasında açığa çıkarak moleküller arası kovalent disülfid bağların oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir [14]. Peynir altı suyu proteinlerinin ısıl denatürasyonu 70°C’de başlarken, soya proteinlerinin 90°C’de başlar [5].

### 2.2.2 Enzimatik Hidroliz

Proteinler peptit bağları ile bağlı amino grupları içeren polimer zincirlerdir. Şekil 2.6’da görüldüğü gibi hidroliz reaksiyonu sırasında su moleküllerinin eklenmesi ile amid bağları kırılır ve peptitler ve/veya serbest amino asitler açığa çıkar [21]. Katlanmış protein molekülünde gömülü hidrofobik grupların hidroliz sonrası açığa çıkması ve yan polipeptitlerle etkileşime girmesiyle oluşan agregatların jel ağları oluşturduğu ve proteinlerin jelleşme özelliğini artırdığı yapılan çalışmalarla gözlemlenmiştir [22].



Şekil 2.6 Protein hidrolizi [5]

Protein hidrolizi için kimyasal ve enzimatik olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Kimyasal yöntem daha basit ve ekonomik üretim maliyetine sebep olsa da prosesi kontrol etmek genellikle zordur ve hidrolizatta istenilen fonksiyonel özelliklerin kaybolmasına sebep olabilmektedir. Enzimatik hidrolizde bu tür dezavantajlar yer almadığı için son yıllarda daha popüler hale gelmiştir [23].

Kısmi hidroliz yöntemiyle hem proteinlerin jelleşme yeteneği hem de oluşan jellerin kuvveti kontrol edilebilmektedir. Proteinlerin jelleşme kabiliyeti ve jel mukavemeti, enzime, jelasyonun pH değerine ve hidroliz derecesine bağlı olarak azaltılabilir veya artırılabilir

[24]. Bu nedenle, istenen işlevselliğe sahip ürünler üretmek için proteoliz reaksiyonu dikkatle izlenmeli ve kontrol edilmelidir [25].

Proteaz olarak da adlandırılan proteolitik enzimler proteinlerde peptit bağlarının hidrolizini katalize ederek daha düşük molekül ağırlıklı ürünlerin oluşmasına yol açarlar. Proteazlar hayvan, bitki ve mikrobiyolojik kaynaklardan türetilmektedir. Bakteriyel proteazlar *Bacillus* cinsi bakteriler tarafından üretilmektedir. *Bacillus licheniformis* suşu tarafından üretilen bir alkalın proteaz olan alkalaz, nispeten ucuz ve yaygın olarak kullanılan gıda sınıfı endüstriyel bir enzimdir [26]. Alkalazın hidrolizi ile elde edilen protein jeli, kovalent olmayan, özellikle hidrofobik etkileşimlerle bir arada tutulan düşük moleküler ağırlıklı peptitlerden oluşmaktadır [27]. Enzimlerin spesifikliği ve basit reaksiyon şartları gerektirmesi nedeniyle proteinlerin enzimatik hidroliz yöntemiyle muamelesi sonucu yenilebilir film oluşturmak faydalı bir yöntemdir [14].

### **2.3.Yenilebilir Kaplamaların Gıda Uygulamaları**

Yenilebilir kaplamalar, uygulandıkları gıda maddesinin yüzeyinde doğrudan bir film oluşumunu içerir. Bu nedenle, kaplamalar filmlerden daha incedir ve filmler tüketim öncesi gıda yüzeyinden çıkarılabilirken yenilebilir kaplamalar kullanım ve tüketimi boyunca ürün üzerinde kalır [9]. Yenilebilir kaplamalar lipid oksidasyonunu, mikrobiyal büyümeyi, nem kaybını ve esmerleşmeyi engelleyerek gıda kalitesini korumaktadır. Gıdalara kaplama uygulaması, kuruyemiş, nohut gibi gruplar halinde ambalajlanan taneli ürünlere tek tek uygulanarak oksidasyon, mikrobiyal büyüme gibi olumsuz şartlar için koruma şansı getirmiştir [28].

Yenilebilir kaplamalar gıdalara daldırma, püskürtme, dökme, köpüklenme ve fırça ile boyama gibi tekniklerle uygulanabilmektedir. Uygulama tekniği gıdanın türüne göre zarar vermeyecek şekilde seçilmelidir [29]. Kullanımda sıklıkla tercih edilen daldırma ve püskürtme yöntemleri aşağıda açıklanmıştır.

#### **2.3.1 Daldırma Metodu**

Günümüzde daldırma metodu gıdalara yenilebilir kaplama uygulamalarında en yaygın yöntemdir. Daldırma metodu, düzensiz yüzeyde homojen bir kaplama yapılmasına

olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde gıda maddesi film çözeltisine daldırılarak bir süre bekletilir, çıkarılıp süzülür ve film oluşumunun sağlanması için kurutulur. Daldırma yönteminin kolay ve düşük maliyet gibi avantajlarının yanında, kaplama çözeltisini seyreltmesi, yüksek miktarda kaplama malzemesinin kalması ve daldırma tankında mikroorganizma büyümesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır [30].

### **2.3.2 Püskürtme Metodu**

Kaplama uygulamasında püskürtme, yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu teknik, homojen kaplama, kalınlık kontrolü ve kaplama çözeltisini kirletmeyen ardışık uygulama imkânı sunar [30]. Püskürtme ile uygulanan filmler, daldırma ile uygulananlardan daha ince, daha homojen bir şekilde oluşturulabilir. Daldırma yönteminden farklı olarak püskürtme yöntemi, kaplama uygulanacak gıdanın belli bir kısmına uygulanabilmesi için daha elverişlidir. Ayrıca bu yöntem düşük viskoziteli çözeltilerin kaplanması için daha uygundur [31]. Son zamanlarda, gıda endüstrisinde elektrostatik püskürtme teknolojisinin kullanımına artan bir ilgi vardır. Bu yöntem, damlacık boyutunu kontrol ederek damlacık birikmesini arttırabilir ve homojen dağılım üreterek israfı azaltabilir [30].

### **2.4. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Plastikleştiriciler**

Protein filmleri kırılğan yapıda olduğu için yapıyı yumuşatıcı plastikleştirici ilavesi ile filme esneklik kazandırılabilir. Film oluşturucu çözeltideki plastikleştirici konsantrasyonu arttığında, daha az sert ve dolayısıyla daha fazla uzatılabilir filmler ortaya çıkar. Bu durum, muhtemelen plastikleştiricilerin biyopolimer zincirler arasındaki etkileşimleri azaltırken, polimer zincir hareketliliğini ve moleküller arası mesafeyi arttırmaları ile ilişkilidir [1]. Kullanılan plastikleştirici türü, molekül ağırlığı protein filmlerin çözünürlük, mekanik ve bariyer özelliklerini etkilemektedir. Genel olarak, küçük moleküler ağırlıklı plastikleştiriciler protein matrislerine daha iyi dahil edilebilir ve yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerden daha iyi bir plastikleştirme etkisi üretirler [19]. Plastikleştiricilerin polaritesi de etkinliklerini etkiler; polarite ne kadar yüksek olursa, protein matrisinde hidrojen bağ zinciri etkileşimleri daha fazla zayıflar, bu da matrisde daha fazla hacme sebep olur [12].

Yenilebilir protein film ve kaplama üretiminde filmin kırılmasını engellemek amacıyla glukoz, fruktoz-glukoz şurupları ve sukroz gibi mono, di veya oligosakkaritler; gliserol, sorbitol, gliserol türevleri, polietilen glikoller gibi polioller; fosfolipitler ve yağ asitleri gibi lipit ve türevleri plastikleştirici olarak kullanılmaktadır [32]. Gliserol renksiz, kokusuz, hidroskobik, tatlı ve viskoz bir sıvıdır. Gliserol bir şeker alkolüdür ve yapısında bulunan 3 hidrofilik alkolik hidroksil grupları (-OH) gliserolün suda çözünmesini sağlar [33]. Erime noktası 17.8 °C olan gliserol, sabun üretim prosesinin bir yan ürünüdür [34]. Genellikle, opaklık plastikleştirici ilavesiyle artar, ancak seyreltme etkisinden dolayı gliserol kullanıldığında azalır.

## **2.5 Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Antimikrobiyal Maddeler**

Yenilebilir filmler antimikrobiyal maddeler için taşıyıcı görevi görmekte, gıda yüzeyine uygulandığında koruyucu ajanın gıdanın içine difüzyon hızını kontrol etmektedir. Böylelikle gıda kaynaklı patojenik bakterilerin üremesinin kontrol edilmesinde, raf ömrünün uzatılmasında ve gıda ürünlerinin güvenliğinin sağlanmasında fayda sağlamaktadır.

Film ve kaplamalarda enzim (lizozim), bakteriyosin (nisin), organik asit (malik, sorbik, laktik asit vb.), uçucu yağ (mercanköşk, kekik, sarımsak, tarçın vb.), bitki ekstraktı (limon, kekik vb.), metalik nanokompozit malzemeler (gümüş nanopartiküller), fungusit ve kitosan gibi doğal antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. Doğal antimikrobiyaller olarak uçucu yağların ve özellikle bitki ekstraktlarının gıdalarda kullanımı tüketiciler tarafından gittikçe ilgi görmektedir [35].

Antimikrobiyaller genellikle inaktivasyon için farklı konsantrasyon eşiklerine sahiptir. Bu eşikler hücre duvarı, hücre zarı, metabolik enzimler, protein sentezi ve genetik sistemler dahil olmak üzere antimikrobiyal maddenin spesifik hedeflerine bağlıdır. Belirli bir antimikrobiyalin etkinliği ayrıca hedef mikroorganizmanın tipine, cinsine, türüne ve suşuna bağlıdır [36]. Yenilebilir film ve kaplamalara antimikrobiyal ajanların dahil edilmesinin, gıdalarda bakteri, maya ve küf oluşumunu geciktirmek veya inhibe etmek için yeni bir alternatif olduğu kanıtlanmıştır ve bu yüzden uygulamalarda giderek yaygınlaşmaktadır [37]. Çizelge 2.1'de antimikrobiyal filmlerle ilgili literatürde yer alan çalışmalar verilmiştir.

**Çizelge 2.1** Farklı antimikrobiyal ajanlar eklenen yenilebilir film ve kaplamalarla ilgili literatür çalışmaları

| Hidrokolloid               | Antimikrobiyal   | Gıda          | M/O   | Lit.                        |
|----------------------------|--|---------------|---|-----------------------------|
| PAS                        | kekik , biberiye , sarımsak yağları                                |               | <i>L. plantarum, S. enteritidis, E. coli O157:H7, L. monocytogenes, S. aureus</i>   | Seydim ve Sarıkuş, 2006     |
| PAS                        | nisin, natamisin, malik asit                                       |               | <i>L. monocytogenes, P. aurogenase, Y. lipolytica, P. roqueforti</i>  | Pintado, 2010               |
| PAS                        | nisin, natamisin, malik asit, EDTA, Tween80, sucrose esterleri     | Peynir        | <i>P. aeruginosa, Y. lipolytic, L. monocytogenes, P. commune, P. chrysogenum</i>  | Pintado, 2010               |
| PAS                        | laktoferrin, lizozim, laktoperoksidaz                              |               | <i>S. enterica, E. Coli O157:H7</i>   | Min, 2005                   |
| PAS                        | p-aminobenzoik asit, sorbik asit                                   | Sosis         | <i>L. monocytogenes, E. coli O157:H7, S. Typhimurium</i>  | Çağrı, 2002                 |
| PAS                        | kekik, karanfil yağları  | Kaşar peyniri | <i>E. coli O157:H7, L. monocytogenes, S. aureus</i>   | Kavas, 2015                 |
| PAS                        | kekik yağı   | Taze et       | <i>Toplam bakteri, Pseudomonas, Laktik asit bakterisi</i>   | Zinoviadou, 2009            |
| PAS                        | lizozim  | Somon füme    | <i>L. innocua</i>   | Boyacı ve ark., 2016        |
| PAS                        | Lactobacillus sakei  | Taze et       | <i>E. coli, L. monocytogenes</i>  | Beristain-Bauza, 2017       |
| PAS                        | sıvı tütüsü  |               | <i>E. coli, S. aureus, L. monocytogenes, B. cereus</i>  | Soazo ve ark., 2016         |
| PAS                        | sitrik asit, laktik asit, kitooligosakkarit, sodium benzoat, nisin |               | <i>E. coli, L. innocua, Y. lipolytica, S. aureus, Salmonella spp, P. fluorescen</i>   | Ramos, 2012                 |
| PAS                        | kekik, karanfil yağları  | Tavuk göğüs   | <i>Pseudomonas spp, Enterobacteriaceae, Toplam aerobic mesofilik bakteri, Lactic acid bakterisi, Toplam aerobic psikrofil bakteri</i> | Fernández-Pan ve ark., 2014 |
| PAS, Soya, Gluten, Albumin | nisin  |               | <i>L. monocytogenes</i>   | Ko, 2001                    |
| Kitosan                    | kekik, karanfil yağları  | Kaşar peyniri | <i>L. monocytogenes</i>   | Torlak ve Nizamoğlu, 2009   |

|                             |   |                         |   |                                 |
|-----------------------------|---|-------------------------|---|---------------------------------|
| <b>Kitosan</b>              | <b>kekik, karanfil yağları</b>  | Kaşar peyniri           | <i>S. aureus, E. Coli O157:H7</i>   | Torlak ve Nizamoğlu, 2011       |
| <b>Kitosan</b>              | <b>bergamut yağı</b>  |                         | <i>P.italicum</i>   | Sánchez-González ve ark., 2010  |
| <b>Kitosan</b>              | <b>çayağacı yağı</b>  |                         | <i>P.italicum, L. monocytogenes</i>                                       | Sánchez-González ve ark., 2010  |
| <b>Kitosan</b>              | <b>sarımsak yağı, potasyum sorbat, nisin</b>                          |                         | <i>E.coli, S.aureus, L.monocytogenes, B.cereus</i>                        | Pranoto ve ark., 2005           |
| <b>Kitosan</b>              | <b>anason, fesleğen, kişniş, kekik</b>                                | İşlenmiş et             | <i>L.monocytogenes, E.coli O157:H7</i>                                    | Zivanovic, 2005                 |
| <b>Kitosan</b>              | <b>asetik asit, laktik asit</b>                                       | Dana rosto              | <i>L.monocytogenes</i>  | Beverly, 2008                   |
| <b>Kitosan</b>              | <b>balık yağı</b>   | Kaşar peyniri           | <i>küf</i>  | Yangilar, 2016                  |
| <b>Kitosan</b>              | <b>natamisin</b>  | Peynir                  | <i>küf ve maya</i>  | Fajardo, 2010                   |
| <b>Kitosan</b>              | <b>kekik, biberiye yağları</b>  | Keçi peyniri            | <i>küf, lipolitik, proteolitik aktivite</i>                               | Embunea, 2016                   |
| <b>Kitosan</b>              | <b>asetik asit, propiyonik asit, laurik asit, cinnamaldehyde</b>      | Sosis, jambon, pastırma | <i>Laktik asit bakterisi, Enterobacteriaceae, L.sakei, S.liquefaciens</i> | Ouattara,2000                   |
| <b>Kitosan</b>              | <b>lizozim</b>  | Mozzarella              | <i>L.monocytogenes, E.coli, P.fluorescens, küf ve maya</i>                | Duan,2007                       |
| <b>Kitosan</b>              | <b>nisin</b>  |                         | <i>E.coli, S.aureus, L.monocytogenes, B.cereus</i>                        | Li, 2006                        |
| <b>Aljinat</b>              | <b>malik asit, tarçın, palmorasa, limon otu yağları</b>               | Kavun                   | <i>S.enteritidis</i>  | Raybaudi-Massilia ve ark., 2008 |
| <b>Aljinat</b>              | <b>Lactoperoksidaz sistem</b>   |                         | <i>E.coli, L.innocua, P.fluorescens</i>                                   | Yener, 2009                     |
| <b>Sodyum Aljinat</b>       | <b>limon yağı</b>   | Mozzarella              | <i>Pseudomonas</i>  | Conte, 2007                     |
| <b>Kalsiyum Aljinat</b>     | <b>istridye lizozimi, nisin, yumurta beyazı lizozimi</b>              | Somon füme              | <i>L. monocytogenes, S.anatum</i>   | Datta, 2008                     |
| <b>Sodyum Aljinat</b>       | <b>kekik yağı</b>   | Peynir                  | <i>S.aureus, psikrofil bakteri, küf,maya</i>                              | Artiga,Artigas, 2017            |
| <b>Aljinat, elma püresi</b> | <b>karvakrol, sinemaldehit, mercanköşk, limon otu, tarçın yağları</b> |                         | <i>E.Coli O157:H7</i>   | Rojas-Graü, 2007                |
| <b>Zein</b>                 | <b>Lauric asit, nisin</b>   |                         | <i>L.plantarum</i>  | Padgett ve ark., 2000           |

|            |  |               |  |                             |
|------------|--|---------------|--|-----------------------------|
| Zein       | EDTA, lauric acid, nisin   |               | <i>L.monocytogenes, S.Enteritidis</i>  | Hoffman, 2001               |
| Zein       | nisin, kalsiyum propionate   | Hazır tavuk   | <i>L. monocytogenes</i>  | Janes, 2002                 |
| Zein       | <i>Zataria multiflora</i> Boiss, monolaurin  | Kuşbaşı et    | <i>L. monocytogenes, E. coli O157:H7</i>   | Moradi ve ark., 2016        |
| Zein       | Fenolik asitler (gallik, vanillik, sinamik)<br>Esansiyel yağ (karvakrol, timol, öjenol, sitral)<br>Fenolik ekstrakt (karanfil, kekik, enginar, ceviz kabuğu) |               | <i>E.amylovora, E.carotovora</i>   | Alkan ve Yemenicioğlu, 2016 |
|            |  |               | <i>P.syringae, X.vesicatoria</i>   |                             |
|            |  |               |  |                             |
| Zein , mum | kateşin, lizozim, gallik asit  | Kaşar peyniri | <i>L. monocytogenes</i>  | Ünalın, 2013                |
| Soya       | Lauric asit, nisin   |               | <i>L. monocytogenes</i>  | Dawson, 2002                |
| Soya       | üzüm çekirdeği ekstraktı, nisin, EDTA  |               | <i>L. monocytogenes, E.coli O157:H7, S. typhimurium</i>  | Sivarooban, 2008            |
| Soya       | nisin, üzüm çekirdeği, yeşil çay   | Hindi sosis   | <i>L. monocytogenes</i>  | Theivendran, 2006           |
| Soya       | mercanköşk, kekik yağları  |               | <i>L. monocytogenes, S. enteritidis, B.cereus</i>  | Yemiş ve ark., 2017         |
| Soya       | sitrik asit, laktik asit, malik asit, tartarik asit, nisin   |               | <i>L. monocytogenes, E. Coli O157:H7, S.gaminara</i>   | Eswaranandam, 2004          |
| Soya       | kekik, güveyotu yağları  | Köfte         | <i>in vitro: E. coli, E.coli O157:H7, S.aureus, P. aeruginosa, L.plantarum</i><br><i>in vivo: Toplam canlı, LAB, Staphilococcus spp, Koliforms</i><br><i>Pseudomonas spp, L. monocytogenes</i> | Emiroğlu, 2010              |
| Selüloz    | pediosin   | Jambon        | <i>L.innocua, Salmonella</i>   | Santiago,silva, 2009        |
| Selüloz    | natamisin  | Peynir        | <i>P. roqueforti</i>   | Oliveira, 2007              |
| Selüloz    | nisin  | Sosis         | <i>L.monocytogenes, Toplam aerobik bakteri</i>   | Nguyen, 2008                |
| Selüloz    | natamisin, nisin   | Mozzarella    | <i>S.aureus, L.monocytogenes, Penicillium sp., Geotrichum sp.</i>  | Santos Pires, 2008          |



|                                   |   |               |   |                            |
|-----------------------------------|---|---------------|---|----------------------------|
| Jelatin                           | kitosan, mercanköşk, biberiye yağları   | Sardalya füme | <i>Enterobacteriaceae</i>   | Gomez,Estaca ve ark., 2007 |
| Jelatin                           | üzüm çekirdeği ekstraktı, yeşil çay     | Domuz fileto  | <i>Eschericia coli O157:H7, L.monocytogenes</i>   | Hong, 2009                 |
| Pektin,Polilaktik asit            | nisin                                   |               | <i>L.monocytogenes</i>  | Jin, 2009                  |
| Metilselüloz                      | zeytin yaprağı ekstraktı                | Kaşar peyniri | <i>S.aureus</i>   | Ayana, 2009                |
| Metilselüloz                      | kitosan                                 | Kavun         | <i>Mezofilik aeroblar, Psikrotroflar, Laktik asit bakterisi, Küf ve maya, S.aureus, Toplam Koliform, E. coli , Salmonella</i> | Krasaekoopt, 2008          |
| Kazein                            | natamisin                               | Kaşar peyniri | <i>Toplam aerobik mezofilik, LAB, Küf, Koliform</i>   | Yangılar, 2015,            |
| Sodium Kazeinat                   | sodium lactate, potasyum sorbate, nisin |               | <i>Listeria monocytogenes</i>   | Kristo, 2006               |
| sodyum kazeinat                   | nisin                                   | Peynir        | <i>Listeria innocua</i>   | Hoang, 2010                |
| Sodyum kazeinat                   | papatya yağı, oleik asit, stearik asit  |               | <i>L. monocytogenes, S. aureus, E. coli</i>   | Aliheidari ve ark., 2013   |
| Sodyum kazeinat                   | Sodyum laktat, potasyum sorbat, nisin   |               | <i>L. monocytogenes</i>   | Kristo ve ark., 2008       |
| Pullulan                          | lizozim, EDTA                           | Salata        | <i>Toplam canlı, Koliform, Küf,maya, Laktik asit bakterisi</i>  | Kandemir, 2006 (tez)       |
| Pullulan                          | sakasin A                               | Hindi göğüs   | <i>L. monocytogenes</i>   | Trinetta, 2009             |
| Gluten                            | nisin                                   | Hindi sosis   | <i>L.monocytogenes, S.Typhimurium</i>   | McCormick, 2005            |
| Gluten , metil selüloz            | natamisin                               | Kaşar peyniri | <i>Aspergillus niger, P.roqueforti</i>  | Ture, 2011                 |
| k,karregenana                     | ovotransferrin, EDTA, sorbik asit       | Tavuk göğüs   | <i>E.coli, S.Typhimurium, S.aureus, Candida albicans</i>  | Seol, 2009                 |
| Kandela mumu                      | elajik asit                             | Avokado       | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>   | Saucedo,Pompa, 2009        |
| Ayçekirdeği proteini, Kırmızı alg | üzüm çekirdeği                          | Ördek füme    | <i>L. monocytogenes</i>   | Song, 2013                 |
| Galaktomannan                     | nisin                                   | Ricotta       | <i>L. monocytogenes</i>   | Martins, 2010              |
| Yumurta beyazı proteini           | adaçayı, limon balsamı                  | Lor peyniri   | <i>E.coli O157:H7, L.monocytogenes, S.aureus</i>  | Kavas, 2016                |
| Nişasta                           | linalool, karvakrol, timol              | Cheddar       | <i>Aspergillus niger</i>  | Kuorwel, 2013              |

Esansiyel yağların antimikrobiyal özellik göstermesinde etkili olan bileşenler genellikle fenolikler ve terpenoidlerdir. Antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bilinen monoterpenler, ojenol, sinnaldehit, timol ve karvakrol gibi bileşikler esansiyel yağlarda yüksek oranda bulunurlar [38]. Gram negatif bakteriler membranlarının hidrofobik yapısından dolayı güçlü geçirgenlik bariyerine sahiptir ve bu yüzden Gram pozitif bakterilere göre esansiyel yağlara daha dirençlidirler [39].

Esansiyel yağların ağır aromaya sahip olabilmeleri, toksik olabilmeleri ve polimerin özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmeleri nedeniyle film yapılarına eklenecek miktarları dikkatli seçilmelidir. Bununla birlikte uygun antimikrobiyal seçimi aktivite aralıkları, kimyasal yapıları ve hedeflenen mikroorganizmalara göre yapılmalıdır.

### 2.5.1. Mercanköşk Uçucu Yağı

Kekikgiller familyasına ait mercanköşk eski çağlardan beri Anadolu'da baharat olarak ve çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır[40]. Mercanköşkün (*Origanum majorana*) taze veya kurutulmuş aromatik yaprakları ve çiçekli üst kısımları birçok yiyeceği tatlandırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.7). Esansiyel yağı ve alkollü ekstraktları ilaç, parfüm ve kozmetik ürünlerinde kullanılmaktadır. Buhar damıtma ile elde edilen uçucu yağ, esas olarak (+) cis-sabinen hidrat (%3-18) ile mercanköşk yağının karakteristik lezzetinden ve kokusundan sorumlu olan terpinen-4-ol (>%20) içerir. Mercanköşk esansiyel yağı antioksidan aktiviteye ve gıda kaynaklı bakterilere karşı antimikrobiyal özelliklere sahiptir [30,35].



Şekil 2.7 Mercanköşk (*Origanum majorana*) bitkisi

### 2.5.2. Kekik Suyu

Kekik (*Thymus Vulgaris*), gıda işleme alanında kullanılacak potansiyel bir doğal antimikrobiyal olarak giderek araştırmacıların ilgisini çekmiştir (Şekil 2.8). Kekiğin dezenfektan ve antimikrobiyal özellikleri ilk olarak antik Yunanistan'da tanınmış, burada ciltte veya yaralarda bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek ve yiyecekleri bakterilerden korumak için kullanılmıştır [38].



Şekil 2.8 Kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisi

Kekiğin en önemli bileşenleri karvakrol ve timoldür. Kekiğin keskin aromasından karvakrol sorumludur. Ayrıca, karvakrol ve timolün gıda kaynaklı patojenlere karşı etkinlikleri birçok çalışmayla bildirilmiştir [30,36]. Karvakrol (2-metil-5-(1-metiletil) fenol), p-cymene ve  $\alpha$ -terpinenden sentezlenen hidrofobik yapıda fenolik bir bileşiktir. *B. cereus*, *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enterica* gibi çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteleri bildirilmiştir [42]. Karvakrolün antimikrobiyal aktivitesi için en olası mekanizma, sitoplazmik membran boyunca hidroksil gruplarına bağlı pH seviyesindeki düşüş olduğu düşünülmektedir. Araştırmacılar, bakteriler antimikrobiyal bileşiklere maruz kaldığında membran akışkanlığındaki artışla hücre dışına sızıntının gözlemlendiğini bulmuşlardır. Membran sızıntısına neden olmak için bu bileşiklerin belirli konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır [38]

Seydim ve Sarikus (2006), esansiyel yağ eklenmiş peynir altı suyu protein bazlı filmlerin antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada *E. coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* ve *Lactobacillus plantarum*'a karşı kekik yağının, biberiye ve sarımsak yağlarından daha etkili olduğunu bildirmiştir [43].

Kekik baharat olarak kullanımının yanında kekik yağı ve kekik suyu olarak da kullanılmaktadır. Kekik suyu kekikten su veya buhar distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi esnasında toplama kabında biriken yağ altı suyunu ifade etmektedir [39,40]. Kekik suyu, esas olarak oksijenli bileşenler içeren yağın suda çözünür bileşenlerine sahiptir. Kekik suyunun içerdiği polioksijenlenmiş bileşenlerin bazıları yağda bile bulunmayabilir. Bu nedenle, kekik suyu distilatı, kekik yağından farklı biyolojik özelliklere sahip olabilir [45].

## 2.6. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Özelliklerini Etkileyen Faktörler

Yenilebilir film ve kaplamaların gıda ambalajlamada kullanılabilmesi için geliştirilmiş bariyer ve duyuşsal özelliklere sahip olması gerekir. Film ve kaplamada kullanılacak polimer bu özellikleri etkileyen faktörlerden birisidir. Protein ve karbonhidrat gibi polimerlerden yapılan filmlerin elastik özellikleri protein ve polisakkarit zincirleri arasındaki güçlü bağlar nedeniyle çok düşüktür ve kırılığandır. Hammadde olarak kullanılan polimerlerin hidrofilik ve hidrofobik yapıları filmin gaz ve nem geçirgenliğini önemli ölçüde etkilemektedir [13]. Ayrıca kullanılan polimerlerin çözültedeki konsantrasyonu da film oluşumuna etki edebilmektedir.

pH değeri özellikle suda çözünen PAS ve soya gibi protein filmlerde önemli bir rol oynar. Çünkü bu proteinlerin çözünlüğü izoelektrik noktalarına (pI) bağlıdır. Çözünme derecesi ne kadar büyük olursa ve zincir ne kadar yoğun bir şekilde yüklenirse, zincirin açılması o kadar büyük olur [13]. pH değeri ayrıca moleküler etkileşimleri ve polipeptit zincirler arası kuvvetleri değıştirdiğı için jel ağının oluşumunu etkiler [46].

Biyopolimerlerin fizikokimyasal doğası ile kurutma koşulları arasındaki etkileşim çok önemlidir. Film oluşumu sırasında yapıda meydana gelecek bağlar kurutma şartlarından etkilenmektedir. Kurutma sırasında ortamdan aşamalı olarak uzaklaştırılan nem proteinlerin konformasyonel yapısını değıştirmektedir. Film oluşumunda sıcaklık arttıkça hidrofilik etkileşimler artarken hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler azalır [21].

Molekül ağırlıkları değışen farklı plastikleştirici kullanımı ve çözültedeki miktarı filmin fiziksel özelliklerini etkilemektedir. Genel olarak, küçük moleküler ağırlıklı plastikleştiriciler protein matrislerine daha iyi dahil edilebilir ve yüksek moleküler ağırlıklılardan daha etkilidir. Plastikleştiricilerin polaritesi de etkinliklerini etkiler; polarite

ne kadar yüksek olursa, hidrojen bağ zinciri etkileşimleri üzerindeki zayıflama etkisi o kadar büyük olur, bu da matristeki daha fazla bozulmayı teşvik eder [14].

Filmin yapısını bağıl nem de yüksek oranda etkilemektedir. Özellikle hidrofilik yapıdaki protein filmlerde bağıl nem arttıkça, gaz geçirgenliği de artmaktadır. Düşük bağıl nemde hidrojen bağları daha sağlam bir yapı oluşturduğu için gaz geçişi engellenmektedir [47].

Film kalınlığının su buharı transferi üzerinde önemli etkisi vardır. 60 µm'den ince filmlerde su buharı transferi Fick Yasası'na göre azalır. Ancak bu kalınlığın üzerinde su buharı transfer oranı neredeyse sabit kalır [3].

Film yapısına lipit eklenmesi nem içeriğine bağlı olarak farklı mekanik ve bariyer özelliklerine sebep olur. Lipitler içeren protein filmlerinde su buharı geçirgenliği azalırken, oksijen geçirgenliği artar [14].

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyaller

Peynir altı suyu izolatu, WPI (90% protein içeriği) Davisco International Foods (La Sueur, MN, USA) firmasından, peynir altı suyu konsantresi, WPC(80) (80% protein içeriği) Kimbiotek Kimyevi Maddeler San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye) tarafından, peynir altı suyu tozu, WPC(35) (%35 protein içeriği) WPC(35) Süt ve Gıda Mamülleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Konya, Türkiye) firması tarafından, soya proteini (%50 protein içeriği) Gürhak Gıda ve Kim. Mad. Amb. San. Dış Tic. Ltd. Şti. (İstanbul, Türkiye) firmasından tedarik edilmiştir. Enzim olarak Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark) firmasından temin edilen Alcalase 2.4L ve plastikleştirici olarak Wilmar (Endonezya) firmasından temin edilen gliserol kullanılmıştır. Antimikrobiyal olarak kullanılan kekik suyu Çanakkale'den yerel bir işletmeden, mercanköşk yağı ise PipingRock (NY, USA) firmasından tedarik edilmiştir. *Aspergillus niger* (NRRL 326) ise Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'na ait kültür koleksiyonundan sağlanmışır.

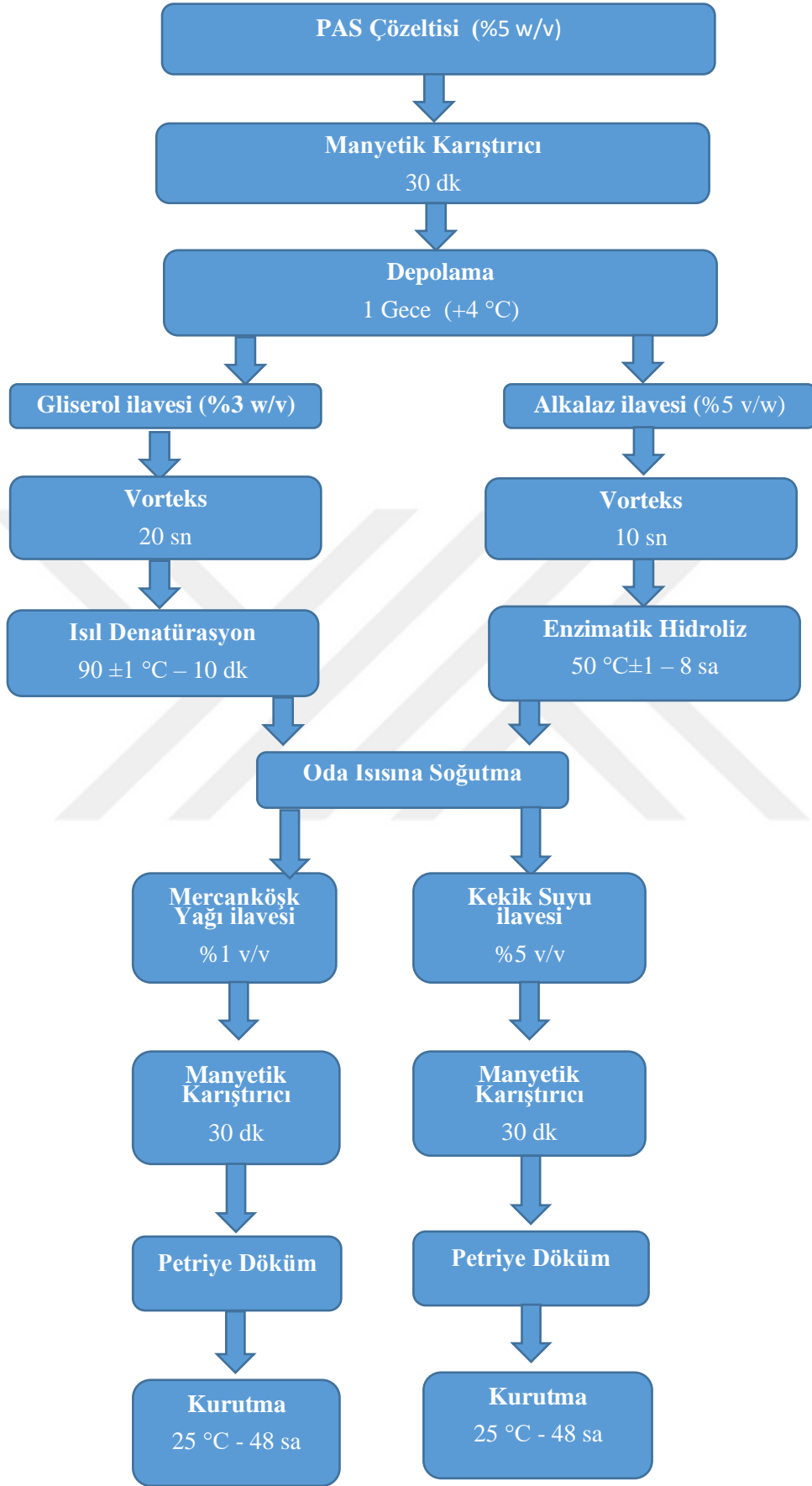
#### 3.2. Protein Film ve Kaplama Çözeltilerinin Hazırlanması

##### 3.2.1. Hayvansal Kaynaklı Proteinler ile Film Üretimi

Hayvansal kaynaklı protein olarak farklı protein oranlarına sahip olan; peynir altı suyu protein izolatu (WPI, %90), peynir altı suyu protein konsantreleri (WPC(80), %80) ve (WPC(35), %35) kullanılmıştır. Protein tozları (%5 w/v) saf su içerisinde çözünmesi için 30 dk manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra tam çözünme için 1 gece +4°C'de bekletilmiştir. Çözeltinin yarısına %3 (w/v) oranında gliserol eklenmiş ve 30 dk. manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Dana sonra cam tüpler içerisinde koyularak çalkalamalı su banyosunda protein denatürasyonu için 90±1°C'de 10 dk ısıtılarak hızlıca oda ısısına getirilmiştir. Diğer yarısına ise %5 (v/w) oranında alkalaz enzimi eklenerek iyice karıştırılmış ve cam tüpler içerisinde su banyosunda 50°C'de 8 saat hidrolize uğratılmıştır. Enzimatik hidroliz sonrası protein çözeltileri hızlı şekilde oda ısısına getirilmiştir. Denatüre edilen çözeltinin yarısına %1 (v/v) oranında mercanköşk yağı eklenmiş, diğer yarısına da %5 (v/v) oranında kekik suyu eklenerek 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırılmışlardır.

Antimikrobiyal oranları çalışmanın başında yapılan denemelerle elde edilen filmler görsel olarak değerlendirilerek belirlenmiştir. Daha sonra denatüre ve hidrolize protein çözeltileri 5 cm çapındaki petri kaplarına dökülerek 25°C’de 48 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutma sonrası filmler petri yüzeyinden soyularak çıkarılmıştır. PAS proteinler ile film üretimi akış şeması şekil 3.1’de verilmiştir.



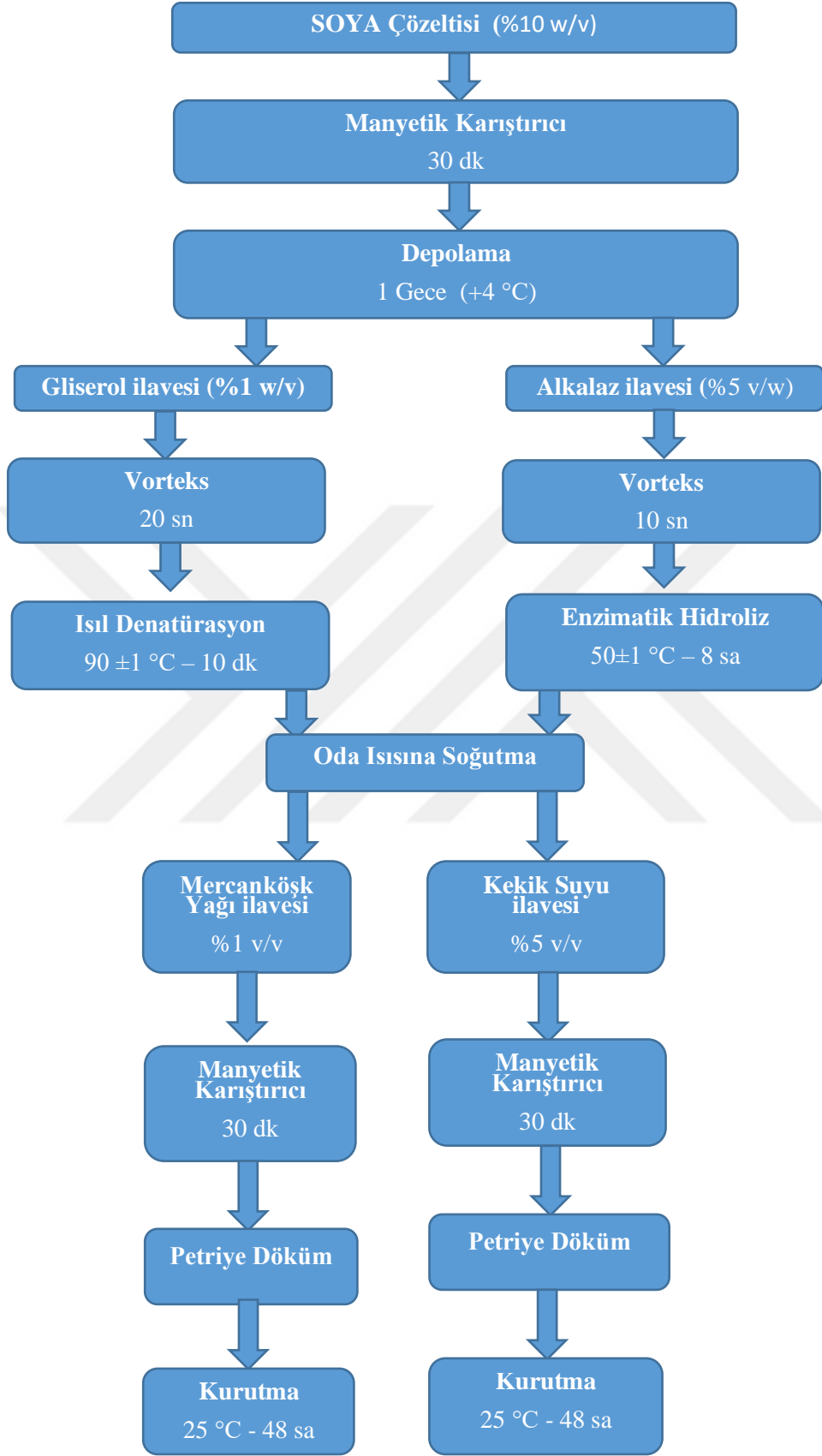


Şekil 3.1 Peynir altı suyu protein filmi üretim akış şeması



### 3.2.2. Bitkisel Kaynaklı Protein ile Film Üretimi

Tekstüre soya proteini (%10 w/v) saf su içerisinde çözünmesi için 30 dk manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra tam çözünme için 1 gece +4°C'de bekletilmiştir. Çözeltinin yarısına %1 (w/v) oranında gliserol eklenmiş ve 30 dk. manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Daha sonra cam tüpler içerisine koyularak çalkalamalı su banyosunda protein denatürasyonu için  $90\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dk ısıtılarak hızlıca oda ısısına getirilmiştir. Diğer yarısına ise %5 (v/w) oranında alkalaz enzimi eklenerek iyice karıştırılmış ve cam tüpler içerisinde su banyosunda  $50^{\circ}\text{C}$ 'de 8 saat hidrolize uğratılmıştır. Enzimatik hidroliz sonrası çözeltiler hızlı şekilde soğutulmuştur. Denatüre edilen çözeltinin yarısına %1 (v/v) oranında mercanköşk yağı eklenmiş, diğer yarısına da %5 (v/v) oranında kekik suyu eklenerek 30 dk manyetik karıştırıcıda karıştırılmışlardır. Daha sonra denatüre ve hidrolize protein çözeltileri 5 cm çapındaki petri kaplarına dökülerek  $25^{\circ}\text{C}$ 'de ve %50 ortalama nemde 48 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutma sonrası filmler petri yüzeyinden soyularak çıkarılmıştır. Soya protein filmleri akış şeması şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2 Soya protein filmi üretim akış şeması

### 3.3. Fiziksel Analizler

#### 3.3.1. Görünümün Değerlendirilmesi

Protein çözeltilerinin petri yüzeylerine dökülerek çözücü buharlaştırma sonrası oluşan yenilebilir protein filmlerin bütünlük, esneklik, yüzeyden soyulabilme ve şeffaflık/opaklık özellikleri görsel olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.3.2. Film Kalınlığı

Film kalınlığı 0.01 mm hassasiyetteki mekanik mikrometre ile ölçülmüştür. 4 µm ile 25µm arasında değişen film kalınlıkları tespit edilmiştir. Her bir örnek film yapısına göre 1,2,3 veya 4 farklı noktadan ölçümler alınmıştır. Yüzeyden tam soyulamayan ve kırılğan filmler için ölçüm alınamamıştır.

#### 3.3.3. Renk Ölçümü

Isıl denatürasyonun, enzimatik hidrolizin ve antimikrobiyal ilavesinin protein filmlerin renk değişimini değerlendirmek için Minolta Chromameter CR 400 kolorimetresi (Minolta Co., Ltd., Tokyo, Japan) kullanılmıştır.

Rengi ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi üç boyutta rengi ölçmemizi sağlayan CIE (Commission Internationale de'Eclairge, Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) L\*a\*b\* renk aralık sistemidir[20]. Renk değişimleri gün ışığında CIELab renk skalası (L = açıklık-koyuluk, a = kırmızı-sarı renk ve b = mavi-yeşil renk) kullanılarak belirlenmiştir. Aydınlik ölçüsü L\* değerinde 0 siyah rengi tanımlarken, 100 beyazı tanımlar. a\* değerinde pozitif değer kırmızıyı tanımlarken negatif değer yeşili tanımlar. b\* değerinde ise pozitif değer sarıyı tanımlarken negatif değer maviyi tanımlar [26, 43].

Cihaz ölçümler öncesinde L = 97.6, a = 0.01 ve b = 1.60 renk koordinatlarında standart beyaz fayans ile kalibre edilmiştir. Filmlerin L\*, a\* ve b\* renk parametreleri 3 farklı noktadan optik sensör ile ölçülmüş ve ortalamaları alınmıştır. Filmlerin renk değişimleri ( $\Delta E^*$ ) Eş. 3.1, beyazlık indeksi (WI) Eş. 3.2 ve sarılık indeksi (YI) Eş. 3.3'e göre hesaplanmıştır.

$$\Delta E^* = [(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2]^{1/2} \quad (3.1)$$

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (3.2)$$

$$YI = (142,86 \times b^*) / L^* \quad (3.3)$$

Eşitlikte yer alan  $L_o$ ,  $a_o$  ve  $b_o$  yüzeyinde film bulunmayan boş şeffaf petrilerde ölçülen renk parametreleri,  $L$ ,  $a$  ve  $b$  değerleri ise film örneklerinin renk parametreleridir.

### 3.4. Film Çözeltilerinin Viskozite Ölçümleri

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz sonrası antimikrobiyal madde eklenen protein film ve kaplama çözeltilerinin viskoziteleri bir rotasyonel viskometre (Brookfield DV2T) ile spindle-5 kullanılarak ölçülmüştür. Milin dönme hızı 20,50 ve 100 rpm'e ayarlanarak oluşan viskoz sürüklenme, kayma geriliminin fonksiyonu olarak viskozimetrenin göstergesinden cP olarak okunmuştur. Her bir çözelti 2 kez ölçülmüştür. Göstergede okunan değerler görünür viskozite yerine kullanılmıştır. Eş. 3.4 ile görünür viskozitenin birimi Pa.s'ye dönüştürülmüştür.

$$1000 \text{ cP} = 1 \text{ Pa.s} \quad (3.4)$$

### 3.5. Spektroskopik ve Kromatografik Ölçümler

#### 3.5.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Film formülasyonlarına eklenen gliserol ve antimikrobiyallerin ısıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz sonrasında protein yapısına bağlanmalarının tespiti ve protein ikincil yapısında meydana gelen değişimleri belirlemek amacı ile FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan protein çözelti örneklerinin FTIR spektrumları Perkinelmer/Spectrum 400 (ABD) cihazı ile ATR dedektörü kullanılarak kaydedilmiştir. Örnekleri okutmadan önce ultra saf su ile cihazda referans alınmıştır. Her örnek için spektrumlar 32 tarama ile  $4 \text{ cm}^{-1}$  çözünürlükteki  $400\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$  aralığındaki bölgede elde edilmiştir.

### 3.5.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi

PAS film çözeltilerine uygulanan ısıl denaturasyon ve enzimatik hidroliz sonrasında doğal protein yapılarında meydana gelen değişimleri gözlemlemek amacıyla HPLC analizleri gerçekleştirilmiştir.

PAS protein örnekleri, Agilent Zorbax (15 cm, 5 µm) kolonu kullanılarak analiz edilmiştir. Mobil faz olarak çözücü A su içinde 0.1% (v/v) TFA ve çözücü B su içinde 20% (v/v) metanol kullanılmıştır. Elüsyon 0.8 ml/min akış hızında, 5 dk boyunca % 100 A, sonraki 5 dk %20 A, sonraki 10 dk. %40 A, sonraki 10 dk. %60 A, sonraki 10 dk. %80 A ve sonraki 10 dk %0 A şeklinde lineer gradyan uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Absorbanslar UV dedektörü ile 280 nm’de izlenmiş ve kromatogramlar kaydedilmiştir.

### 3.6. Gıda Uygulaması: Kaşar Peynirlerinin Kaplanması

Kaşar peynirleri 2x2x1 cm ölçülerinde kesilmiş ve aynı miktarda (50 ml) hazırlanan protein film çözeltilerine daldırılarak 10 dk. bekletilmiştir (Şekil 3.3). Daha sonra fazla çözeltiler süzülerek oda ısısında 15 dk. yüzeydeki çözeltilerin kuruması için bekletilmiştir. Son olarak 6 cm çapındaki kapaklı petri kaplarına konularak +4°C’de depolanmıştır (Şekil 3.4). Kaşar peynirlerinin kesimi kalıplarla standart ölçülerde yapılamadığı ve peynir üretimi sırasında oluşan hava kabarcıklı yüzeyler nedeniyle homojen bir kaplama sağlamak amacıyla daldırma yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 3.3 Kaşar peyniri örneklerine yenilebilir kaplama işlemi



**Şekil 3.4** Kaplama örneklerinin depolanması

### **3.6.1. Kaplama sonrası tekstür ölçümleri (Mekanik Özelliklerin Değerlendirilmesi)**

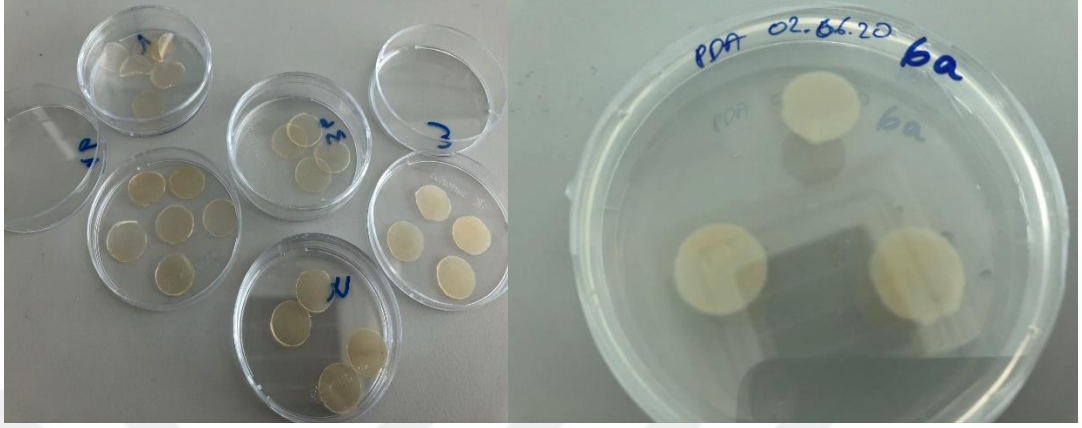
Kaşar peyniri kaplama örneklerinin depolama süresince tekstür yapısını incelemek için Brookfield TC3 tekstür analiz cihazı ve TA18 başlığı kullanılmıştır. Test hızı 1 mm/s ve basınç uzaklığı ise 5 mm olarak ayarlanmıştır. Ölçümler 4. ve 8. günlerde gerçekleştirilmiştir.

### **3.6.2. Mikrobiyolojik Ölçümler (Antimikrobiyal Aktivite Tayini)**

Yenilebilir film formülasyonlarına antimikrobiyal olarak eklenen mercanköşk yağı ile kekik suyunun ve enzimatik hidroliz sonrası oluşan peptitlerin antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi için küf olarak seçilen *Aspergillus niger* (NRRL 326) kullanılmış ve agar disk difüzyon metodu uygulanmıştır. Katı besiyer olarak Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır. Distile su ile hazırlanan PDA çözeltisi  $121 \pm 1$  °C'de 15 dk steril edildikten sonra %10'luk tartarik asit çözeltisi ile pH'sı 3,5'e ayarlanmış ve yaklaşık 15-20 ml petri kaplarına dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır. *A. niger*, Nutrient Broth (NB) sıvı besiyerinde 25°C'de 4 gün inkübe edilmiştir.

Yenilebilir protein filmlerin antimikrobiyal aktivite tayini için LSB besiyerinde gelişen *A.niger* kültüründen alınan 100 µl örnek, drigalski spatülü ile PDA üzerine yayma plak yöntemiyle ekilmiştir. Paralel gruplar için stok kültürden öze ile alınan *A.niger* sporları PDA üzerine çizgi plak yöntemiyle ekilmiştir. 1,5 cm çapında kesilen film diskleri 10 dk UV ışık altında sterilize edildikten sonra, *A.niger* ekili agar üzerine yerleştirilerek 25°C'de

48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.5). İnkübasyon sonrasında antimikrobiyal filmlerin agar üzerinde inhibisyon zonu oluşturup oluşturmadığı değerlendirilmiştir.



**Şekil 3.5.** Kesilen ve agar üzerine yerleştirilen antimikrobiyal film diskleri

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Yenilebilir Filmlerin Fiziksel Parametrelerinin (Görünüş, Renk, Kalınlık) Değerlendirilmesi

Tez çalışmasının ilk aşamasında yenilebilir protein filmler için gerekli protein konsantrasyon miktarları, ısı denatürasyon süreleri, gliserol miktarları, hidroliz süreleri ve antimikrobiyal ajan miktarları ile ilgili denemeler yapılarak elde edilen filmler görsel olarak değerlendirilmiş ve film ve kaplama için uygun olan parametreler belirlenmiştir.

#### 4.1.1. Ön Denemeler

Yenilebilir protein film eldesi için PAS ve soya protein çözeltilerinin konsantrasyon miktarlarını, çözeltilere uygulanacak ısı denatürasyon sürelerini, film formülasyonuna eklenecek gliserol miktarını, hidroliz sürelerini ve antimikrobiyal madde miktarını belirlemek amacıyla birçok deneme yapılmış ve içlerinden anlamlı sonuç verenler verilere eklenmiştir. Deneme sonuçlarında elde edilen yenilebilir filmler görsel olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 4.1’de uygun film formülasyonunu bulmak için yapılan denemeler gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Yenilebilir film formülasyonuna uygulanan denemeler

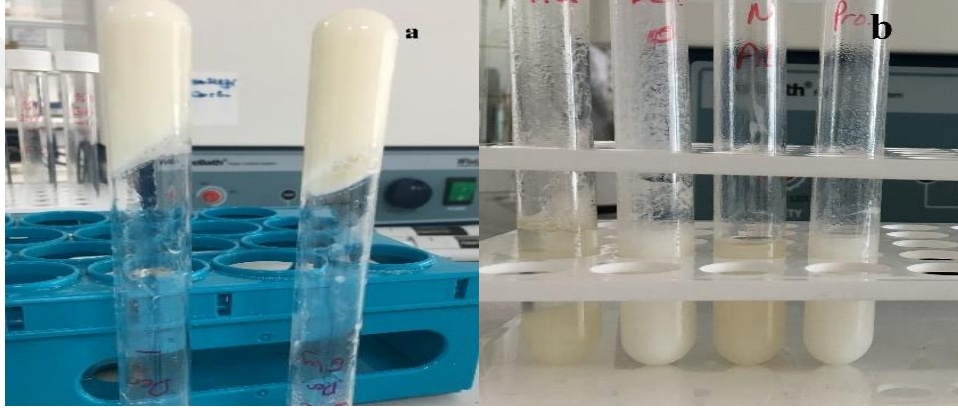
|         | Konsantrasyon |     |     | Denatürasyon |       |       | Gliserol |    | Hidroliz |      | Hidroliz |       | Kekik Suyu |    | Mercanköşk Yağı |    |    |    |
|---------|---------------|-----|-----|--------------|-------|-------|----------|----|----------|------|----------|-------|------------|----|-----------------|----|----|----|
|         |               |     |     | 90°C         |       |       |          |    |          |      | Gliserol |       |            |    |                 |    |    |    |
| WPI     | 5%            | 10% |     | 1 s          | 30 dk | 10 dk |          | 3% | 8 s      | 16 s | 0,50%    | 1%    | 3%         | 5% | 1%              | 3% | 5% |    |
| WPC(80) | 5%            | 10% |     | 1 s          | 30 dk | 10 dk |          | 3% | 8 s      | 16 s | 0,50%    | 1%    | 3%         | 5% | 1%              | 3% | 5% |    |
| WPC(35) | 5%            | 10% |     | 1 s          | 30 dk | 10 dk |          | 3% | 8 s      | 16 s | 0,50%    | 1%    | 3%         | 5% | 1%              | 3% | 5% |    |
| SOYA    | 5%            | 10% | 20% | 1 s          | 30 dk | 10 dk | 1%       | 3% | 3 s      | 8 s  | 16 s     | 0,50% | 1%         | 3% | 5%              | 1% | 3% | 5% |



#### 4.1.1.1 Konsantrasyon Miktarı, Denatürasyon Süresi ve Gliserol Miktarı Belirleme

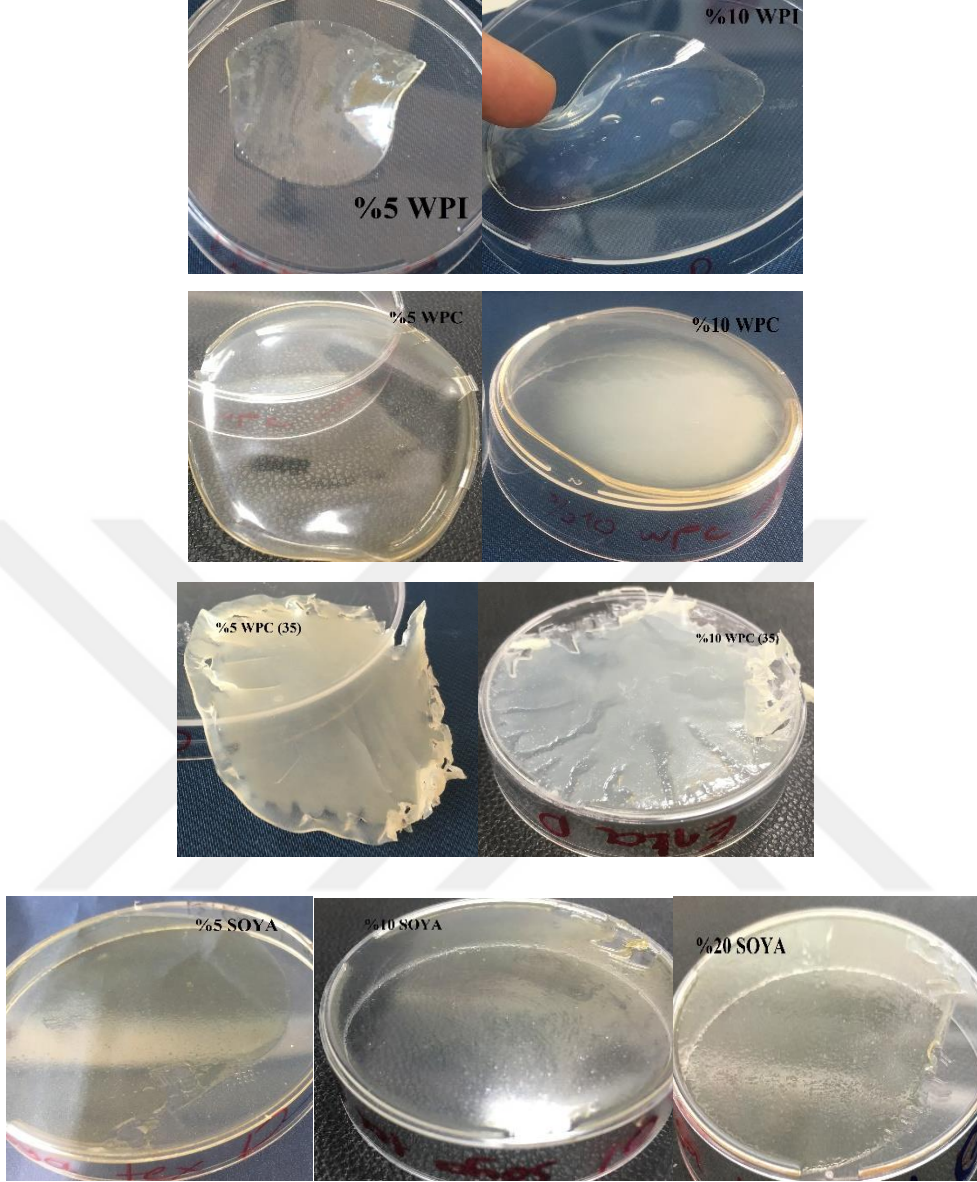
İlk grup denemelerde denatürasyon süresi, konsantrasyon miktarı ve gliserol miktarını belirlemek için denemeler yapılmıştır.

Denatürasyon süresini belirlemek amacı ile 90°C’de 10 dk, 30 dk ve 1 s denatürasyona maruz bırakılan çözeltilerin film oluşturmaları incelenmiştir. 1 s denatürasyonda WPI’ın jelleştiği (Şekil 4.1-a), diğer protein çözeltilerinde 30 dk denatürasyon sürelerinde koagülasyonların oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.1-b). Film yapıları gözlemlendiği için ilerleyen denemelerde çözeltiler 10 dk denatürasyona uğratılmıştır.



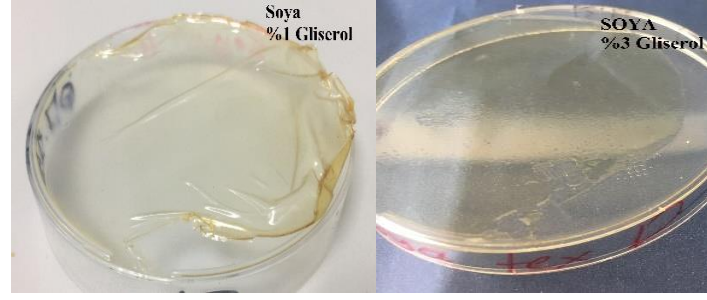
**Şekil 4.1** a) 90°C/1 s denatürasyonda WPI’da gözlenen jelleşme b) 90°C/30 dk denatürasyonda gözlenen protein koagülasyonları

Film formülasyonunda uygun protein konsantrasyonunu belirlemek için PAS proteinleri %5 ve %10, soya proteini %5, %10 ve %20’lik konsantrasyon değerlerinde denemeler yapılmıştır. Şekil 4.2’de denemelerden elde edilen filmler gösterilmiştir. PAS proteinleri %5 ve %10’luk konsantrasyonlarda görsel olarak aynı sonucu verdiği için %5 konsantrasyonda çalışılmıştır. Soya proteini ise %5’de petriye yapışan, %20’de kırılğan film oluştururken, %10’luk konsantrasyonda film benzeri yapı oluştuğu için sonraki denemeler için %10’luk konsantrasyon seçilmiştir.



**Şekil 4.2** PAS ve soya protein konsantrasyon denemeleri

Yapılan denemelerde plastikleştirici olarak kullanılacak gliserol miktarı literatür taraması ile %3 (w/v) olarak eklenmiş PAS proteinlerinde esnek film yapıları oluşurken, soya proteininde yapışkan ve kurumayan bir yapı olduğu için soya proteinine %1 (w/v) oranında eklenerek denenmiştir. %1 (w/v) oranında gliserol eklenen soya proteininde petri yüzeyinden soyulabilen bir yapı gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3** Soya protein filmlerde gliserol miktarı denemeleri

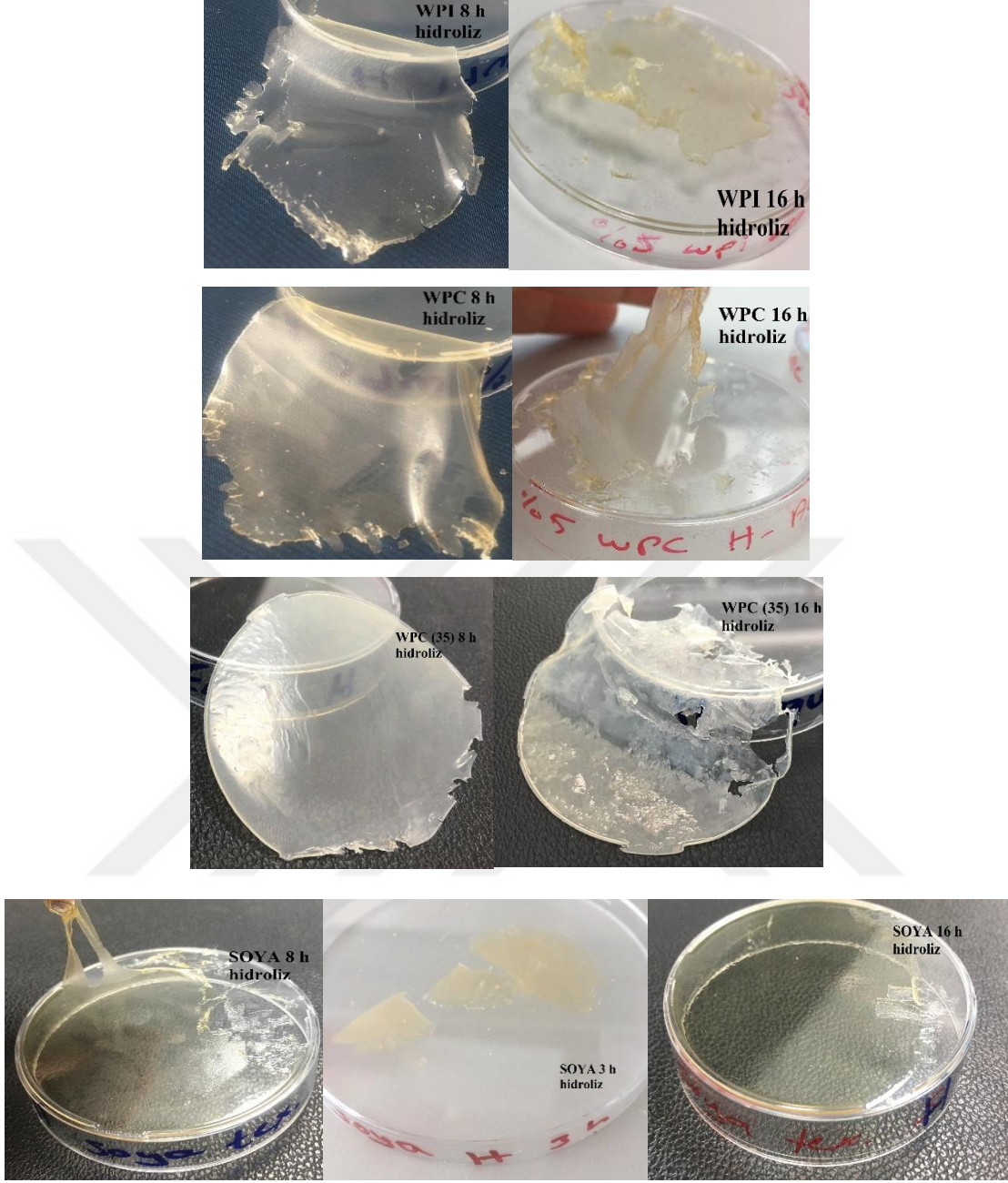
Ayrıca gliserol eklenmeyen ısıl denatürasyona uğratılmış çözeltiler ile yapılan denemelerde tüm proteinler için kırılğan yapılar gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2** Gliserollü ve gliserolsüz denatüre protein film denemeleri

| Gliserol | WPI | WPC(80) | WPC(35) | SOYA |
|----------|-----|---------|---------|------|
| +        |     |         |         |      |
| -        |     |         |         |      |

#### 4.1.1.2 Hidroliz Denemeleri

Optimum hidroliz sürelerini belirlemek için PAS proteinleri 8 ve 16 saat, soya proteini 3, 8 ve 16 saat sürelerle hidrolize uğratılmış ve tüm protein çözeltileri için 8 saat hidrolizin film yapısına daha olumlu etki ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).

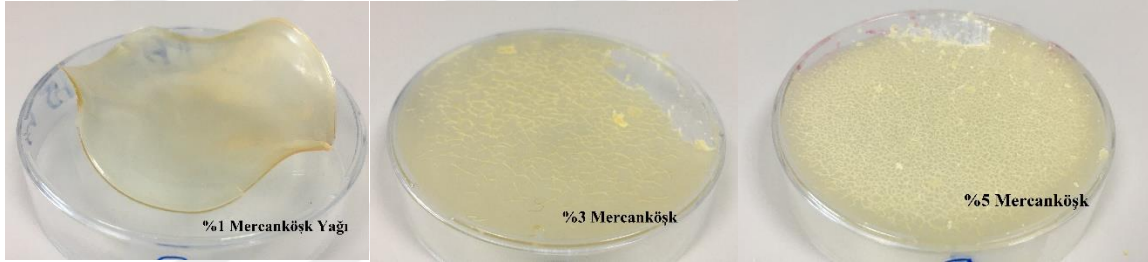


**Şekil 4.4** Protein filmlerde hidroliz süresi denemeleri

24 saat sonrasında film yapısı oluşturan hidrolize protein çözeltilerinin 48 saat sonrasında kırılmanlaştığı gözlemlendi. Kırılmanlığı engellemek amacıyla %1 ve %0,5 oranlarında gliserol eklenerek denemeler yapılmıştır. Gliserol eklenen hidrolize protein filmlerde yapışkanlığın arttığı gözlenmiş ve sonraki denemelerde protein çözeltileri gliserol eklenmeden hidrolize uğratılmıştır. Hidrolize WPI ve WPC(80)'in kırılmanlıkları engellenemediği için yenilebilir film eldesi için uygun olmadığına karar verilmiştir.

#### 4.1.1.3 Antimikrobiyal Miktarının Film Yapısına Etkisini İzleme Denemeleri

Protein film çözeltilerine antimikrobiyal etki sağlamak amacıyla eklenen kekik suyu ile mercanköşk miktarlarını belirlemek amacıyla WPC(80) ile çalışılmıştır. Kekik suyu %3 ve %5 oranlarında, mercanköşk yağı ise %1, %3 ve %5 oranlarında WPC(80) çözeltisine eklenerek denemeler yapılmıştır. %3 ve %5 oranlarında kekik suyu eklenen protein filmde fark gözlenmediği için antimikrobiyal etki için %5'lik oranla çalışmalara devam edilmiştir. %3 ve %5 oranlarında mercanköşk yağı eklenen protein filmde kırılabilirlik arttığı ve film yapısında doku bozulması, bulanıklık oluştuğu için sonraki çalışmalarda %1'lik oran kullanılmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlarda mercanköşk yağı ilavesinin film görünümüne etkisi

#### 4.1.2. Ön Denemelerde Başarılı Bulunan Film Formülasyonları

Ön denemeler sonucu kaşar peyniri kaplama uygulamasına ve yenilebilir film eldesine en uygun film formülasyonları Çizelge 4.3'de verilmiştir.







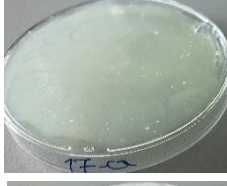
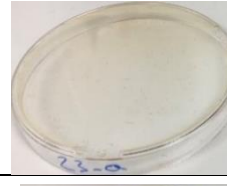

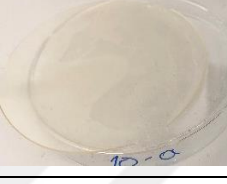

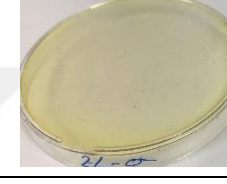


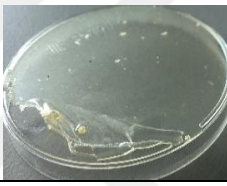
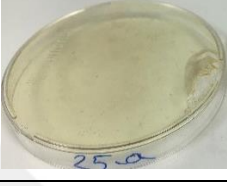
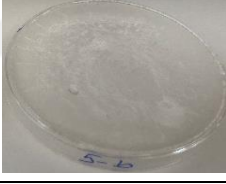
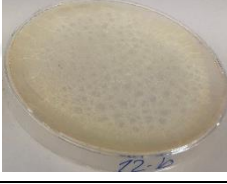

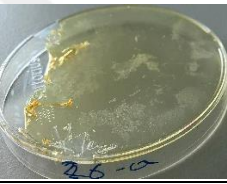


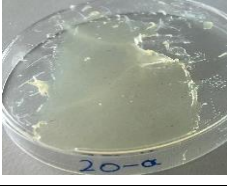




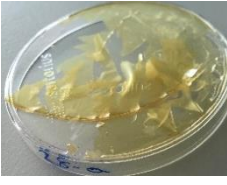
**Çizelge 4.3** Film ve kaplama için uygun bulunan formülasyonlar

|         | Konsantrasyon | Denatürasyon | Gliserol | Hidroliz | Kekik Suyu | Mercanköşk |
|---------|---------------|--------------|----------|----------|------------|------------|
|         |               | 90°C         |          |          |            |            |
| WPI     | 5%            | 10 dk        | 3%       | 8 h      | 5%         | 1%         |
| WPC(80) | 5%            | 10 dk        | 3%       | 8 h      | 5%         | 1%         |
| WPC(35) | 5%            | 10 dk        | 3%       | 8 h      | 5%         | 1%         |
| SOYA    | 10%           | 10 dk        | 1%       | 8 h      | 5%         | 1%         |

Optimize edilen ve analizleri yapılan protein film çözeltilerinin kurutma sonrası görselleri Çizelge 4.4’de görülmektedir.



**Çizelge 4.4** Elde edilen yenilebilir film görselleri

|                 | WPI   | WPC(80)   | WPC(35)  | SOYA  |
|-----------------|---|---|--|---|
| <i>Den+G</i>    |    |    |    |    |
| <i>Den+G+MK</i> |    |    |    |    |
| <i>Den+G+KS</i> |    |    |    |    |
| <i>Hid</i>      |   |   |   |   |
| <i>Hid+MK</i>   |  |  |  |  |
| <i>Hid+KS</i>   |  |  |  |  |
| <i>Kontrol</i>  |  |  |  |  |

İsıl denatürasyona uğratarak mercanköşk yağı ve kekik suyu eklenen tüm WPI ve WPC(80) filmler şeffaf, esnek ve homojen yapıda olmuştur. Bu filmlerin yüzeyi gözeneksiz ve pürüzsüzdü. Hidrolize uğratılan ve kekik suyu eklenen WPI ve WPC(80) filmler benzer yapı gösteriyordu ve çok kırılıyordu. Mercanköşk eklenen hidrolize WPI ve WPC(80) filmlerde ise aşırı çatlaklık gözlemlendi. Denature edilerek antimikrobiyal ajan eklenen

WPC(35) filmlerde film yapısının oluştuğu ancak petri yüzeyine yapışkanlığın fazla olduğu görüldü ve yüzeyden soyulamadı. Hidrolize WPC(35) filmlerde denature filmlere göre daha fazla film yapısı oluştuğu, yüzey yapışkanlığının yine fazla olduğu fakat denature WPC(35) filmlere göre biraz daha yüzeyden kolay soyulduğu gözlemlendi. WPC(35)'in düşük protein oranı sayesinde, hidroliz sonrası oluşan peptitlerin film yapısı için gerekli agregaları yeterli şekilde oluşturabildiği görülmüştür. Denatürasyona uğratılan tüm soya filmlerde aşırı yapışkanlık vardı ve film yapısı gözlenmedi. Hidrolize soya filmlerde ise yüzeye yapışkanlığın fazla olduğu, uzayan bir film yapısı oluşturdukları tespit edildi. Soya protein tozu içerisinde yer alan protein dışı maddelerin bu yapışkanlığa sebep olduğu düşünülmektedir. Hiçbir muameleye uğratılmayan ve gliserol, antimikrobiyal ajan eklenmeyen tüm kontrol filmlerde film yapısı oluşmayan aşırı kırılğan yapı görüldü.

Tüm protein çözeltilerinin görsel değerlendirmesi sonrası ısı denatürasyona uğratılan WPI ve WPC(80) filmlerin doğrudan gıdaya uygulanabileceği, WPC(35) ve Soya protein çözeltilerinin ise hidroliz sonrasında kaplama yöntemiyle gıdaya uygulanmasının daha uygun olduğu tespit edilmiştir.

#### **4.1.3. Film Kalınlıklarının Değerlendirilmesi**

Yenilebilir protein filmlerin morfolojisini, opaklığını, mekanik ve bariyer özelliklerini etkilediği için kaplama kalınlığı önemli bir parametredir. Ancak film kalınlığı ölçümü daldırma yapılarak uygulanan kaplamalarda doğrudan kaplama kalınlığını yansıtmamaktadır. Kaplama kalınlıkları uygulanan çözeltinin viskozite ve yüzey gerilimlerine bağlı olarak değişmektedir. Hidrofilik yapıdaki PAS ve soya protein filmlerinde film kalınlığı su buharı geçirgenliğini etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada su ve filmler arasında oluşan bağlar sonucu filmler şişmekte ve bunun sonucu değişen film yapıları oluşmaktadır [49]. Tüm protein filmlerde kontrollü film kalınlığı elde edebilmek için en yaygın olan belirli bir yüzeye sabit hacim uygulaması yapılmış ve çözeltiler aynı miktarlarda (5 ml) ve aynı çap genişliğinde (6 cm) petri yüzeylerine döküm yapılmıştır. Protein film çözeltileri aynı yüzey üzerine aynı hacimde döküldüğünde, film kalınlığındaki farklılıklar bileşenlerin etkileşimine ve kurutma sırasında film yapısının oluşumuna bağlıdır[50]. Debeaufort & Voilley (1995) yaptıkları bir çalışmada döküm yapılan çözelti kalınlığının, kurutma kinetiğini etkileyerek film yapısında farklılıklara neden olabileceğini gözlemlemiştir [51].



Isıl denatürasyona uğratılan WPC(35) ve soya protein filmlerde, hidrolize edilen ve hidrolize edilerek kekik suyu eklenen soya proteininde filmlerin petri yüzeyinden soyulamaması nedeniyle ölçüm alınamamıştır. Petri yüzeyinden soyulabilen film kalınlıkları ölçüldüğünde antimikrobiyal eklenmesinin film kalınlığına önemli bir etki yapmadığı görülmüştür (Çizelge 4.5).



**Çizelge 4.5** Kurutma sonrası elde edilen film kalınlıkları

|                |                          | <b>FİLM KALINLIĞI</b><br><b>µm</b> |
|----------------|--------------------------|------------------------------------|
| <b>WPI</b>     | Den+%3 gly               | 16,73±1,39                         |
|                | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | 15,08±2,03                         |
|                | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | 13,13±1,35                         |
|                | Hidroliz                 | 9,25±1,06                          |
|                | Hid+%1 mercanköşk        | 13,03±1,18                         |
|                | Hid+%5 kekik suyu        | 8,13±1,14                          |
|                | Kontrol                  | 13,40±5,82                         |
| <b>WPC(80)</b> | Den+%3 gly               | 11,18±2,14                         |
|                | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | 12,51±2,82                         |
|                | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | 12,43±2,15                         |
|                | Hidroliz                 | 8,83±0,84                          |
|                | Hid+%1 mercanköşk        | 24,65±4,13                         |
|                | Hid+%5 kekik suyu        | 7,29±1,19                          |
|                | Kontrol                  | 10,65±5,98                         |
| <b>WPC(35)</b> | Den+%3 gly               | Ö/A                                |
|                | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | Ö/A                                |
|                | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | Ö/A                                |
|                | Hidroliz                 | 6,75±0,35                          |
|                | Hid+%1 mercanköşk        | 6,65±0,64                          |
|                | Hid+%5 kekik suyu        | 9,40±2,95                          |
|                | Kontrol                  | 7,30±0,73                          |
| <b>SOYA</b>    | Den+%1 gly               | Ö/A                                |
|                | Den+%1 gly+%1 mercanköşk | Ö/A                                |
|                | Den+%1 gly+%5 kekik suyu | Ö/A                                |
|                | Hidroliz                 | Ö/A                                |
|                | Hid+%1 mercanköşk        | 9,00±3,54                          |
|                | Hid+%5 kekik suyu        | Ö/A                                |
|                | Kontrol                  | 4,23±1,25                          |

Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir [47, 48]. WPI ve WPC(80) film kalınlıkları ile kontrol ve gliserol eklenen filmlerin kalınlıkları karşılaştırıldığında gliserol eklenen filmlerin kalınlığının arttığı gözlemlenmiştir. Bunun gliserolün plastikleştirici etkisi sırasında peptid bağları arasına girerek protein yapısında oluşturduğu serbest hacimden kaynaklandığı düşünülmektedir [7].

#### **4.1.4. Renk Ölçümlerinin Değerlendirilmesi**

Yenilebilir filmlerin rengi, kalitelerini değerlendirmede önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Film renklerinin, pH değeri, çapraz bağlanma derecesi, plastikleştirici içeriği ve üretim aşamasında uygulanan ısıl işlem, hidroliz gibi çeşitli faktörlerden büyük ölçüde etkilendiği belirtilmektedir. Protein bazlı filmlerin rengi diğer uygulanan üretim işlemlerinden ziyade amino asitlerin ve proteinlerin tipi ve konsantrasyonu ile daha fazla değişmektedir [1].

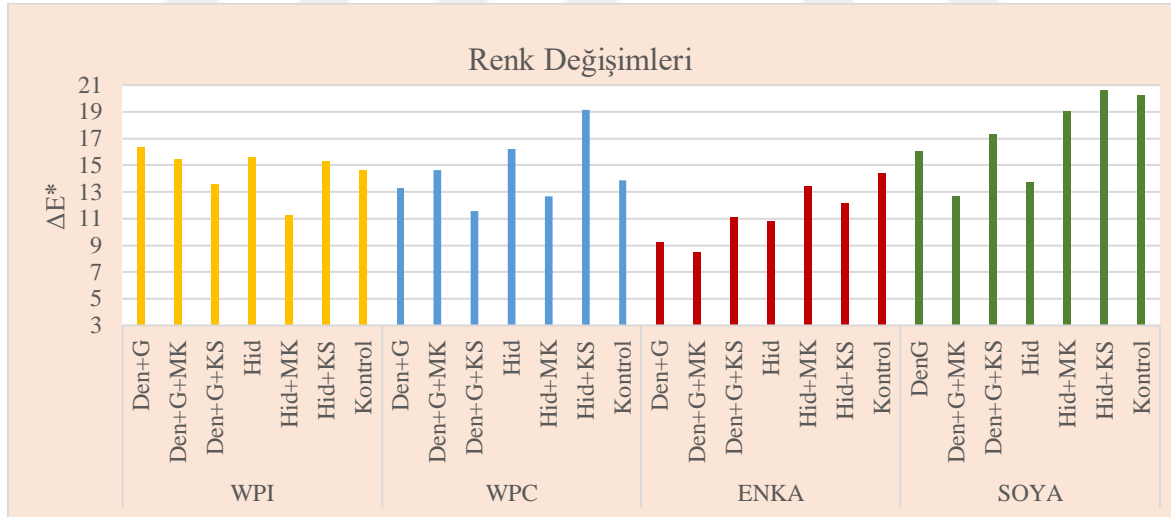
Protein filmlerin renk bileşenleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ), renk değişimleri ( $\Delta E^*$ ), beyazlık indeksi (WI) ve sarılık indeksi (YI) için ortalama değerler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.6** Kurutma sonrası elde edilen filmlerin renk değerleri

|         |                 | FİLM RENGİ |            |            |            |       |       |
|---------|-----------------|------------|------------|------------|------------|-------|-------|
|         |                 | L*         | a*         | b*         | ΔE*        | WI    | YI    |
| WPI     | <i>Den+G</i>    | 69,13±0,11 | 0,66±0,09  | 0,46±0,74  | 16,37±0,76 | 69,12 | 0,94  |
|         | <i>Den+G+MK</i> | 68,25±0,04 | 0,64±0,00  | -0,03±0,16 | 15,50±0,16 | 68,24 | -0,06 |
|         | <i>Den+G+KS</i> | 66,37±0,06 | 0,51±0,01  | 0,10±0,02  | 13,61±0,07 | 66,36 | 0,20  |
|         | <i>Hid</i>      | 68,36±0,57 | 0,58±0,26  | 0,55±0,29  | 15,60±0,69 | 68,35 | 1,14  |
|         | <i>Hid+MK</i>   | 64,03±0,86 | 0,49±0,12  | 0,64±0,01  | 11,27±0,87 | 64,02 | 1,43  |
|         | <i>Hid+KS</i>   | 68,09±0,03 | 0,63±0,15  | 0,68±0,04  | 15,33±0,16 | 68,08 | 1,42  |
|         | <i>Kontrol</i>  | 67,42±0,13 | 0,76±0,12  | 0,12±0,18  | 14,66±0,25 | 67,41 | 0,24  |
| WPC(80) | <i>Den+G</i>    | 66,02±0,05 | 0,29±0,01  | 1,56±0,11  | 13,31±0,12 | 65,98 | 3,38  |
|         | <i>Den+G+MK</i> | 67,33±1,24 | 0,40±0,12  | 1,56±0,40  | 14,61±1,31 | 67,29 | 3,30  |
|         | <i>Den+G+KS</i> | 64,12±0,59 | -0,04±0,16 | 2,45±0,42  | 11,57±0,75 | 64,04 | 5,46  |
|         | <i>Hid</i>      | 67,76±0,06 | -1,48±0,74 | 6,13±1,13  | 16,20±1,35 | 67,14 | 12,92 |
|         | <i>Hid+MK</i>   | 63,88±1,12 | -1,39±0,93 | 6,13±1,92  | 12,68±2,41 | 63,34 | 13,71 |
|         | <i>Hid+KS</i>   | 68,07±0,20 | -4,40±1,30 | 10,74±2,36 | 19,16±2,70 | 66,03 | 22,54 |
|         | <i>Kontrol</i>  | 66,44±0,16 | 0,29±0,17  | 2,70±0,26  | 13,87±0,35 | 66,33 | 5,81  |
| WPC(35) | <i>Den+G</i>    | 61,34±0,71 | 0,17±0,01  | 3,65±0,09  | 9,22±0,72  | 61,19 | 8,49  |
|         | <i>Den+G+MK</i> | 60,83±0,12 | 0,44±0,10  | 3,03±0,01  | 8,49±0,16  | 60,71 | 7,10  |
|         | <i>Den+G+KS</i> | 62,77±0,53 | -1,11±0,87 | 4,94±0,89  | 11,13±1,35 | 62,42 | 11,24 |
|         | <i>Hid</i>      | 63,30±0,32 | 0,22±0,05  | 2,93±0,60  | 10,86±0,68 | 63,19 | 6,60  |
|         | <i>Hid+MK</i>   | 63,91±0,20 | -2,76±0,50 | 7,07±0,82  | 13,43±0,98 | 63,12 | 15,80 |
|         | <i>Hid+KS</i>   | 62,42±0,26 | -1,91±0,01 | 7,29±0,06  | 12,14±0,26 | 61,67 | 16,68 |
|         | <i>Kontrol</i>  | 66,57±2,18 | -0,04±0,56 | 4,35±0,62  | 14,38±2,33 | 66,29 | 9,34  |
| SOYA    | <i>DenG</i>     | 64,11±0,34 | -3,00±1,17 | 11,21±2,52 | 16,10±2,80 | 62,28 | 24,97 |
|         | <i>Den+G+MK</i> | 64,94±0,03 | 0,13±0,16  | 3,84±0,08  | 12,67±0,18 | 64,73 | 8,44  |
|         | <i>Den+G+KS</i> | 64,62±0,71 | -3,50±2,29 | 12,37±5,00 | 17,36±5,54 | 62,36 | 27,34 |
|         | <i>Hid</i>      | 63,63±1,43 | -1,77±0,78 | 8,50±2,75  | 13,77±3,20 | 62,61 | 19,07 |
|         | <i>Hid+MK</i>   | 64,16±0,59 | -4,61±0,42 | 14,70±1,82 | 19,03±1,96 | 60,99 | 32,73 |
|         | <i>Hid+KS</i>   | 58,96±0,24 | -4,24±0,00 | 19,46±1,24 | 20,64±1,26 | 54,38 | 47,14 |
|         | <i>Kontrol</i>  | 62,91±0,72 | -4,52±0,16 | 17,16±0,06 | 20,27±0,74 | 58,88 | 38,97 |

Aydınlık ( $L^*$ ) değerleri WPI filmler için  $64,03 \pm 0,86$  ve  $69,13 \pm 0,11$  arasında, WPC(80) filmler için  $63,88 \pm 1,12$  ve  $68,07 \pm 0,20$  arasında, WPC(35) filmler için  $60,83 \pm 0,12$  ve  $66,57 \pm 2,18$  ve soya filmler için  $58,96 \pm 0,24$  ve  $64,94 \pm 0,03$  arasında bulunmuştur. Kırmızılık-yeşillik ( $a^*$ ) değerlerinin WPI için  $0,49 \pm 0,12$  ve  $0,76 \pm 0,12$  arasında, WPC(80) için  $-4,40 \pm 1,30$  ve  $0,40 \pm 0,12$  arasında, WPC(35) için  $-2,76 \pm 0,50$  ve  $0,44 \pm 0,10$  arasında ve soya filmler için  $-4,61 \pm 0,42$  ve  $0,13 \pm 0,16$  arasında olduğu tespit edilmiştir. Sarılık-mavilik ( $b^*$ ) değerlerine bakıldığında WPI için  $-0,03 \pm 0,16$  ve  $0,68 \pm 0,04$ , WPC(80) için  $1,56 \pm 0,11$  ve  $10,74 \pm 2,36$ , WPC(35) için  $2,93 \pm 0,60$  ve  $7,29 \pm 0,06$  ve soya için  $3,84 \pm 0,08$  ve  $19,46 \pm 1,24$  aralıklarında olduğu görülmektedir.

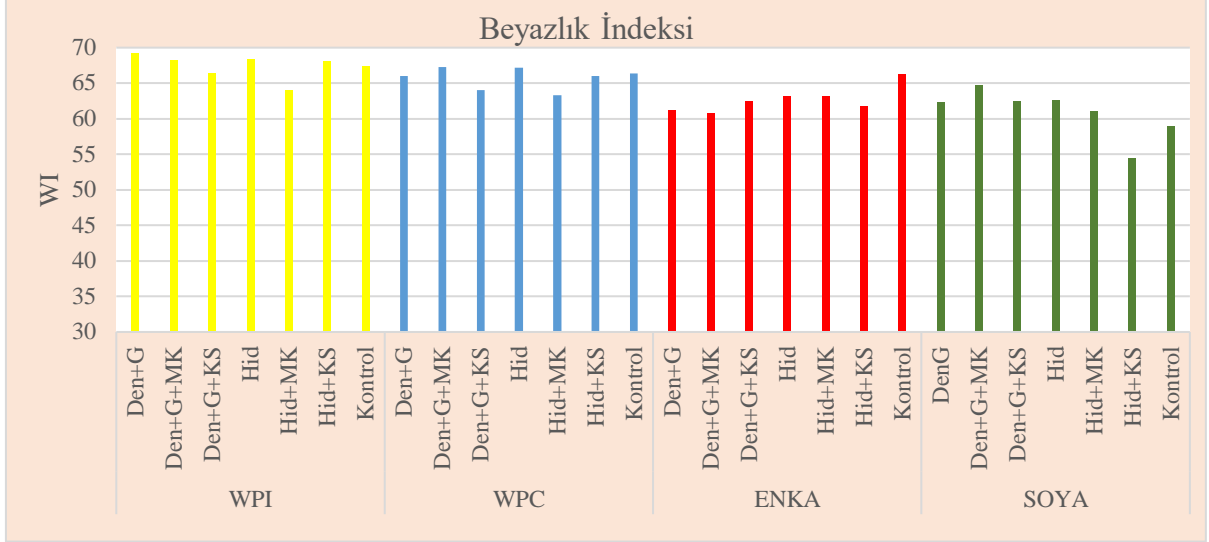
Filmlerin renk değişimlerine ( $\Delta E^*$ ) bakıldığında çözelti grubu olarak değerlendirdiğimizde en fazla renk değişiminin soya filmlerde olduğu, bunu WPC(80) filmlerin izlediği görülmektedir. En az renk değişimleri WPC(35) çözelti filmlerinde gözlemlenmiştir. Tek çözelti bazında renk değişimlerine bakıldığında en fazla değişim kekik suyu eklenmiş hidrolize soya filmde iken, en az değişim mercanköşk yağı eklenmiş denature WPC(35) filmde görülmüştür (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6** Elde edilen yenilebilir protein filmlerin renk değişimleri

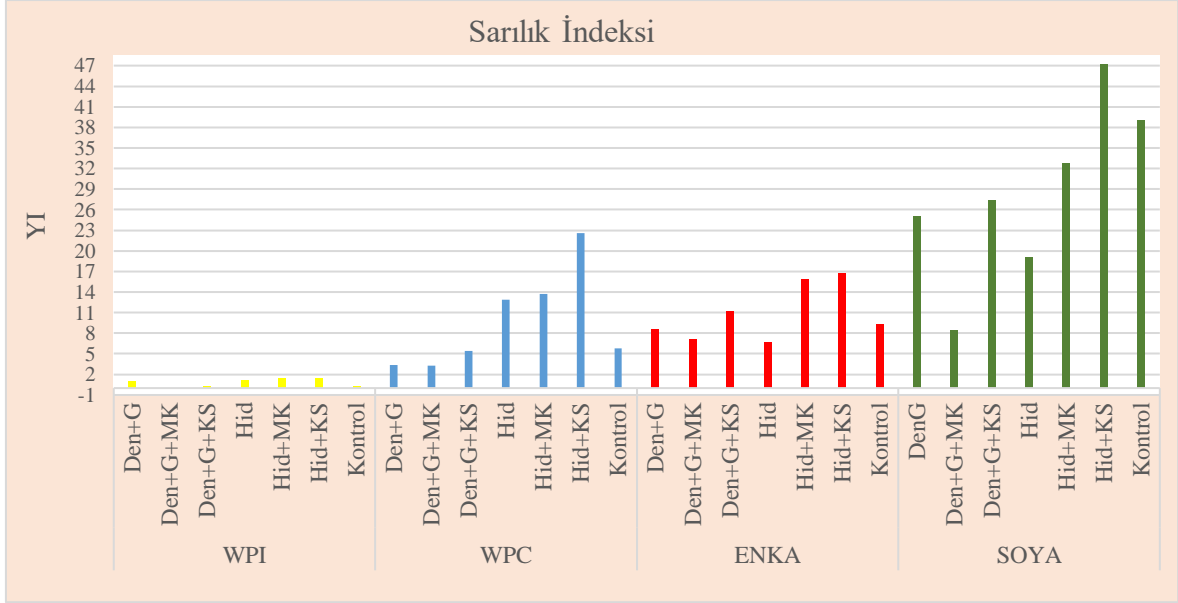
Elde edilen yenilebilir filmlerin ışık kaynağına göre farklı görünmelerinin bir derecelendirmesi olan beyazlık indekslerine (WI) bakıldığında aralarında çok belirgin farklar görülmemiştir. Grup bazında değerlendirmelerde WPI ve WPC(80) filmler çok yakın değerlerde iken soya grubu en düşük değerleri vermiştir. Filmler içerisinde en farklı değer

veren en düşük beyazlık indeksine (54,39) sahip kekik suyu eklenmiş hidrolize soya filmi olmuştur (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7** Elde edilen yenilebilir protein filmlerin beyazlık indeksleri

Protein filmlerin, bir hedef rengin renksizlik ya da tercih edilen beyazlıktan sarılığa kadarki sapma derecesini gösteren sarılık indeksleri (YI) değerlendirildiğinde WPI grubu filmlerin beyaza çok yakın olduğu ve neredeyse hiç sarılık değeri göstermediği tespit edilmiştir. Diğer 3 çözelti grubu filmlerin sarılık indekslerine bakıldığında WPC(80) grubunun en az değerleri gösterirken, WPC(35) grubu filmlerin az farkla WPC(80) grubuna yakın değerler gösterdiği, en çok sarılık değerlerinin ise soya grubunda olduğu görülmüştür (Şekil 4.8). WPC(80) bazlı filmler WPI bazlı filmler ile karşılaştırıldığında daha fazla sarılık göstermesinin sebebi WPC(80) 'de bulunan yağ ve fosfolipit bileşikleridir. Bu sonuç Ramos ve ark. (2013) yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir [54].



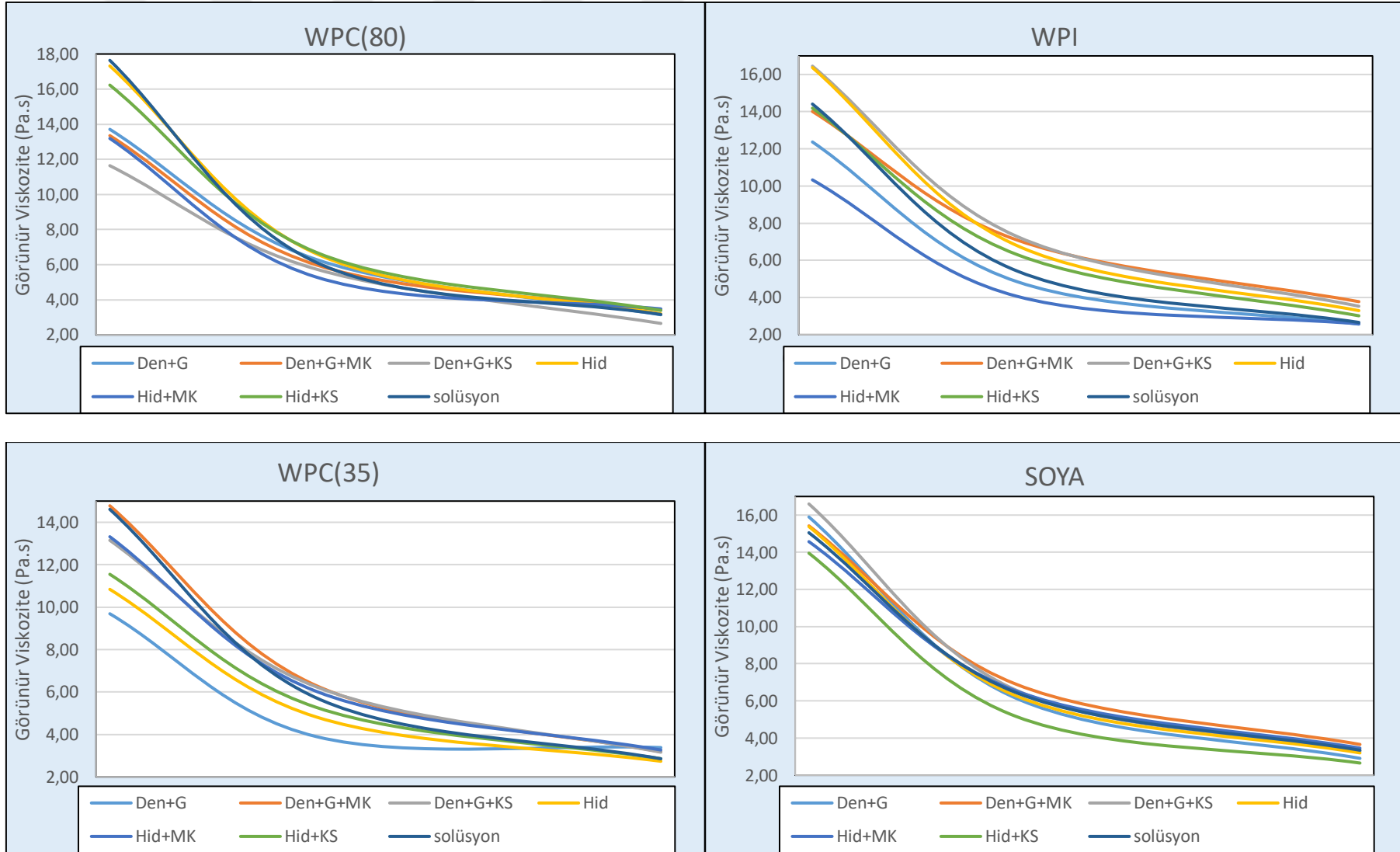
**Şekil 4.8** Elde edilen yenilebilir protein filmlerin sarılık indeksleri

Petri yüzeyinden kolaylıkla ayrılan denature WPI ve WPC(80) filmlerin petri yüzeyine bakan tarafı parlakken, dışarı çevreye bakan tarafı mat görünümdeydi. Bunun kurutma sırasında çözeltide oluşan bir faz ayrılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.2. Film Çözeltilerinin Viskozite Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Yenilebilir film çözeltilerinde viskozite film kalınlığını etkilediği için önemli bir faktördür. Yüksek viskozite daldırma metodunda gıda ile teması artırdığı için istenilen bir özelliktir [6, 24].

Tüm yenilebilir film çözeltileri için görünür viskozite-hız grafikleri incelendiğinde benzer akış davranışı gözlenmiştir. Elde edilen akış eğrilerinin şekli, artan dönme hızı ile düzenli azalan viskoziteye bağlı olarak kayma inceltici davranış sergiledi. Zayıf agregasyon dispersiyon sistemlerine özgü bu davranış, protein çözeltilerinin psödoplastik sıvı özelliğinde olduğunu göstermiştir [5, 51]. Dönme hızına karşı viskozite grafiklerinde regresyon katsayıları ( $R^2$ ) hesaplanarak çizelge 4.8’de verilmiştir. Bu değerlerin 1’e yakın olması çözelti viskozitelerinin dönme hızıyla düzenli bir azalış gösterdiğini ispatlamaktadır. Ayrıca, psödoplastik benzeri akışkanlar çok yüksek hızlarda Newtonian davranış gösterir. Şekil 4.9’da verilen hız-görünür viskozite korelasyon grafiklerinde bu davranış görülmektedir.



Şekil 4.9 Protein film çözeltilerine ait artan dönme hızıyla değişen viskozite grafikler



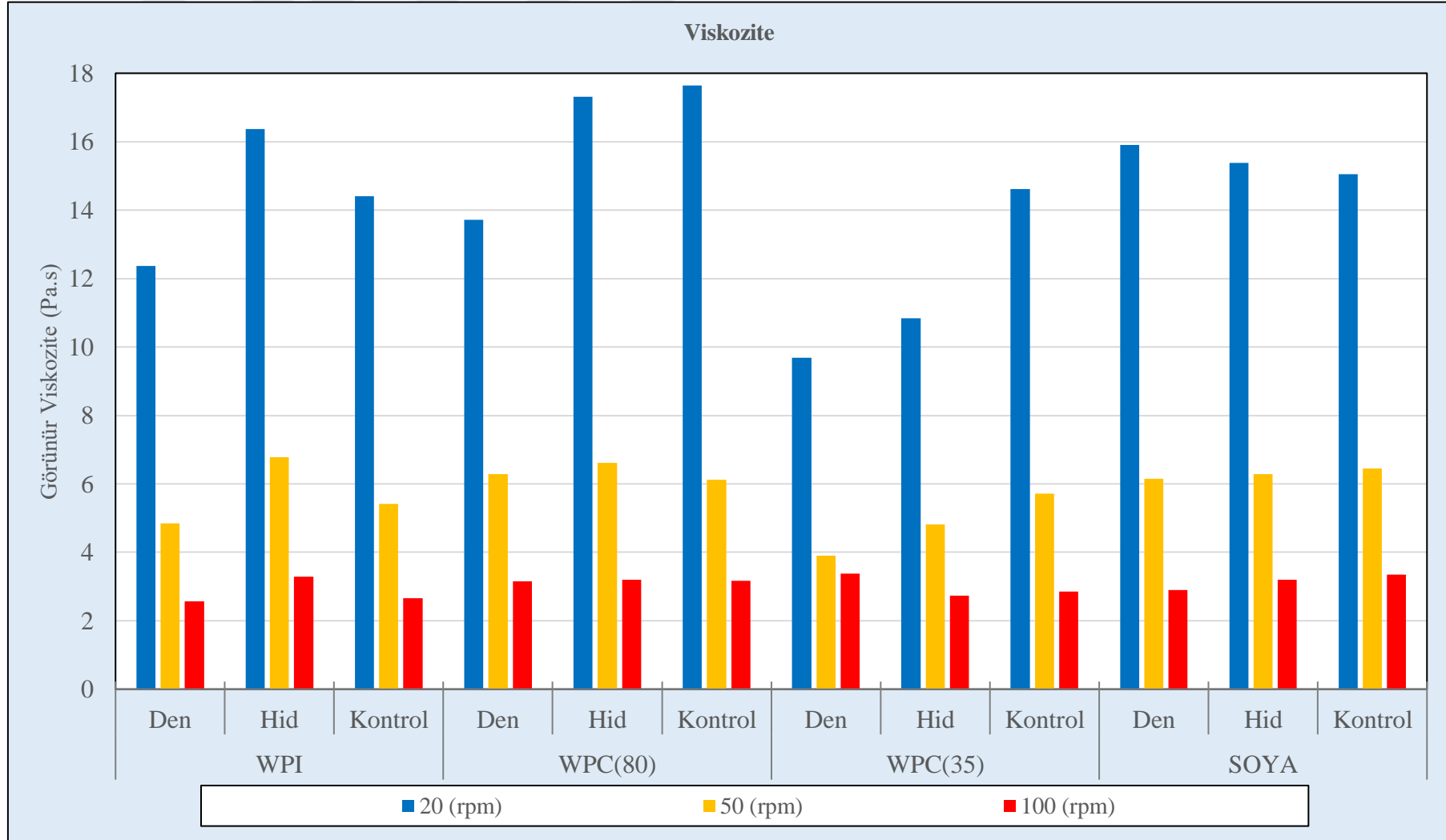
Çözelti grupları içerisinde bireysel parti çözeltileri incelendiğinde WPI grubunda en fazla ayırım göze çarpmaktadır. Bunun sebebi protein oranının yüksek oluşu ve agregasyonun daha fazla gerçekleşmesi olabilir.

Şekil 4.10'da verilen grafik değerlendirildiğinde, genel olarak WPI, WPC(80) ve soya çözeltilerinde enzimatik hidrolize uğratanların viskozitesi artarken WPC(35) çözeltisinde azaldığı görülmüştür. Bunun sebebi WPI, WPC(80) ve soya çözeltilerinin yüksek protein oranları nedeniyle polimerleşmenin daha fazla olması olabilir. WPC(35) protein çözeltilerinin düşük viskoziteye sahip olması ise hidroliz sonrası moleküler ağırlıktaki azalma ve zayıf polimerleşme olabilir. Yüksek moleküler ağırlık çözeltinin viskozite değerini artırmaktadır [56].

Şekil 4.10'da verilen viskozite grafiğinde denature protein çözeltilerinde genel olarak viskozitede azalma görülmektedir. Bunun sebebi denature çözeltilere eklenen gliserol olabilir. IUPAC konseyi, plastikleştiricileri “esnekliğini, işlenebilirliğini arttırmak için bir malzemeye dahil edilmiş madde” olarak tanımlamıştır. Bu maddeler bir polimerin sertliği, yoğunluğu ve viskozitesini azaltır [13].

WPI ve WPC(80) protein çözeltilerinde mercanköşk yağının viskoziteyi azalttığı görülmektedir. Literatürde esansiyel yağ eklenen film çözeltileri ile ilgili benzer bulgular yer almaktadır [56, 57]

Kaplama çözeltilerinde yüksek viskozite tercih edilirken, yenilebilir filmlerin yapımında yüksek viskoziteler elverişsizdir. Çünkü çözeltiyi dağıtmak ve kurutma sırasında filmlerde düzensizliklere neden olan hava kabarcıklarını ortadan kaldırmak daha zordur. Dolayısıyla denature çözeltilerin film yapımı, hidrolize çözeltilerin kaplama için kullanımı uygun olabileceği düşünülmektedir.



**Şekil 4.10** 20, 50 ve 100 rpm dönüş hızlarında protein film çözeltileri viskozite değerleri

### 4.3. Spektroskopik ve Kromatografik Ölçümlerin Değerlendirilmesi

#### 4.3.1 FT-IR Analizi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, polipeptitlerin ve proteinlerin ikincil yapısının analizi için kullanılan en eski tekniklerden birisidir. Katı, sıvı ve gaz gibi farklı maddelerin yapısal analizi için kullanılan FTIR yönteminde, kızılötesi ışınlar numuneden geçirilirken bu ışınların bir kısmı madde tarafından emilir, bir kısmı iletilir. Elde edilen spektrum ile analiz edilen maddenin moleküler yapısı hakkında bilgi edinilebilmektedir[54, 55].

Proteinlerin ve polipeptitlerin kızılötesi spektrumlarında bulunan karakteristik bantlar arasında Amid I, Amid II ve Amid III bulunur. Bunlar amino asitleri bağlayan peptit bağlarından (—CONH—) kaynaklanır [60]. Amid I 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$ , amid II 1575-1400  $\text{cm}^{-1}$  ve amid III 1300-1220  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralıklarında görülür [27]. Amid I bantları esas olarak C=O gerilmesinden, amid II bantları N—H bükülme ve C—H gerdirme titreşimlerinden ve amid III bantları C—N gerdirme ve C=O bükülme titreşimlerinden kaynaklanır [28, 55].

Bu bantların pozisyonları protein ikincil yapıları hakkında bilgi verir[61]. Proteinlerin ikincil yapılarının analizinde genellikle amid I bandı kullanılmaktadır. Çünkü amid I bandı polipeptitlerin en yoğun absorpsiyon bölgesidir [62]. Amid I bantları genellikle 1640-1600  $\text{cm}^{-1}$  arasında  $\beta$ -yaprak, 1650-1640  $\text{cm}^{-1}$  arasında rastgele, 1660-1650  $\text{cm}^{-1}$  arasında  $\alpha$ -sarmal ve 1700-1660  $\text{cm}^{-1}$  arasında  $\beta$ -dönüş ikincil yapılarını belirtmektedir [63]. Literatürde yer alan peynir altı suyu proteinlerinin tespit edildiği kızılötesi bölgeleri ve ikincil yapıları çizelge 4.7'de verilmiştir.

**Çizelge 4.7** FTIR titreşim bölgelerine ait referans literatür çizelgesi [64]

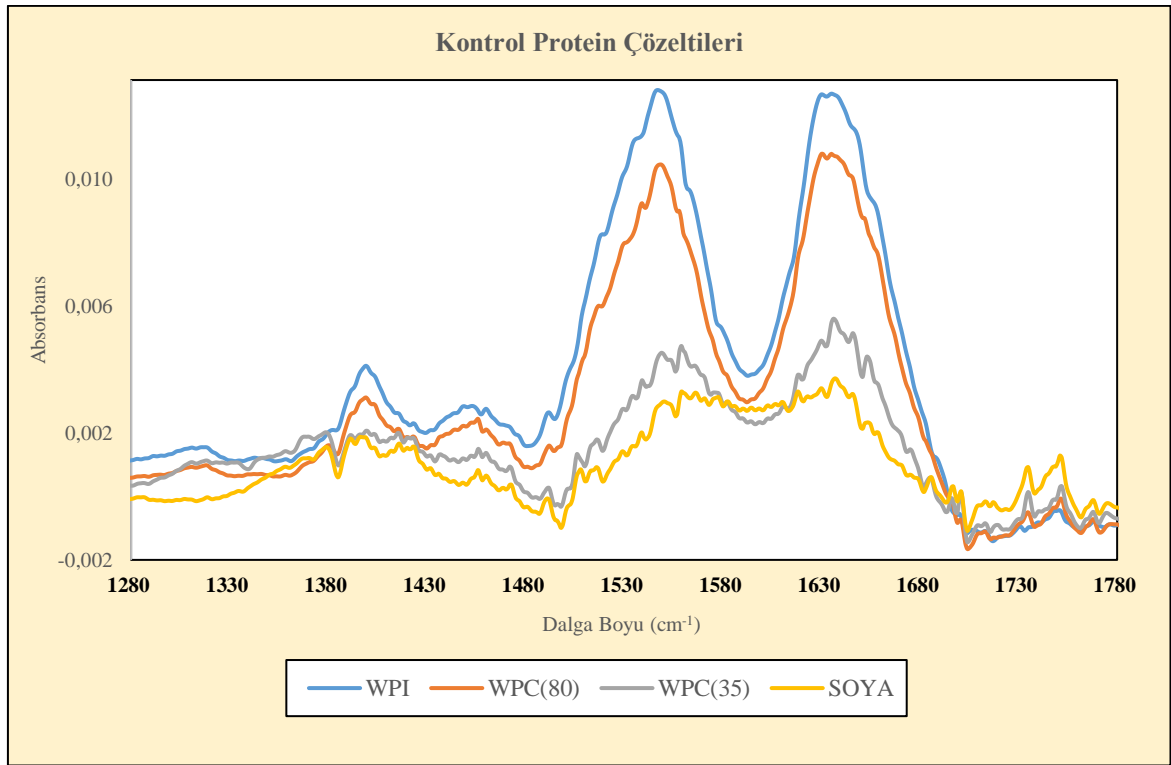
| Protein       | Dalga boyu, cm <sup>-1</sup> | Amide Bölge                                   | Protein Yapısı           | Referanslar   |
|---------------|------------------------------|---|--------------------------|---|
| $\alpha$ -La  | 1688-1698                    | Amide I<br>(1610-1700<br>cm <sup>-1</sup> )   | $\beta$ - yaprak         | Kong ve Yu, 2007  |
|               | 1667-1687                    |   | $\beta$ - kıvrım         | Kong ve Yu, 2007  |
|               | 1660-1670                    |   | $3_{10}$ sarmal          | Jackson ve Mantasch, 1995   |
|               | 1646-1658                    |   | $\alpha$ -sarmal/rasgele | Jackson ve Mantasch, 1995;<br>Kong ve Yu, 2007  |
|               | 1620-1642                    |   | $\beta$ - yaprak         | Jackson ve Mantasch, 1995;<br>Kong ve Yu, 2007  |
|               | 1610-1628                    |   | Birleşim bölgesi         | Jackson ve Mantasch, 1995   |
|               | 1545-1551                    | Amide II<br>(1520-1560<br>cm <sup>-1</sup> )  | $\alpha$ -sarmal         | Ambrose and Elliott, 1951;<br>Jackson ve Mantasch, 1995   |
|               | 1521-1525                    |   | $\beta$ - yaprak         | Ambrose ve Elliott, 1951;<br>Jackson ve Mantasch, 1995  |
|               | 1260-1315                    | Amide III<br>(1220-1330<br>cm <sup>-1</sup> ) | $\alpha$ -sarmal         | Anderle ve Mendelsohn, 1987   |
|               | 1245-1270                    |   | Farklı halka             | Anderle ve Mendelsohn,<br>1987;   |
|               | 1220-1250                    |   | $\beta$ - yaprak         | Anderle ve Mendelsohn,<br>1987;   |
|               | $\beta$ -Lg                  | 1630  | Amide I                  | $\beta$ -yaprak   |
| 1643          |                              | $\beta$ - yaprak                              |                          | Lee ve ark. 2007  |
| 1694          |                              | $\beta$ - yaprak                              |                          | Lee ve ark. 2007  |
| 1656          |                              | $\alpha$ - sarmal                             |                          | Lee ve ark. 2007  |
| 1663          |                              | $\alpha$ - sarmal                             |                          | Lee ve ark. 2007  |
| 1673          |                              | $\alpha$ - sarmal                             |                          | Lee ve ark. 2007  |
| 1681          |                              | $\alpha$ - sarmal                             |                          | Lee ve ark. 2007  |
| Serum albumin | 1658                         | Amide I<br>(1600-1700)                        | $\alpha$ -sarmal         | Baello, Pancoska, &<br>Keiderling, 2000; Bramanti &<br>Benedetti, 1996; Kato,<br>Matsui, & Tanaka, 1987;<br>Peters, 1985; Reed, Feldhoff,<br>Clute, & Peters, 1975);<br>Gorinstein ve ark. (2002) |
|               | 1638-1688                    |   | $\beta$ - yaprak         |   |
|               | 1675                         |   | Dönüm noktası            |   |
|               | 1644                         |   | Farklı yapı              |   |

Yenilebilir protein film çözeltilerine eklenen gliserol, alkalaz, mercanköşk yağı ve kekik suyu için FTIR analizleri Ek-1'de verilmiştir. WPI, WPC(80), WPC(35) ve soya protein çözeltilerine ısıl işlem, enzimatik hidroliz uygulaması, gliserol ve

antimikrobiyallerin eklenmesi sonrası protein yapılarında meydana gelen değişimler FTIR ile izlendi. FTIR analiz bulguları aşağıda verilmiştir.

#### 4.3.1.1 Kontrol Protein Çözeltilerine Ait FT-IR Sonuçları

Herhangi bir ısı denatürasyon, enzimatik hidroliz gibi işlemlerden geçmemiş ve gliserol, antimikrobiyal maddeler eklenmeyen saf protein çözelti örneklerine ait FTIR spektrumu şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11 Kontrol protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları

Bu protein örneklerinin Amid I ve Amid II titreşim bandlarında pik gözlemlenen dalga boyları çizelge 4.8’deki gibidir.

**Çizelge 4.8** Kontrol protein çözeltileri FTIR pik noktaları

|                | <b>WPI</b> | <b>WPC(80)</b> | <b>WPC(35)</b> | <b>SOYA</b> |
|----------------|------------|----------------|----------------|-------------|
| <i>AMİD I</i>  | 1635       | 1635           | 1636           | 1637        |
| <i>AMİD II</i> | 1547       | 1548           | 1559           | 1559        |

Her dört proteinin Amid I bölgesinde verdikleri pikler proteinlerin yapılarında bulunan C=O gerilme titreşimlerinden, Amid II bölgesindeki pikler C–N gerilme ve N–H bükülme titreşimlerinden ve Amid III bölgesindeki pikler C–N, N–H düzlemindeki titreşimlerden kaynaklanmaktadır [65].

Beklenildiği gibi protein oranındaki fazlalıktan dolayı serbest amino asitlerden kaynaklanan en yoğun pikleri WPI çözeltisi ve sonrasında WPC(80) verdi. WPC(35) ve soyanın protein oranlarının düşük olması ve yapılarında bulunan diğer bileşenlerle oluşan bağlar pik yoğunluklarını azalttı.

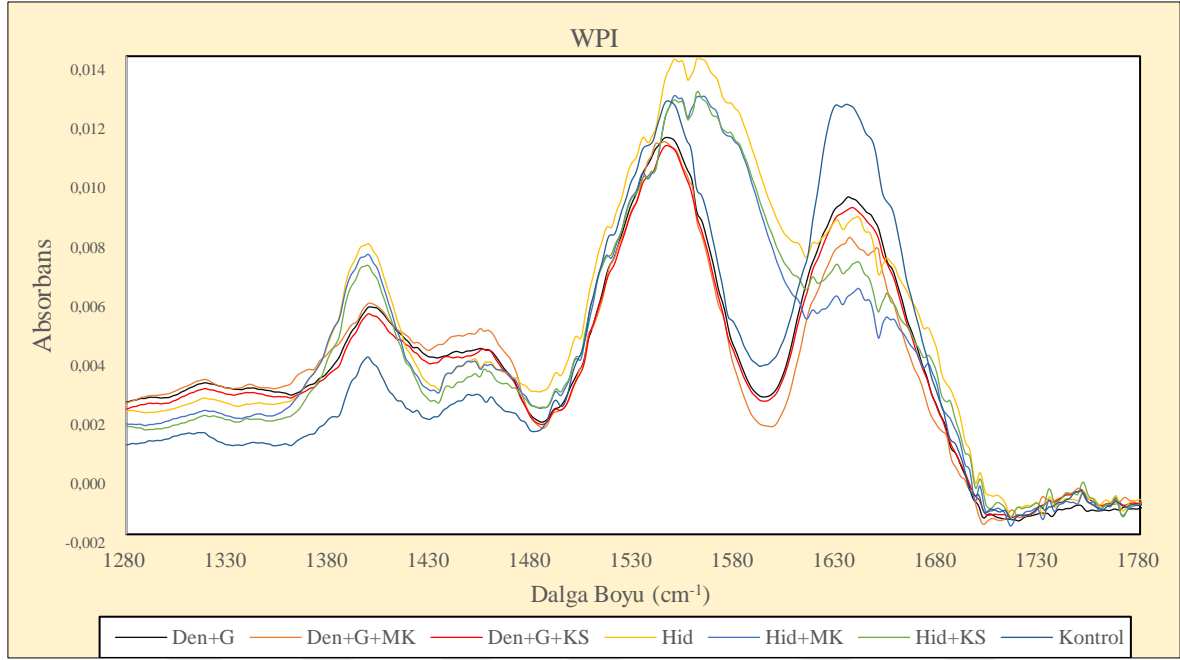
Kontrol protein çözeltilerinin FTIR analizlerinde ikincil yapıların pik verdiği dalga boyları çizelge 4.9’da verilmiştir. Buna göre WPC(35) ve soya proteinlerinde  $\beta$ -yaprak,  $\alpha$ -sarmal ve  $\beta$ -dönüş yapıların daha fazla bulunduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.9** Kontrol protein çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları

|                  | <b>WPI</b> | <b>WPC(80)</b> | <b>WPC(35)</b> | <b>SOYA</b> |
|------------------|------------|----------------|----------------|-------------|
| $\beta$ -yaprak  | 1630       | 1630           | 1636           | 1637        |
|                  |            | 1619           | 1630           | 1630        |
|                  |            |                | 1618           | 1618        |
|                  |            |                | 1611           | 1611        |
| random           | 1648       | 1646           | 1646           | 1646        |
| $\alpha$ -sarmal | 1657       | 1652           | 1659           | 1659        |
|                  |            |                | 1654           | 1655        |
| $\beta$ -dönüş   | 1690       | 1696           | 1700           | 1697        |
|                  | 1683       |                | 1696           | 1686        |
|                  |            |                | 1686           | 1679        |
|                  |            |                | 1675           | 1671        |
|                  |            |                | 1670           |             |

#### 4.3.1.2 WPI Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratarak gliserol ve antimikrobiyal madde eklenen WPI çözelti örneklerine ait FTIR spektrumu Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.12 WPI çözeltilerine ait FTIR spektrumları

Bu protein örneklerinin Amid I ve Amid II titreşim bandlarında pik gözlemlenen dalga boyları Çizelge 4.10’deki gibidir.

Çizelge 4.10 WPI çözeltileri FTIR pik noktaları

| WPI     | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|---------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| AMİD I  | 1636  | 1637     | 1638     | 1641 | 1641   | 1641   |
| AMİD II | 1547  | 1545     | 1547     | 1562 | 1551   | 1562   |

Çözeltiler gliserol eklenerek denature edildiğinde spektral bölgede pik yoğunluklarında azalma görülmektedir. Bu azalma protein moleküllerinde hidrojen bağlarının artarak serbest —OH gruplarının azalması olabilir. Gliserollü denature WPI filmlerinin bu kararlı polimer yapısı ile suda çözünürlüğü de azalabilir [54]. Mercanköşk

yağı ve kekik suyu eklenen çözeltilerde Amid II bölgesinde fark görülmezken Amid I bölgesinde pik yoğunluklarında düşüş görülmektedir. Mercanköşk yağının pik yoğunluğunun daha düşük olması proteinin fonksiyonel grupları ile daha fazla etkileşime girdiğini göstermektedir. Proteinde hidrofilik olan —OH, NH<sub>2</sub> gibi fonksiyonel grupların esansiyel yağ ile kaplanmasıyla protein filmde su geçirgenliği azalabilir [66] .

Enzimatik hidrolize uğratılan WPI çözeltilerine bakıldığında Amid I bandında denature ve işlem görmeyen çözeltilere göre daha zayıf pikler verdi. Tarhan ve ark. (2014) yaptıkları bir çalışmada PAS protein hidrolizi sonrası benzer sonuçları elde ettiler [67]. Amid II bandında hidroliz gruplarının en yoğun pikleri verdiği görülmektedir. Bu sonuç hidroliz sonrası açığa çıkan fonksiyonel gruplarda C—N gerilme ve N—H bükülme titreşimlerinin arttığını göstermektedir. Ayrıca saf protein ve denature proteinlere göre daha yüksek dalga boylarında pik verdikleri için serbest —OH gruplarında artış olduğu söylenebilir. Mercanköşk yağı ve kekik suyu hidrolize çözeltilerde denature çözeltilerle aynı etkiyi göstermiştir.

WPI çözeltilerine ait FTIR analizlerinde ikincil yapıların pik verdiği dalga boyları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Isıl denatürasyona uğratılan çözeltilerde mercanköşk yağı eklenmesi  $\beta$ -yaprak ve  $\beta$ -dönüş yapıları artırırken random yapılar oluşturmuştur. Enzimatik hidrolize uğratılan WPI çözeltilerde meydana gelen yeni peptitler  $\beta$ -yaprak, random,  $\alpha$ -sarmal ve  $\beta$ -dönüş yapılarında artışa sebep olmuştur.

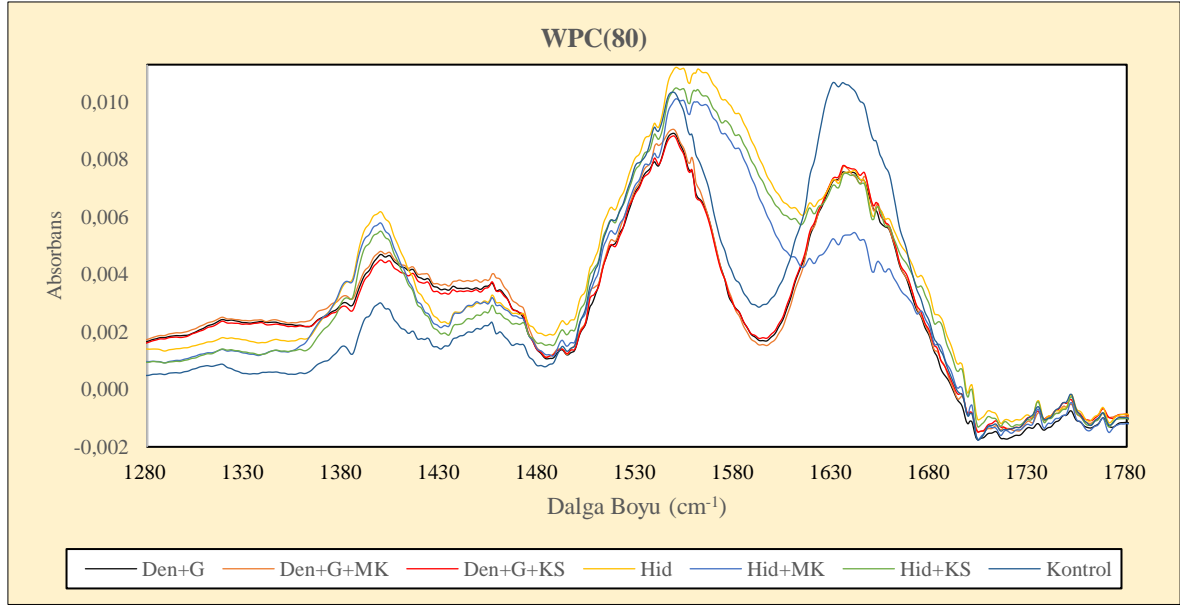
**Çizelge 4.11** WPI çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları

| WPI              | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|------------------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| $\beta$ -yaprak  | 1636  | 1636     | 1628     | 1635 | 1635   | 1635   |
|                  | 1629  | 1632     | 1618     | 1630 | 1630   | 1630   |
|                  |       | 1616     |          | 1623 | 1623   | 1623   |
|                  |       |          |          | 1619 | 1619   | 1619   |
|                  |       |          |          | 1612 | 1612   | 1612   |
| random           |       | 1647     |          | 1647 | 1647   | 1646   |
|                  |       | 1642     |          | 1642 | 1642   | 1642   |
| $\alpha$ -sarmal | 1657  | 1657     | 1655     | 1659 | 1658   | 1658   |
|                  |       |          |          | 1655 | 1655   | 1655   |
|                  |       |          |          | 1653 | 1653   | 1653   |
| $\beta$ -dönüş   | 1695  | 1697     | 1667     | 1700 | 1700   | 1700   |
|                  | 1684  | 1693     |          | 1696 | 1696   | 1696   |
|                  |       | 1684     |          | 1687 | 1687   | 1686   |
|                  |       | 1671     |          | 1676 | 1676   | 1676   |



#### 4.3.1.3. WPC(80) Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratarak gliserol ve antimikrobiyal madde eklenen WPC(80) çözelti örneklerine ait FTIR spektrumu şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.13 WPC(80) çözeltilerine ait FTIR spektrumları

Bu protein örneklerinin Amid I ve Amid II titreşim bandlarında pik gözlemlenen dalga boyları Çizelge 4.12’deki gibidir.

Çizelge 4.12 WPC(80) çözeltileri FTIR pik noktaları

| WPC(80) | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|---------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| AMİD I  | 1634  | 1635     | 1635     | 1640 | 1640   | 1635   |
| AMİD II | 1548  | 1547     | 1548     | 1549 | 1549   | 1549   |

Çözeltiler gliserol eklenerek denature edildiğinde pik yoğunluklarında azalmayla birlikte WPI çözeltilerine benzer sonuç görülmektedir. Mercanköşk yağı ve kekik suyu eklenen denature çözeltilerin bant yoğunluklarında herhangi bir değişim olmadığı için antimikrobiyal maddeler ile WPC(80) arasında etkileşim olmadığı söylenebilir.

Enzimatik hidrolize uğratılan WPC(80) çözeltilerinden mercanköşk yağı eklenen haricindekiler Amid I bandında denature çözeltiler ile aynı pikleri verdi. Amid II bandında ise WPI ile benzer olarak hidroliz gruplarının en yoğun pikleri verdiği görülmektedir. Hidrolize çözeltilere eklenen kekik suyu pik yoğunluğunu etkilemezken, mercanköşk yağı pik yoğunluklarında düşüşe sebep olduğu için hidrolize proteinlerle sadece mercanköşk yağının çapraz bağlandığı söylenebilir.

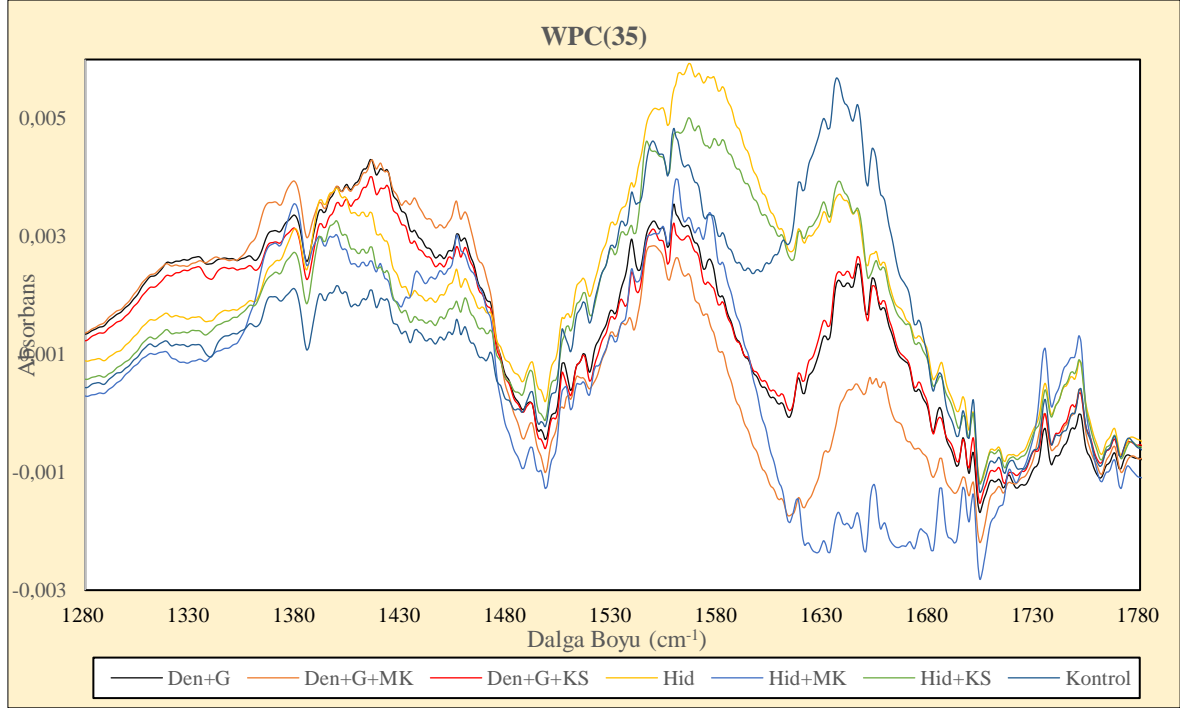
WPC(80) çözeltilerine ait FTIR analizlerinde ikincil yapıların pik verdiği dalga boyları Çizelge 4.13’de verilmiştir. Enzimatik hidrolize uğratılan WPC(80) çözeltilerde  $\beta$ -yaprak tabakalar artarken diğer ikincil yapılarda değişiklik olmamıştır.

**Çizelge 4.13** WPC(80) çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları

| WPC(80)          | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|------------------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| $\beta$ -yaprak  | 1635  | 1635     | 1635     | 1635 | 1635   | 1635   |
|                  | 1631  | 1631     | 1631     | 1630 | 1630   | 1630   |
|                  | 1618  | 1623     | 1623     | 1623 | 1623   | 1623   |
|                  |       | 1618     | 1618     | 1618 | 1618   | 1618   |
|                  |       |          |          | 1611 | 1611   | 1611   |
| random           | 1646  | 1646     | 1646     | 1646 | 1646   | 1646   |
| $\alpha$ -sarmal | 1658  | 1653     | 1652     | 1659 | 1659   | 1659   |
|                  | 1652  |          |          | 1653 | 1653   | 1653   |
| $\beta$ -dönüş   | 1696  | 1696     | 1696     | 1696 | 1696   | 1696   |
|                  | 1683  | 1684     | 1683     | 1685 | 1685   | 1685   |
|                  | 1668  | 1669     | 1675     | 1675 | 1675   | 1675   |
|                  |       |          | 1669     |      |        |        |

#### 4.3.1.4. WPC(35) Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratılarak gliserol ve antimikrobiyal madde eklenen WPC(35) çözelti örneklerine ait FTIR spektrumu şekil 4.14’de verilmiştir.



**Şekil 4.14** WPC(35) protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları

Bu protein örneklerinin Amid I ve Amid II titreşim bandlarında pik gözlemlenen dalga boyları Çizelge 4.14'deki gibidir.

**Çizelge 4.14** WPC(35) protein çözeltileri FTIR pik noktaları

| WPC(35) | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|---------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| AMİD I  | 1645  | 1651     | 1645     | 1637 | 1653   | 1636   |
| AMİD II | 1558  | 1548     | 1558     | 1565 | 1559   | 1565   |

WPI ve WPC(80) çözeltileri gibi WPC(35) PAS protein çözeltilerinde de gliserol eklenerek denature edildiğinde pik yoğunluklarında azalma görülmüştür. Kekik suyu eklenen denature çözeltisinin bant yoğunluğunda herhangi bir değişim olmazken, mercanköşk yağı eklenen denature çözeltilerinin bant yoğunluklarında düşüş gözlenmiştir. Kekik suyu WPC(35) protein çözeltisi ile etkileşime girmezken, mercanköşk yağı protein yapısıyla çapraz bağlanabilmiştir.

Enzimatik hidrolize uğratılan WPC(35) PAS protein çözeltisinin pik yoğunluğu Amid II bölgesinde artış göstermiştir. Hidroliz sonrası açığa çıkan serbest gruplarda C=O

gerilme titreşimlerinin fazla olmasının buna sebep olduğu söylenebilir. Hidrolize çözeltiye eklenen kekik suyu Amid II bölgesinde absorban veren serbest gruplara bağlanarak bant yoğunluğunda düşüşe sebep olurken, Amid I bölgesinde değişim göstermemiştir. Mercanköşk yağı eklenen hidrolize çözeltinin bant yoğunluklarındaki fazla düşüş WPC(35) PAS proteinleri ile yoğun etkileşime girdiğini göstermektedir. Mercanköşk yağı eklenen denature çözeltilere göre hidrolize çözeltilerin daha düşük yoğunluklu pikler vermesi denatürasyona kıyasla hidroliz sonrası daha fazla serbest grupların ortaya çıktığını ve mercanköşk yağının bu grupları kapattığına işaret etmektedir.

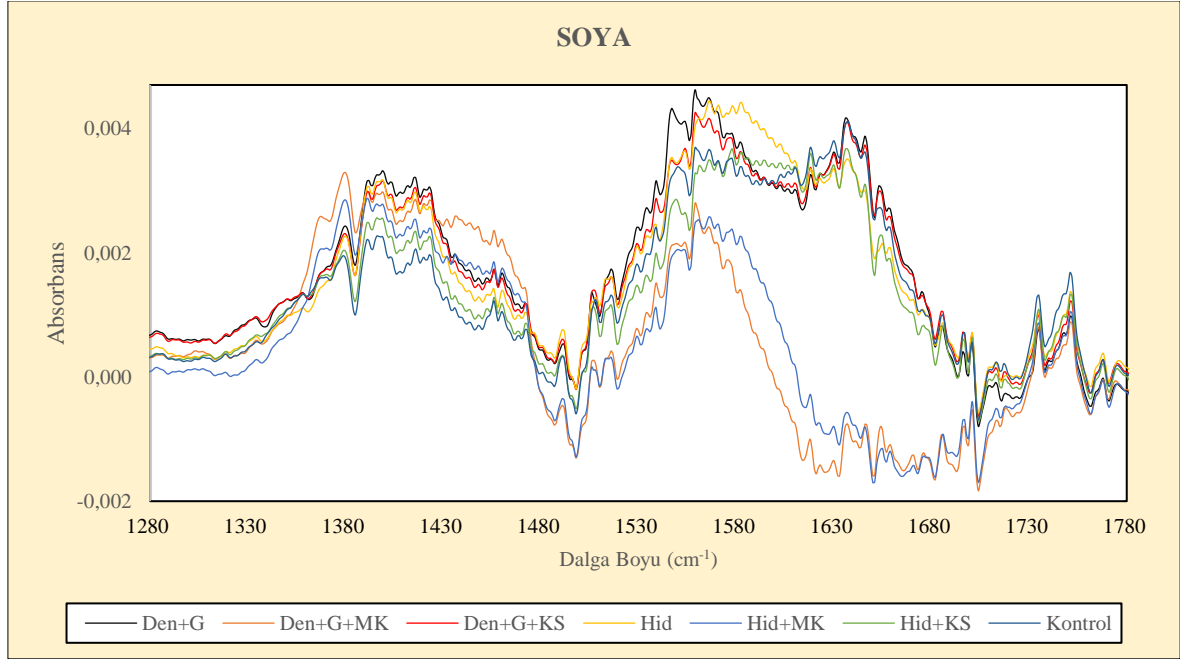
WPC(35) çözeltilerine ait FTIR analizlerinde ikincil yapıların pik verdiği dalga boyları çizelge 4.15’de verilmiştir. Buna göre ısı denatürasyona uğratılan WPC(35) çözelti örneklerinde mercanköşk yağı eklenmesi  $\beta$ -yaprak ve  $\beta$ -dönüş tabakalarda kayıba neden olmuştur. Benzer sonuç mercanköşk yağı enzimatik hidrolize uğratılan çözeltiye eklendiğinde de görülmektedir.

**Çizelge 4.15** WPC(35) çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları

| WPC(35)          | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|------------------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| $\beta$ -yaprak  | 1636  | 1638     | 1636     | 1637 | 1637   | 1637   |
|                  | 1630  | 1630     | 1630     | 1630 | 1630   | 1630   |
|                  | 1623  | 1618     | 1623     | 1618 | 1618   | 1618   |
|                  | 1618  |          | 1618     | 1611 | 1611   | 1611   |
|                  | 1611  |          | 1611     | 1606 |        | 1606   |
|                  |       |          |          | 1603 |        | 1603   |
| random           | 1646  |          | 1646     | 1646 | 1646   | 1646   |
| $\alpha$ -sarmal | 1659  | 1658     | 1659     | 1659 | 1659   | 1659   |
|                  | 1653  | 1655     | 1653     | 1655 | 1654   | 1655   |
|                  |       | 1652     |          | 1652 |        |        |
| $\beta$ -dönüş   | 1696  | 1697     | 1696     | 1696 | 1696   | 1696   |
|                  | 1685  | 1686     | 1685     | 1686 | 1686   | 1686   |
|                  | 1675  | 1667     | 1675     | 1676 | 1676   | 1676   |
|                  | 1670  |          | 1670     | 1671 | 1671   | 1671   |
|                  |       |          |          | 1667 |        |        |

#### 4.3.1.5. Soya Çözelti Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratarak gliserol ve antimikrobiyal madde eklenen soya çözelti örneklerine ait FTIR spektrumu şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.15 Soya protein çözeltilerine ait FTIR spektrumları

Bu protein örneklerinin Amid I ve Amid II titreşim bandlarında pik gözlemlenen dalga boyları Çizelge 4.16’deki gibidir.

Çizelge 4.16 Soya protein çözeltileri FTIR pik noktaları

| SOYA    | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|---------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| AMİD I  | 1635  | 1642     | 1636     | 1636 | 1617   | 1643   |
| AMİD II | 1558  | 1558     | 1558     | 1565 | 1565   | 1577   |

Soya protein çözeltilerinin ısı denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratan grupları Amid I bölgesinde saf protein ile aynı yoğunlukları vermiş, Amid II bölgesinde ise hem hidrolize hem denature çözeltiler için hafif artış görülmüştür. Bu işlemlerin soya protein

yapısında fazla değişime sebep olmadığı söylenebilir. Kekik suyu eklenen denature ve hidrolize çözelti bantlarında değişim gözlenmemiştir. Kekik suyu eklenmesi protein yapısında değişiklik göstermemiştir. Bununla birlikte, mercanköşk yağının hem hidrolize hem de denature çözeltiler için WPC(35) PAS protein çözeltileri ile benzer sonuçlar verdiği görülmektedir. Mercanköşk yağı protein yapısına bağlanarak bant yoğunluklarında azalmaya neden olmuştur.

Soya çözeltilerine ait FTIR analizlerinde ikincil yapıların pik verdiği dalga boyları Çizelge 4.17’de verilmiştir. Buna göre ısı denatürasyon ve enzimatik hidrolizin ikincil yapılarda değişikliğe neden olmadığı görülmektedir.

**Çizelge 4.17** Soya çözeltileri ikincil yapı FTIR pik noktaları

| Soya     | Den+G | Den+G+MK | Den+G+KS | Hid  | Hid+MK | Hid+KS |
|----------|-------|----------|----------|------|--------|--------|
| β-yaprak | 1636  | 1636     | 1636     | 1636 | 1636   | 1636   |
|          | 1630  | 1630     | 1630     | 1630 | 1630   | 1630   |
|          | 1623  | 1623     | 1623     | 1623 | 1623   | 1623   |
|          | 1618  | 1618     | 1618     | 1618 | 1618   | 1618   |
|          | 1611  | 1611     | 1611     | 1611 | 1611   | 1611   |
| random   | 1646  | 1647     | 1646     | 1646 | 1646   | 1646   |
| α-sarmal | 1659  | 1659     | 1659     | 1659 | 1659   | 1659   |
|          | 1653  | 1654     | 1653     |      | 1655   | 1655   |
| β-dönüş  | 1606  | 1606     | 1606     | 1606 | 1606   | 1606   |
|          | 1685  | 1685     | 1685     | 1686 | 1686   | 1686   |
|          | 1679  | 1679     | 1679     | 1679 | 1679   | 1679   |
|          | 1675  | 1676     | 1675     | 1676 | 1676   | 1676   |
|          | 1671  | 1671     | 1671     | 1671 | 1671   | 1671   |

#### 4.3.2 HPLC Analizi

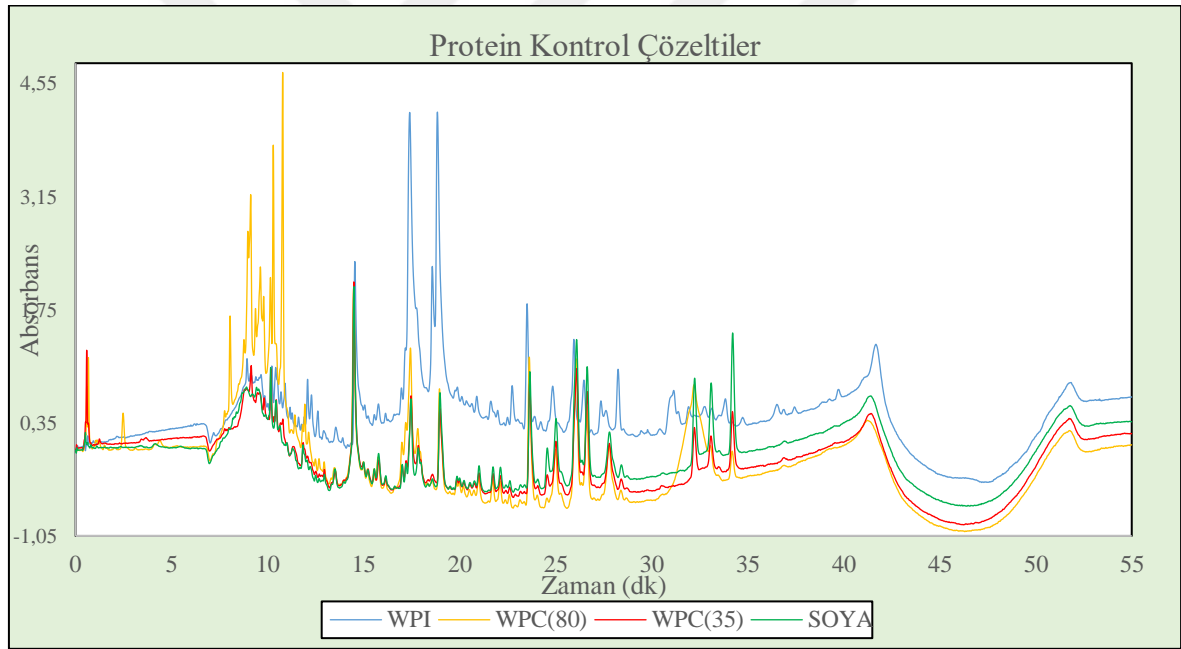
HPLC, bir karışımdaki bileşenlerin ayrılarak tanımlanabildiği ve kalitatif, kantitatif analizlerinin yapılabilirdiği analitik bir tekniktir. Bu yöntem hareketli faz içerisinde yer alan numunenin yüksek basınç ile katı bir adsorban içeren sabit faz içerisinden geçirilmesine dayanır[68]. Numune içerisinde yer alan bileşenlerin, sabit faz içerisindeki adsorban maddeyle polariteye dayalı etkileşimleri farklı olduğu için kolonda tutulma süreleri değişir.

Böylece bileşenler kolondan farklı akış hızlarında geçtiği için, kolondan birbirinden ayrılmış olarak farklı zamanlarda çıkarlar. Böylece kolondan çıkan bileşenlerin derişimleri ölçülebilir ve bileşenlerin konsantrasyonunu veren kromatogramlar elde edilebilir [69].

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz sonrası PAS ana protein fraksiyonlarında meydana gelen değişimleri izlemek ve oluşan yeni peptit fragmentlerinin belirlenmesi için HPLC analizleri gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.2.1 Kontrol Protein Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz gibi herhangi bir işleme uğratılmayan protein kontrol çözeltilerinin HPLC kromatogramları şekil 4.16’da verilmiştir.



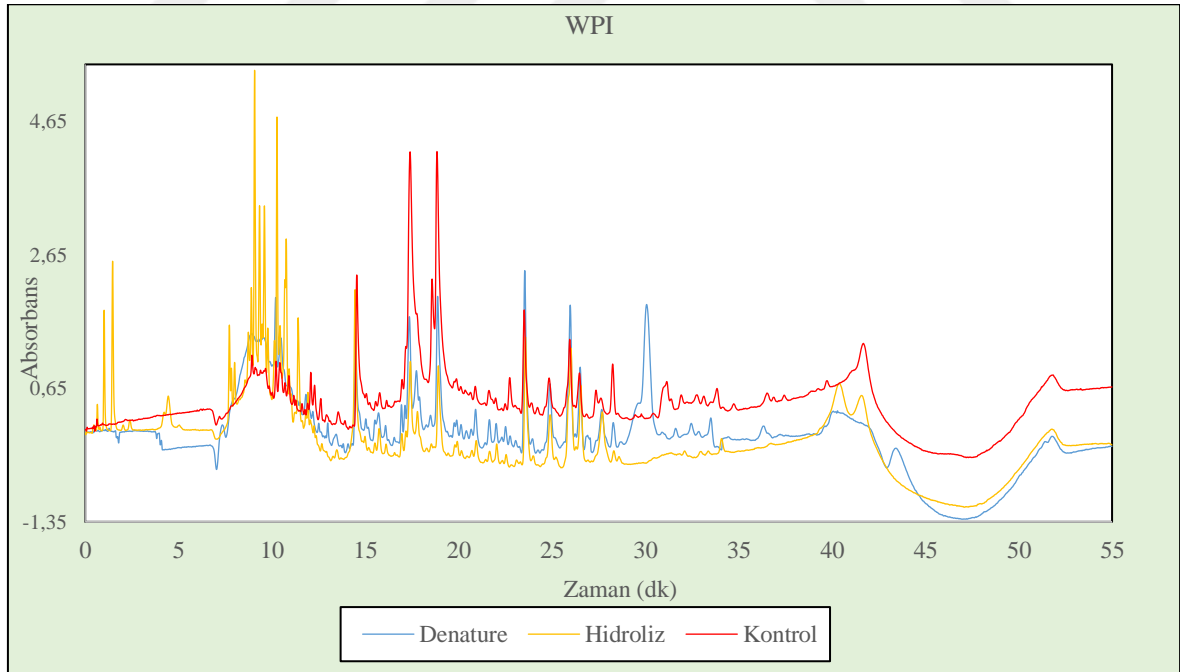
**Şekil 4.16** Kontrol protein çözeltilerine ait HPLC kromatogramları

WPI ve WPC(80) grubu proteinlerde protein oranlarının fazla olmasından kaynaklı pikler daha yoğun ve belirgindi. Düşük protein oranına sahip WPC(35) ve soya protein çözeltilerinde daha zayıf pikler görüldü. WPI çözeltisinde  $\beta$ -lg B ve  $\beta$ -lg A proteinleri 17. ve 18. dk.’da yoğun pikler verirken, bu proteinlerin WPC(80) ve WPC(35) peynir altı suyu çözeltilerinde daha az bulunmasından dolayı zayıf pikler verdiği görüldü. Tüm PAS

çözeltileri (WPI, WPC(80), WPC(35)) için 14. dk'da  $\alpha$ -la piklerine bakıldığında belirgin bir fark görülmemiştir ve tüm çözeltilerde yaklaşık aynı oranlarda bulunduğu söylenebilir. 12. dk.'da BSA ve 16. dk.da Ig protein pikleri incelendiğinde tüm PAS çözeltileri için zayıf pikler verdiği görüldü. WPC(80) çözeltilisinin 8. ve 10. dk. arasında verdiği güçlü pikler CMP (kazeinomakropeptit) proteinlerini yüksek oranda içerdiğini göstermektedir. Soya protein çözeltilisine ait kromatogram incelendiğinde 31. ve 34. dk. arasında verdiği pikler  $\beta$ -konglisin (7S) protein fraksiyonuna aitken, 23. ve 27. dk. arasında verdiği pikler glisin (11S) protein fraksiyonuna aittir. Buna göre soya protein çözeltilisinde glisin (11S) proteinlerinin daha fazla olduğu söylenebilir.

#### 4.3.2.2 WPI Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolizin WPI doğal proteinlerine etkisini incelemek için HPLC analizi yapılmıştır. Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolize uğratılan ve herhangi bir işlem görmeyen kontrol WPI çözeltilerinin HPLC kromatogramları şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17 WPI çözeltilerine ait HPLC kromatogramları

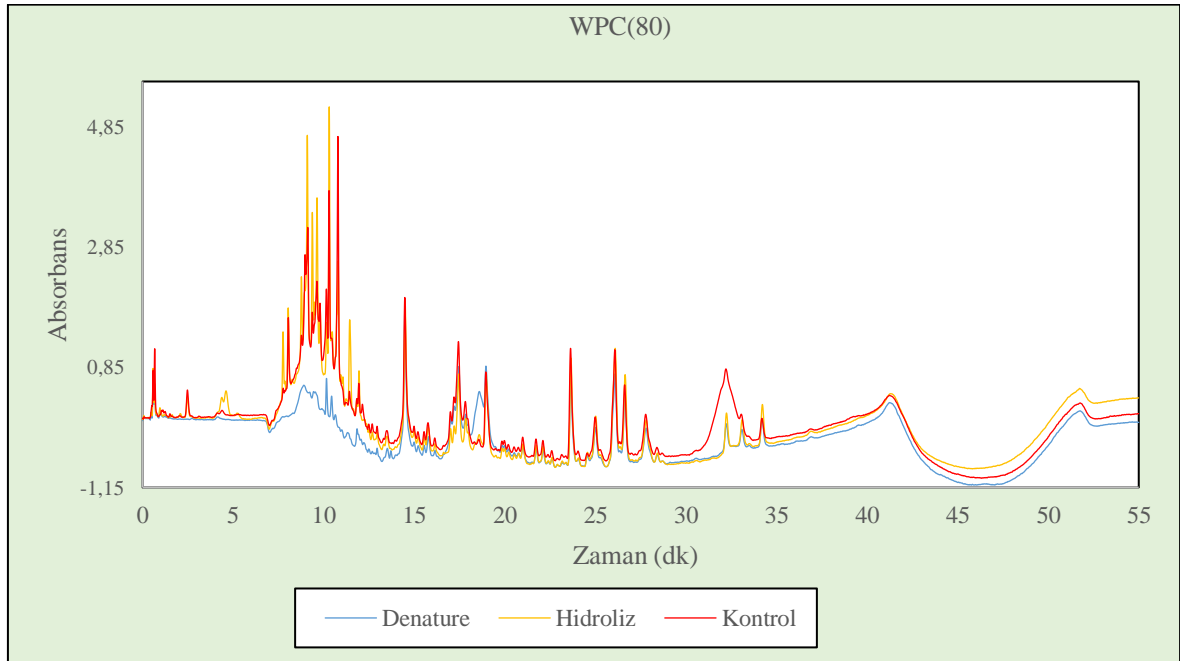


Isıl işlem sonrası denature olan protein zincirinde apolar kalıntıların açığa çıkması ile protein yapısının hidrofobikliği değiştiği için WPI doğal protein ( $\alpha$ -la,  $\beta$ -lg) piklerinde kayıplar görülmüştür. Bu sonuç Arriaga'nın (2011) yaptığı çalışma ile örtüşmektedir[70].  $\beta$ -lg B proteini için hem hidrolize hem de denature çözelti için tutulma zamanında hafif kayma görüldü. Denatürasyon sonrası 23., 26. ve 30. dk.'da oluşan pikler ise protein zincirinin açılması sonucu ortaya çıkan serbest amino asit grupları olabilir.

Enzimatik hidrolize uğratılan WPI protein çözeltisinin kromatografisi incelendiğinde, doğal PAS proteinlerinin piklerinde ısı denatürasyona uğratılan çözeltiye göre daha fazla kayıp görülmektedir. Ayrıca 8. ve 11. dk. arasında hidroliz sonrası oluşan peptidlere ait yeni pikler görülmektedir.

#### 4.3.2.3 WPC(80) Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolizin WPC(80) doğal proteinlerine etkisini incelemek için HPLC analizi yapılmıştır. Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolize uğratılan ve herhangi bir işlem görmeyen kontrol WPC(80) çözeltilerinin HPLC kromatogramları Şekil 4.18'de verilmiştir.

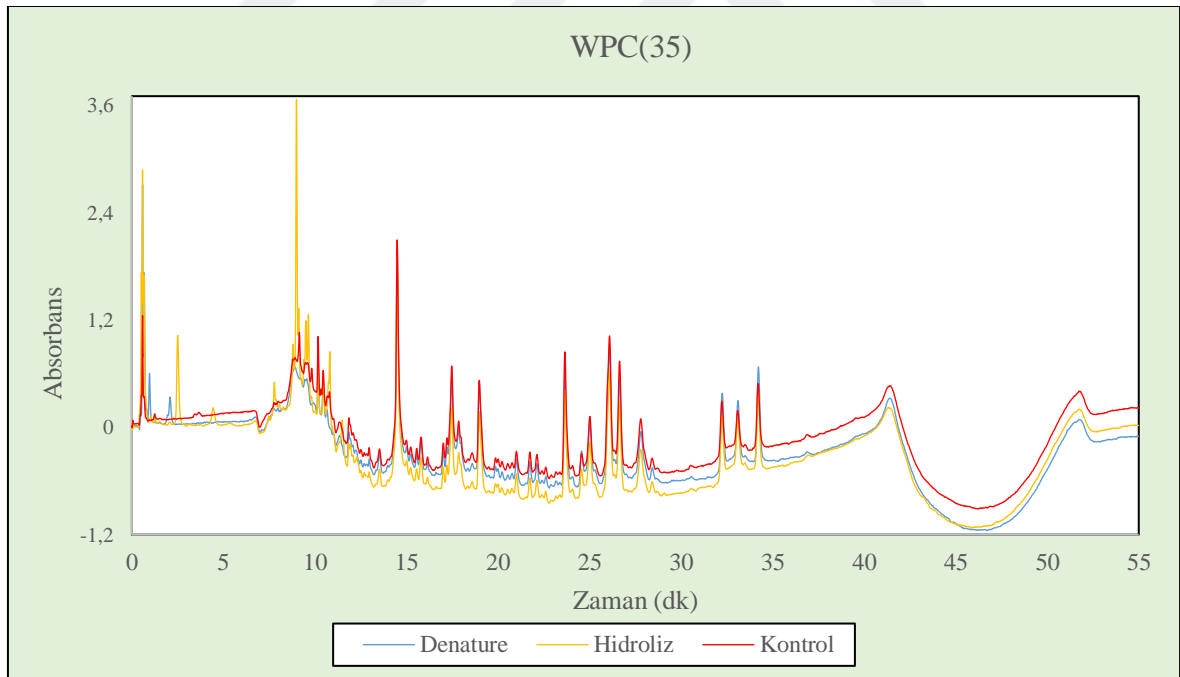


Şekil 4.18 WPC(80) çözeltilerine ait HPLC kromatogramları

Isıl denatürasyona uğratılan WPC(80) çözeltilerinde doğal PAS proteinlerde değişiklik gözlenmezken, kazeinomakropeptitlerin kaybolduğu görülmüştür. WPC(80) çözeltisi enzimatik hidrolize uğratıldığında  $\beta$ -lg protein yoğunluklarında hafif düşüş görülürken  $\alpha$ -la proteininde değişiklik gözlenmemiştir. 8. ve 11. dk.lar arasında pik veren peptit sayıları hidroliz sonrası artmıştır. Hem denature, hem de hidrolize çözeltilerde 31. ve 34. dk arasında yeni oluşan pikler görülmektedir.

#### 4.3.2.4 WPC(35) Çözelti Örneklerine Ait HPLC Sonuçları

Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolizin WPC(35) peynir altı suyu doğal proteinlerine etkisini incelemek için HPLC analizi yapılmıştır. Isıl denatürasyon ve enzimatik hidrolize uğratılan ve herhangi bir işlem görmeyen kontrol WPC(35) çözeltilerinin HPLC kromatogramları Şekil 4.19'da verilmiştir.



Şekil 4.19 WPC(35) protein çözeltilerine ait HPLC kromatogramları

Isıl denatürasyona uğratılan WPC(35) çözelti kromatografisi incelendiğinde doğal proteinlerde değişiklik görülmemiştir. Enzimatik hidrolize uğratılan çözeltide ise  $\alpha$ -la ve  $\beta$ -

lg proteinleri ile serbest aminoasit pik yoğunluklarında azalma görülmüş, kazeinomakropeptitin tek bir yoğun pik verdiği gözlenmiştir.

#### **4.4. Kaşar Peynirine Uygulanan Yenilebilir Kaplamaların Değerlendirilmesi**

Yenilebilir kaplama uygulanan kaşar peynirlerinin +4°C’de depolama süresinde 4. ve 8. günlerde tekstürel analizleri yapılarak kaplamaların peynirin kurumasına etkileri incelenmiştir.

##### **4.4.1. Yenilebilir Kaplama Uygulanan Peynirlerin Tekstürlerinin İncelenmesi**

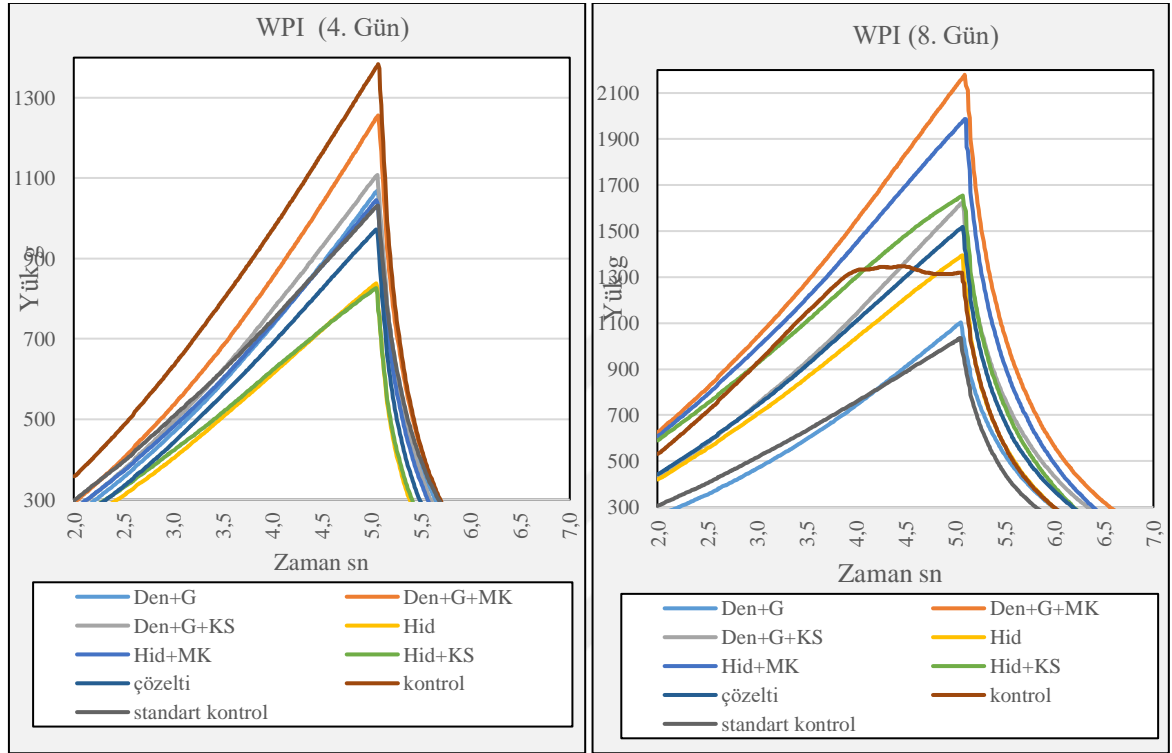
Tekstür cihazının küresel ucu kullanılarak peynir örneklerinde gerçekleştirilen penetrasyon testleri ile peynir yüzeyi sertlikleri değerlendirilmiştir. Çizelge 4.18’de 4. ve 8. günlerde yapılan testler sonucu elde edilen, peynir örneklerine uygulanan maksimum yükler verilmiştir. Kontrol örneği, herhangi bir çözeltiyle kaplanmayan ve kaplama peynirler ile aynı şartlarda (kapalı petrielerde) depolanan kaşar peyniri örneğidir. Standart kontrol olarak belirtilen örnek ise polietilen ambalajda saklanan kontrol örneğidir.

**Çizelge 4.18** 4 ve 8 günlük depolama sonrasında kaplama kaşar peynirlerinin penetrasyon dirençleri

|                  | Çözeltili Kompozisyonu | 4. GÜN         | 8. GÜN         |
|------------------|------------------------|----------------|----------------|
|                  |                        | Yük<br>(g)     | Yük<br>(g)     |
| <b>WPI</b>       | Den+G                  | 1070,58±49,87  | 1103,25±63,99  |
|                  | Den+G+MK               | 1258,00±206,41 | 2188,25±409,77 |
|                  | Den+G+KS               | 1108,67±131,92 | 1625,75±258,45 |
|                  | Hid                    | 838,33±48,45   | 1394,50±12,73  |
|                  | Hid+MK                 | 1047,58±19,03  | 1986,75±94,4   |
|                  | Hid+KS                 | 827,33±121,05  | 1658,75±534,22 |
|                  | Kontrol                | 973,83±74,91   | 1519,00±107,48 |
| <b>WPC(80)</b>   | Den+G                  | 1159,58±97,74  | 2101,75±244,31 |
|                  | Den+G+MK               | 1323,50±106,69 | 2842,25±252,08 |
|                  | Den+G+KS               | 1044,67±107,67 | 2474,75±538,46 |
|                  | Hid                    | 885,17±28,79   | 1736,25±107,83 |
|                  | Hid+MK                 | 824,50±248,46  | 1442,00±948,94 |
|                  | Hid+KS                 | 1057,92±58,48  | 2324,00±6,36   |
|                  | Kontrol                | 1133,67±69,21  | 1941,75±410,48 |
| <b>WPC(35)</b>   | Den+G                  | 1175,75±134,54 | 1810,75±4,60   |
|                  | Den+G+MK               | 1351,50±85,39  | 2814,00±324,56 |
|                  | Den+G+KS               | 1125,17±130,90 | 2055,75±445,83 |
|                  | Hid                    | 869,00±139,77  | 1667,25±593,62 |
|                  | Hid+MK                 | 970,08±47,07   | 1746,50±188,80 |
|                  | Hid+KS                 | 834,67±59,81   | 1734,00±565,69 |
|                  | Kontrol                | 1000,08±44,37  | 1911,50±178,90 |
| <b>SOYA</b>      | Den+G                  | 986,83±51,99   | 1957,25±172,18 |
|                  | Den+G+MK               | 1092,17±126,51 | 2271,25±235,82 |
|                  | Den+G+KS               | 940,83±55,78   | 1863,00±49,50  |
|                  | Hid                    | 855,58±70,48   | 1618,00±166,88 |
|                  | Hid+MK                 | 950,00±44,59   | 2428,00±76,37  |
|                  | Hid+KS                 | 758,25±37,18   | 1929,50±28,99  |
|                  | Kontrol                | 903,42±123,97  | 2156,25±654,43 |
| Kontrol          |                        | 1384,83±96,55  | 1554,00±38,18  |
| Standart kontrol |                        | 1031,50±32,53  | 1034,75±44,19  |

#### 4.4.1.1 WPI Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları

WPI protein çözeltileri ile kaplanan kaşar peyniri örneklerinde yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarla çizilen zamana karşı yük grafiği 4. ve 8. gün için şekil 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.20 4. ve 8. gün depolama sonrası WPI kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri

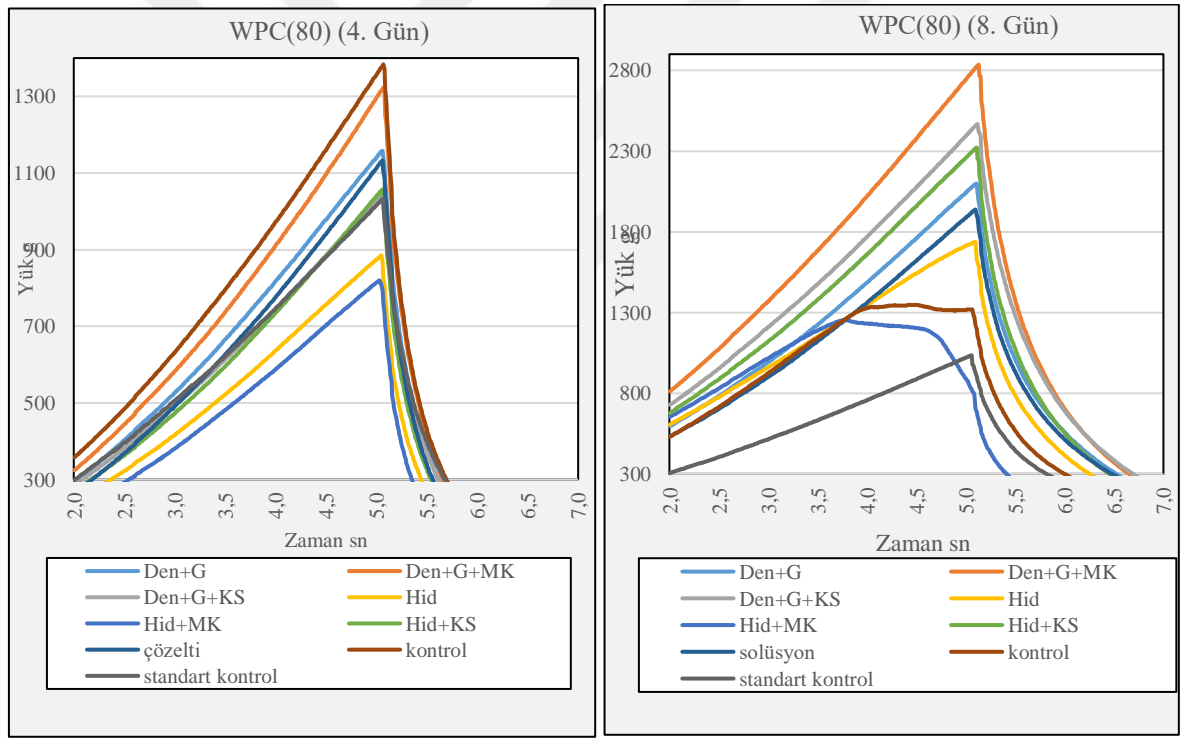
Zaman-yük grafiğine bakıldığında, 4. günde en fazla kuruma kontrol grubunda görülmüştür. Mercanköşk yağının hem denature hem de hidroliz gruplarında en fazla sertleşmeye sebep olduğu tespit edilmiştir. Saf hidrolize ve kekik suyu eklenen hidrolize çözeltilerle kaplamalar yüzey sertleşmesini engellemede en iyi sonucu vermiştir. Denature çözeltili kaplamaları, işlem görmeyen çözeltili kaplamaya göre daha fazla sertlik göstermiştir.

8. gün sonrasında yapılan test sonuçlarına bakıldığında kontrol kaşar peyniri örneklerinin polietilen ambalajda saklanan standart kontrol örneğine göre daha fazla kuruduğu görülmektedir. Mercanköşk eklenen denature ve hidrolize kaplamalar en çok kurumaya sebebiyet verirken, saf denature çözeltili en az kurumaya neden olmuştur. Kekik

suyu eklenen denature ve hidrolize kaplamaların ise antimikrobiyal eklenmeyen gruplara göre daha fazla yüzey sertliğine sebep olduğu görülmüştür. Bunun sebebi, yenilebilir protein kaplamaların oluşumu sırasında antimikrobiyal ajanların protein zincirlerin arasına girerek nem geçirgenliğini azaltacak yapının oluşumunu engellemesi olabilir. Kontrol kaşar peynirinde test sırasında kırılma meydana geldiği için anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

#### 4.4.1.2 WPC(80) Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları

WPC(80) protein çözeltileri ile kaplanan kaşar peyniri örneklerinde yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarla çizilen zamana karşı yük grafiği 4. gün için şekil 4.21’de verilmiştir.



Şekil 4.21 4 ve 8 gün depolama sonrası WPC(80) kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri

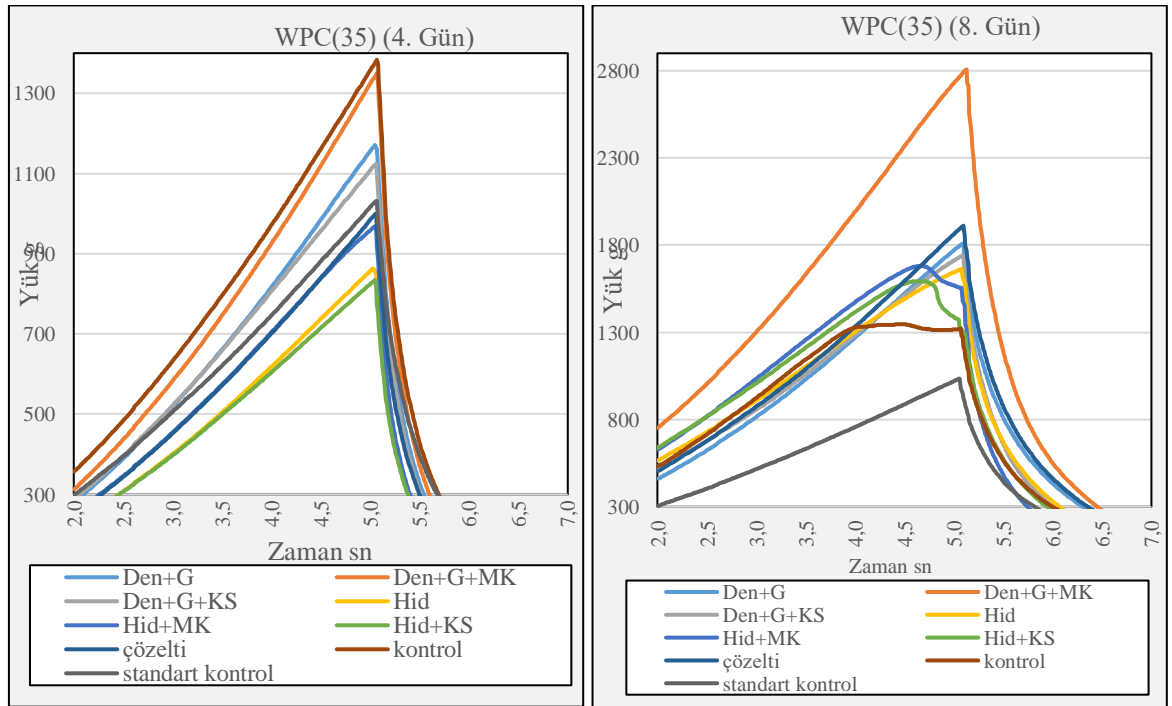
4. gün depolama sonrası yapılan tekstürel analiz sonuçlarına göre kontrol grubu ve mercanköşk yağı eklenen denature kaplama WPI ile aynı sonuçları vermiş, en yüksek sertlik değerlerini vermişlerdir. Kekik suyu eklenen denature ve hidrolize kaplamalar standart

kontrol örneği ile aynı sonuçları vermiş, mercanköşk yağı eklenen ve saf hidrolize kaplamalar en düşük değerleri göstermiştir.

WPC(80) kaplama kaşar peynirlerinde 8. gün yapılan analizlerde daha önceki sonuçlar gibi mercanköşk yağının peynir yüzeyini sertleştirdiği görülmüştür. Kekik suyu eklenen hidrolize ve denature çözeltiler sonraki en yüksek sertlik değerlerini vermiştir. Saf hidrolize çözeltilerin işlem görmeyen kontrol çözeltiliye göre en az sertliği gösterdiği tespit edilmiştir. Standart kontrol kaşar peynirinde en az kuruma olduğu görülmüştür. Kontrol kaşar peyniri ve mercanköşk yağı eklenen hidrolize kaplama peynirde kırılma nedeniyle anlamlı sonuç alınamamıştır. Peynir içerisinde bulunan hava boşlukları 4. günde uygulanan kuvvetle, 8. gün testinde kırılmaya neden olmuştur.

#### 4.4.1.3 WPC(35) Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları

WPC(35) protein çözeltileri ile kaplanan kaşar peyniri örneklerinde yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarla çizilen zamana karşı yük grafiği 4. gün ve 8. gün için şekil 4.22’de verilmiştir.



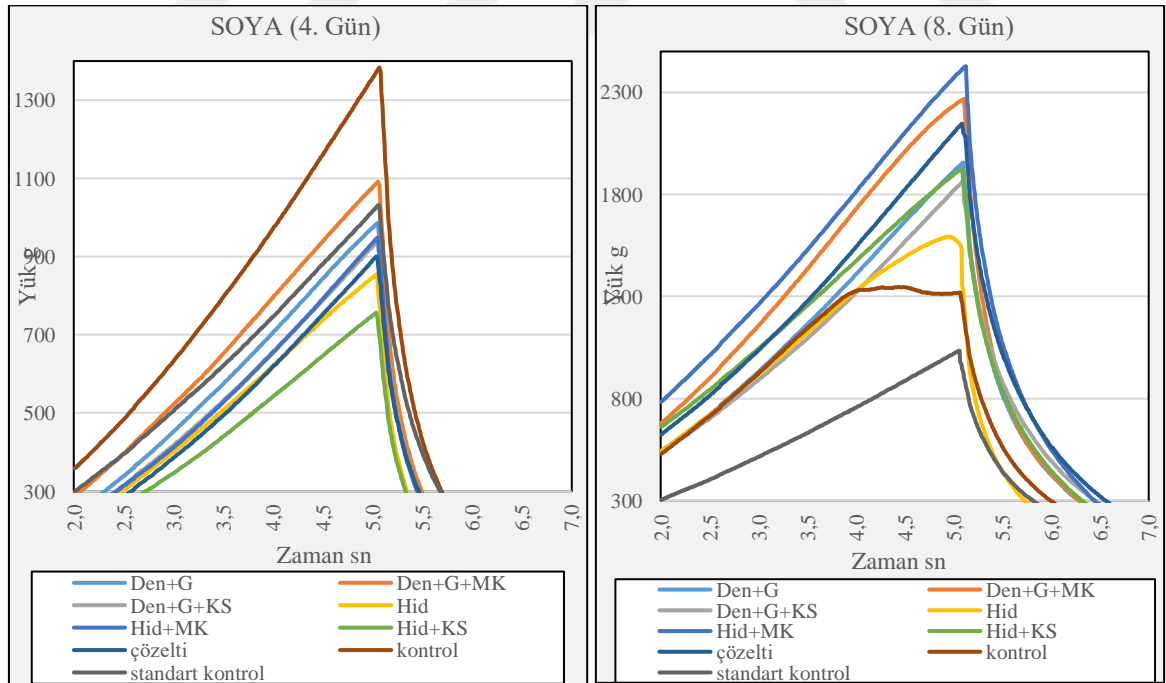
Şekil 4.22 4 ve 8 gün depolama sonrası WPC(35) kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri

WPC(35) protein kaplamalara 4. gün yapılan analizlerde WPI kaplamalara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol ve mercanköşk yağı eklenen denature kaplama kaşar peynirlerinin en yüksek değerleri verdiği görülmektedir. Hidroliz grubu kaplamalar içerisinde yine mercanköşk yağı ekli kaplamanın daha çok sertleştirdiği, diğer hidroliz gruplarının ise kontrol gruplarına göre en düşük kurumaya sebep oldukları tespit edilmiştir.

8. gün WPC(35) protein kaplama analizlerinde mercanköşk yağının peyniri yüzeyini çok fazla sertleştirdiği, diğer tüm kaplamaların yaklaşık aynı değerleri verdiği görülmüştür. Kontrol kaşar peyniri ile mercanköşk yağı ve kekik suyu ekli hidrolize kaplama peynirlerin kırılması nedeniyle sonuç alınamamıştır.

#### 4.4.1.4 Soya Kaplamalara Ait Tekstürel Analiz Sonuçları

Soya protein çözeltileri ile kaplanan kaşar peyniri örneklerinde yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarla çizilen zamana karşı yük grafiği 4. ve 8. gün için şekil 4.23'de verilmiştir.



Şekil 4.23 4 ve 8 gün depolama sonrası soya kaplama peynirlerine ait penetrasyon grafikleri



Soya kaplamalar için de 4. gün analizinde diğer protein kaplamalar ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol kaşar peyniri en fazla kurumaya sahipken, sonrasında mercanköşk yağı ekli denature kaplama yüksek sertlik değeri vermiştir. En az sertlik kekik suyu ekli hidrolize kaplamada görülürken, saf hidrolize çözeltinin en az kurumaya sebep olduğu görülmektedir.

8. gün analizlerinde mercanköşk yağı ekli denatüre ve hidrolize kaplamaların peynir yüzeylerinde en fazla sertliğe neden olduğu görülmektedir. Kaplamalar içerisinde saf hidrolize çözelti en az kurumaya neden olmuştur. Kontrol kaşar peynirinde kırılma nedeniyle sonuç alınamamıştır.

#### 4.5. Antimikrobiyal Değerlendirme

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratarak antimikrobiyal ajanlar (mercanköşk yağı, kekik suyu) eklenen yenilebilir film çözeltilerinden kurutma sonrası elde edilen filmler *Aspergillus niger* ekili PDA agar yüzeyine yerleştirilerek 25°C’de 48 saat inkübe edilmiş ve çizelge 4.19’deki sonuçlar elde edilmiştir.

Isıl denatürasyonla elde edilen WPI grubu filmler incelendiğinde mercanköşk yağı ve kekik suyu ekli film çeperlerinde antimikrobiyal eklenmeyen filmlere göre daha az sporlanma görülmektedir. Kekik suyu ilave edilen filmin ise mercanköşk ilaveli filme göre biraz daha etkin olduğu görülmektedir. Sedlarikova ve ark. (2017) yaptığı bir çalışmada yenilebilir filmde mercanköşk ve kekik yağlarının *A.niger*’e karşı etkinliklerini incelemiş ve kekik yağının mercanköşk yağına göre daha etkili olduğunu bulmuşlardır [71]. Önceki bu çalışma, bulduğumuz sonuçla örtüşmektedir. Benzer sonuç enzimatik hidrolize uğratarak mercanköşk yağı ve kekik suyu eklenen WPC(80) grubu filmlerde de bulunmuştur. Herhangi bir antimikrobiyal eklenmeyen hidrolize WPC(80) filmin, spor oluşumunu baskıladığı söylenebilir. WPC(35) ve soya grubu filmlerde hidroliz sonucu oluşan peptitler ve eklenen antimikrobialler *A. niger*’e karşı herhangi bir etki göstermemiştir. Elsayed ve ark. (2011), çeşitli esansiyel yağların *A. niger*’a karşı etkilerini araştırdıkları bir çalışmada mercanköşk yağının en az etkili olduğunu bulmuşlardır [72].

Bu çalışmada elde edilen filmlerin uygulanacağı gıda ürünü kaşar peyniri olarak belirlenmiştir. Kaşar peynirinde baskın şekilde gelişen m/o grubu küfler olduğu dikkate alınarak, elde edilen filmlerin ilk etapta etkinliği test m/o olarak seçilen *A. niger*’e karşı

incelenmiştir. İlk bulgular, bu filmlerin *A. niger* üzerinde antimikrobiyal etkiye sebep olmamakla beraber sporlanma sürecini bir miktar baskılayabildiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada oluşturulan film formülasyonlarının ileriki çalışmalarda farklı m/o'lara karşı test edilmesi antimikrobiyal etkisinin daha detaylı araştırılması ve değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır



**Çizelge 4.19** Aktif madde eklenmiş filmlerin *A. niger*'e karşı agar difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal etkisinin araştırma bulguları

|                 | WPI |   | WPC(80) |  | WPC(35) |   | SOYA |   |
|-----------------|-----|---|---------|--|---------|---|------|---|
| <i>Den+G</i>    |     |   |         |  | —       | — | —    | — |
| <i>Den+G+MK</i> |     |   |         |  | —       | — | —    | — |
| <i>Den+G+KS</i> |     |   |         |  | —       | — | —    | — |
| <i>Hid</i>      | —   | — |         |  |         |   |      | — |
| <i>Hid+MK</i>   | —   | — |         |  | —       |   |      |   |
| <i>Hid+KS</i>   | —   | — |         |  |         |   |      |   |

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

PAS ve soya protein çözeltilerine ısıl denatürasyon ve enzimatik hidroliz yöntemleri uygulanarak yenilebilir filmler elde edilmiştir. Her bir üretim yönteminde mercanköşk yağı ve kekik suyu eklenerek bu yöntemlerin ve antimikrobiyal maddelerin film yapısına etkileri değerlendirilmiştir. Ayrıca film elde edilen çözeltilerle kaşar peynirine daldırma yöntemiyle kaplama uygulanmış ve peynirin yüzey kurummasına ve dolayısıyla peynir tekstürüne etkileri incelenmiştir.

Yenilebilir film eldesi için yapılan denemelerde PAS proteinleri WPI, WPC(80) ve WPC(35) için %5, soya proteini için %10 konsantrasyon sonuçları film ve kaplama için uygun bulunmuştur. Isıl denatürasyon uygulanacak çözeltiler için 90°C/10 dk yeterli iken en uygun gliserol miktarı %3 belirlenmiştir. Enzimatik hidrolize uğratılan filmlerde gliserol kullanımı yapıyı yapışkan yaptığı için kullanılmazken, 8 saat hidroliz süresi film oluşumu için yeterli bulunmuştur. İlave edilen mercanköşk yağının %1'i geçtiğinde protein yapısına bağlanmasıyla yapıyı çok kırılğan hale getirdiği tespit edilmiştir. Protein oranı yüksek olan WPI ve WPC(80) çözeltilerin ısıl denatürasyonu sonucu şeffaf ve pürüzsüz filmler elde edilirken, protein oranı düşük olan WPC(35) ve soya çözeltilerin enzimatik hidrolizi sonucu oluşan peptitlerin molekül içi bağlanmaları neticesinde kaplamaya uygun filmler elde edilmiştir. Bunun sonucunda denatüre WPI ve WPC(80) proteinlerinin film uygulamaları için, hidrolize WPC(35) ve soya proteinlerinin ise kaplama uygulamaları için uygun olduğu tespit edilmiştir.

Protein çözeltilere eklenen antimikrobiyaller film kalınlıklarında bir değişime sebep olmazken, gliserolün peptit bağları arasına girerek protein zincirleri arası serbest hacimi artırdığı için film kalınlıklarında artışa sebep olduğu görülmüştür.

Yenilebilir filmlerin renk parametreleri değerlendirildiğinde en fazla renk değişimi ve sarılık indeksi içerisindeki mineraller nedeniyle soya filmlerde görülmüş, en saf protein WPI'de en az renk değişimi ve beyazlık görülmüştür.

Film çözeltilerinin viskozite ölçümleri sonucu tüm örneklerin artan dönme hızıyla viskozitelerinin azaldığı ve kayma incilmesi davranışı gösterdiği ve protein çözeltilerinin psödoplastik benzeri akışkan özelliğinde oldukları tespit edilmiştir.

FTIR analizleri incelendiğinde saf protein çözeltilerinde WPI ve WPC(80)'nin yüksek protein oranları, WPC(35) ve soyanın düşük protein oranları belirgin şekilde

görülmektedir. Yapıya gliserol eklenerek denature edildiğinde açılan protein zincirlerinde hidrojen bağlarının oluşumuyla -OH gruplarında azalma olmuştur. Mercanköşk yağının ise protein yapısına bağlandığı piklerde düşüşle tespit edilmiştir. Mercanköşk yağı protein oranı yüksek WPI ve WPC(80)'de  $\beta$ -yaprak tabakalarını artırırken, protein oranı düşük WPC(35)'da  $\beta$ -yaprak tabakalarının azalmasına neden olmuş, soyada ise ikincil yapıda bir değişiklik meydana getirmemiştir. Enzimatik hidrolize uğratılan çözeltilerde meydana gelen konformasyonel değişimler açık şekilde elde edilen FTIR spektrumlarında görülmektedir. Enzimatik hidrolizin en fazla WPI örneklerinde tüm ikincil yapılarda artışa sebep olduğu tespit edilmiştir.

HPLC kromatogramları, FTIR spektrumlarıyla uyumlu olarak WPI ve WPC(80)'de yüksek, WPC(35) ve soyada düşük protein oranlarını görülebilmektedir. Kromatogramlara göre PAS çözeltilerinde en fazla  $\alpha$ -laktalbumin bulunurken, sığır serum albümin ve immunoglobulinler daha az miktarda bulunmaktadır. WPC(80) örneklerinde kazeinomakropeptitlerin yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Soya proteinine ait kromatogram incelendiğinde glisin (11S) fraksiyonlarının,  $\beta$ -konglisin (7S) fraksiyonlarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Isıl denatürasyona ve enzimatik hidrolize uğratılarak antimikrobiyal eklenen protein çözeltileriyle kaplanan kaşar peyniri örneklerinin tekstürel analizlerine göre mercanköşk yağı peynir yüzeyini çok fazla sertleştirmiştir. Enzimatik hidrolize uğratılan çözeltiler kaplamalarda yüzey kuruması engellenirken, ısıl denatürasyon sertliği artırmıştır. Kaplama peynirler, 4 gün depolama sonrası tekstür analizlerinde kontrol gruplarına göre daha yumuşaktı. 8 gün depolama sonrası yüzey kurumasının en az olduğu peynirler soya protein kaplama peynirler olmuştur.

Yenilebilir filmlerin *Aspergillus niger*'a karşı antimikrobiyal etkinlikleri incelendiğinde mercanköşk yağı ve kekik suyu ilave edilmiş denature WPI filmlerde sporlanmanın bir miktar baskılandığı görülmüş, diğer filmlerde herhangi bir antimikrobiyal etki tespit edilememiştir.

PAS ve soya proteinlerinin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi ve bunların gıda üretimi için yeni teknolojilerin geliştirilmesinde kullanımının yaygınlaştırılması için daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir. Ticari uygulamalara

geçilmeden önce uzun vadeli toksisite değerlendirmesi açısından ilave araştırmalar yapılmalıdır.



## KAYNAKLAR

- [1] Garavand, F. , Rouhi, M., Razavi, S. H., Cacciotti, I., and Mohammadi, R., 2017, "Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review", *International Journal of Biological Macromolecules*, 104: 687–707.
- [2] Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M. and Akhtar, N. , 2018, "Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review" *International Journal of Biological Macromolecules*, 109: 1095–1107.
- [3] Paviath, A. E. and Orts, W., 2009, "Edible Films and Coatings: Why, what, and how?", *Edible films and coatings for food applications*, M. E. Embuscado & K. C. Huber (Eds.), *Western Regional Research Center*, New York, 1-23.
- [4] Ačkar, Đ., Šubarić, D., Babić, J., Jozinović, A. and Jokić, S., 2014, "Edible Films and Coatings - Production and Application", *www.tf.untz.ba*, vol. 7, no. 2: 1–6.
- [5] Zink, J., Wyrobnik, T., Prinz, T. and Schmid, M., 2016, "Physical, chemical and biochemical modifications of protein-based films and coatings: An extensive review", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 9.
- [6] Mauriello, G., 2016, "Control of Microbial Activity Using Antimicrobial Packaging" *Antimicrob. Food Packag.*, pp. 141–152.
- [7] Lacroix, M. and Vu, K. D., 2013, "Edible Coating and Film Materials: Proteins", *Innovations in Food Packaging*, Han, J.H. (Ed.), *Academic Press*, San Diego, CA, pp. 277–294.
- [8] Ergin, S. Ö., 2015, "Kiraz ve Kayısı Ağacı Reçinelerinin Yenilebilir Film Özelliklerinin İncelenmesi ve Gıda Kaplamasında Kullanımları" Doktora Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Afyon.

- [9] Henriques, M., Santos, G., Rodrigues, A., Gomes, D., Pereira, C. and Gil, M., 2013, "Replacement of Conventional Cheese Coatings By Natural Whey Protein Edible Coatings With Antimicrobial Activity," *Journal of Hygienic Engineering and Design*, vol. 3, no. July 2014, pp. 34–47.
- [10] Valdés, A., Ramos, M., Beltrán, A., Jiménez, A. and Garrigós, M., 2017, "State of the Art of Antimicrobial Edible Coatings for Food Packaging Applications" *Coatings*, vol. 7, no. 4, p. 56.
- [11] Aslan, Ö., 2014, "Development of Alternative Edible Coatings for Turkish Delight (Lokum) and Determination of Film Properties", Yüksek Lisans Tezi, *Yeditepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği*, İstanbul.
- [12] Henriques, M., Gomes, D. and Pereira, C. D., 2016, "Whey Protein Edible Coatings: Recent Developments and Applications", *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*, Food Engineering Series, V. Nedović et al. (eds.), *Springer International Publishing*, Switzerland.
- [13] Wittaya, T., 2012, "Protein-Based Edible Films: Characteristics and Improvement of Properties", In A. A. Eissa (Ed.), *Structure and Function of Food Engineering*, (pp. 43-70).
- [14] Chiralt, A., González-Martínez, C., Vargas, M. and Atarés, L., 2017, "Edible films and coatings from proteins", *Proteins in Food Processing*, Second Edi., *Elsevier Ltd.*, pp. 477-500.
- [15] R. J. S. de Castro *et al.*, 2017, "Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications" *Food Structure*, vol. 14, no. April, pp. 17–29.
- [16] Ó. L. Ramos, J. C. Fernandes, S. I. Silva, M. E. Pintado, and F. X. Malcata, 2012,



- “Edible Films and Coatings from Whey Proteins:A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties” *Food Science and Nutrition*, vol. 52, no. 6, pp. 533–552.
- [17] A. Abaee, M. Mohammadian, and S. M. Jafari, 2017, “Whey and soy protein-based hydrogels and nano-hydrogels as bioactive delivery systems,” *Trends in Food Science & Technology*, vol. 70, no. June, pp. 69–81.
- [18] S. Eswaranandam, N. S. Hettiarachchy, and M. G. Johnson, 2004, “Antimicrobial activity of citric, lactic, malic, or tartaric acids and nisin-incorporated soy protein film against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*” *Food Microbiology and Safety*, vol. 69, no. 3, pp. FMS79–FMS84.
- [19] R. Rose, S. K. Mary, S. Thomas, and L. A. Pothan, 2015, “Environment friendly green composites based on soy protein isolate,” *Food Hydrocolloids*, vol. 50, pp. 174–192.
- [20] Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enrione, J., Osorio, E., & Aguilera, J. M., 2010, “Food hydrocolloid edible films and coatings”, Food hydrocolloids: Characteristics, properties and structures, In C. S. Hollingworth (Ed.), *Nova Science Publishers, Inc.*, Hauppauge, NY, USA, pp. 1–41.
- [21] Munialo, C. D., Euston, S. R. and de Jongh, H. H. J., 2017, “Properties of Hydrocolloid Edible Films and Coatings”, *Protein gels*, pp. 501–521.
- [22] Riehuis, F. R. D., Ruppen, H. A. G. and V Oragen, A. L. G. J., 2005, “Enzymatic Hydrolysis as a Means of Expanding the Cold Gelation Conditions of Soy Proteins” *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1031–1038.
- [23] Korkmaz, K., 2018, “Ticari enzimler kullanılarak farklı balık türü atıklarından hidrolizat üretimi ve kalitesinin belirlenmesi”, Doktora Tezi, *Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ordu

- [24] Ju, Z. Y., Otte, J., Madsen, J. S. and Qvist, K. B., 1995, "Effects of Limited Proteolysis on Gelation and Gel Properties of Whey Protein Isolate," *Journal of Dairy Science*, vol. 78, no. 10, pp. 2119–2128.
- [25] C. Rocha, J. A. Teixeira, L. Hilliou, P. Sampaio, and M. P. Gonçalves, 2009, "Rheological and structural characterization of gels from whey protein hydrolysates/locust bean gum mixed systems," *Food Hydrocolloids*, vol. 23, no. 7, pp. 1734–1745.
- [26] N. Estévez, P. Fuciños, V. Bargiela, L. Pastrana, C. A. Tovar, and M. Luisa Rúa, 2016, "Structural and thermo-rheological analysis of solutions and gels of a  $\beta$ -lactoglobulin fraction isolated from bovine whey," *Food Chemistry*, vol. 198, pp. 45–53.
- [27] J. Gu, X. Mao, Y. Xiao, and S. Yang, 2011, "Effect of gelation factors on the formation and characteristics of protease-induced whey protein gel," *International of Dairy Technology*, vol. 64, no. 4, pp. 473–479.
- [28] M. J. Costa, L. C. Maciel, J. A. Teixeira, A. A. Vicente, and M. A. Cerqueira, 2018, "Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges", *Food Research International*, vol. 107, pp. 84-92.
- [29] F. Yangilar, 2015, "Chitosan/whey protein (CWP) edible films efficiency for controlling mould growth and on microbiological, chemical and sensory properties during storage of göbek kashar cheese," *Korean Society for Food Science of Animal Resources*, Vol. 35, No. 2, pp. 216-224.
- [30] Y. Zhong, G. Cavender, and Y. Zhao, 2014, "Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese" *LWT - Food Science and Technology*, vol. 56, no. 1, pp. 1–8.
- [31] Çiçek, Y. I., 2011, "Properties and Application of Whey Protein Isolate Based Films

Containing Clove and Apricot Essential Oils” Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Gıda Mühendisliği*, Gaziantep

- [32] Tural, S. , Sarıcaoğlu, F. T., Turhan, S., 2017, “Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Üretimleri, Uygulama Yöntemleri, Fonksiyonları ve Kaslı Gıdalarda Kullanımları”, *Akademik Gıda*, vol. 15, no. 1, pp. 84-94.
- [33] Özkılıç, B., 2012, “Bitkisel Proteinlerden Yenilebilir Film Elde Edilmesi ve Özelliklerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon.
- [34] Çiltepe, A., 2013, “Yenilebilir Kaplama ve Filmler ile Kaplanan Hindi Eti Köftelerinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi”, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- [35] V. García Ibarra, R. Sendón, and A. Rodríguez-Bernaldo De Quirós, 2016, “Antimicrobial Food Packaging Based on Biodegradable Materials” *Antimicrob. Food Packag.*, no. Figure 1, pp. 363–384.
- [36] S. Sethi and S. Gupta, 2016, “Antimicrobial Spices: Use in Antimicrobial Packaging,” *Antimicrob. Food Packag.*, pp. 433–444.
- [37] R. Raybaudi-Massilia, J. Mosqueda-Melgar, R. Soliva-Fortuny, and O. Martín-Belloso, 2016, “Combinational Edible Antimicrobial Films and Coatings,” *Antimicrob. Food Packag.*, pp. 633–646.
- [38] M. Z. Elsabee, R. E. Morsi and M. Fathy, 2016, “Chapter 44 - Chitosan-Oregano Essential Oil Blends Use as Antimicrobial Packaging Material,” *Antimicrob. Food Packag.*, pp. 539–551.
- [39] Karagöz, Z., 2007, “Antimikrobiyal Özellikteki Yenilebilir Filmlerin Taze Sığır Etinin Mikrobiyolojik ve Renk Stabilitesine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara*

- [40] Altınok Yipel, F. 2014, “Kedilerde Kulak Uyuzu (*Otodectes cynotis*) Sağaltımında Ozonlanmış Zeytinyağı ve Bazı Esansiyel Yağların (*Allium sativum* L., *Origanum majorana* L.) Etkileri”, Doktora Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Afyonkarahisar.
- [41] Vági, E., Simándi, V., Suhajda, A', He'thelyi, E' ., 2005, “Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide”, *Food Research International*, vol. 38, pp. 51-57.
- [42] K. G. Zinoviadou, K. P. Koutsoumanis, and C. G. Biliaderis, 2009, “Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef” *Meat Science*, vol. 82, pp. 338–345.
- [43] A. C. Seydim and G. Sarikus, 2006, “Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils”, *Food Research International*, vol. 39, pp. 639–644.
- [44] Kırimer, N. , Köseoğlu, Ç., İşcan, G., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., 2012, “Bazı yağ altı sularının uçucu bileşikleri ve mikrobiyal kontrolleri”, *Marmara Pharmaceutical Journal*, vol. 16: 23-28.
- [45] Boydağ, I., Kurkcuoglu, M., Ozek, T., M. Plant, and Baser, K. H. C., 2003, “Isolation of Some Soluble and Dispersed Materials of Oregano Water”, *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 39, no. 5.
- [46] de Conto, L. C., Fasolin, L. H., and Schmiele, M., 2001, “Gelling Properties”, Soybean Proteins Applied to Microencapsulation as Wall Material, *Nova Science*, pp. 83–85.

- [47] Çağrı-Mehmetoğlu, A., 2010, “Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Özelliklerini Etkileyen Faktörler”, *Akademik Gıda*, vol. 8, no. 5, pp. 37–43.
- [48] E. Çalikoğlu, 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*, Ankara.
- [49] S.-I. Chae and T.-R. Heo, 1997, “Production and properties of edible film using whey protein” *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 2, pp. 122–125.
- [50] E. Basiak, S. Galus, and A. Lenart, 2015, “Characterisation of composite edible films based on wheat starch and whey-protein isolate”, *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 50, no:2, pp. 372–380.
- [51] F. Debeaufort and A. Voilley, 1995, “Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films” *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 30, no:2, pp. 183–190.
- [52] Ramos, Ó. L., Silva, S. I., Soares, J. C., Fernandes, J. C., Poças, M. F., Pintado, M. E., Malcata, F. X., 2012, “Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds”, *Food Research International*, vol. 45, no:1, pp. 351–361.
- [53] Ramos, Ó. L., Santos, A. C., Leão, M. V., Pereira, J. O., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Franco, M. I., Pintado, M. E., Malcata, F. X., 2012, “Antimicrobial activity of edible coatings prepared from whey protein isolate and formulated with various antimicrobial agents”, *International Dairy Journal*, vol. 25, no:2, pp. 132–141.
- [54] Ramos, Ó. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., Vicente, A. A., Poças, M. F., Pintado, M. E., Malcata, F. X., 2013, “Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films

manufactured therefrom”, *Food Hydrocolloids*, vol. 30, no. 1, pp. 110–122.

- [55] Geçim, G., “Newtonian ve Newtonian Olmayan Akışkanların Viskozitesinin Belirlenmesi”, KBM0308 Kimya Mühendisliği Laboratuvarı II, *Bursa Teknik Üniversitesi*, pp. 1–8.
- [56] Kandemir, N. S., 2006, “Doğal Antimikrobiyal Madde İçeren Yenilebilir Pullulan Film Uygulamanın Hazır Salatanın Raf Ömrüne Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.
- [57] M. M. Gutierrez-Pacheco, L. A. Ortega-Ramirez, M. R. Cruz-Valenzuela, B. A. Silva-Espinoza, G. A. Gonzalez-Aguilar, and J. F. Ayala-Zavala, 2016, “Combinational Approaches for Antimicrobial Packaging: Pectin and Cinnamon Leaf Oil”, *Antimicrob. Food Packag.*, pp. 609–617.
- [58] Gökkaya, B., 2014, “Development and Characterization of Some Composite (WPI, SPI and CMC Based) Edible Films”, Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gaziantep.
- [59] J. Kong and S. Yu, 2007, “Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures”, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai)*, vol. 39, no. 8, pp. 549–559.
- [60] Gallagher, W., 2009, “FTIR Analysis of Protein Structure”, *Encyclopedia of Life Sciences*, no. 1958, pp. 662–666.
- [61] Y. Han, Q. Xu, Z. Lu, and J. Wang, 2014, “Preparation of transparent zein films for cell culture applications”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 120, pp. 55–62.
- [62] Wang, C., Jiang, L., Wei, D., Li, Y., Sui, X., Wang, Z. and Li, D., 2011, “Effect of secondary structure determined by FTIR spectra on surface hydrophobicity of

soybean protein isolate,” *Procedia Engineering*, vol. 15, pp. 4819–4827.

- [63] A. Barth, “Infrared spectroscopy of proteins,” *Biochimica Biophysica Acta - Bioenergetics*, vol. 1767, no. 9, pp. 1073–1101.
- [64] Kaya, A., 2019, “İşleme Esnasında Sütte Bulunan Alerjen Proteinlerin Yapısındaki Değişikliklerin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Uşak.
- [65] Sukyai, P., Anongjanya P., Bunyahwuthakul, N., Kongsin, K., Harnkarnsujarit, N., Sukatta, U., Chollakup, R., 2018, “Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films,” *Food Research International journal*, vol. 107, no. December 2017, pp. 528–535.
- [66] S. Bahram, M. Rezaei, M. Soltani, A. Kamali, S. M. Ojagh, and M. Abdollahi, 2014, “Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil,” *Journal of Food Processing and Preservation*, vol.38, pp. 1251-1258.
- [67] Ö. Tarhan, E. Tarhan, and Ş. Harsa, 2014, “Investigation of the structure of alpha-lactalbumin protein nanotubes using optical spectroscopy,” *Journal of Dairy Research*, vol. 81, no. 1, pp. 98–106.
- [68] Allen, M., 2010, “A comparison of analytical methods for quantifying denatured whey proteins and their correlation to solubility”, Master Thesis, *Faculty of California Polytechnic State University*, San Luis Obispo.
- [69] Akmeşe, B., 2015, “Biyojen Aminlerin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi ile Ayırımı ve UV-Görünür Spektrofotometrik Tayinleri”, Doktora Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun.
- [70] Arriaga, T. V., 2011, “Controlled and tailored denaturation and aggregation of whey proteins”, Master Thesis, *Instituto Superior Técnico Engenharia Biológica*, Lisboa.

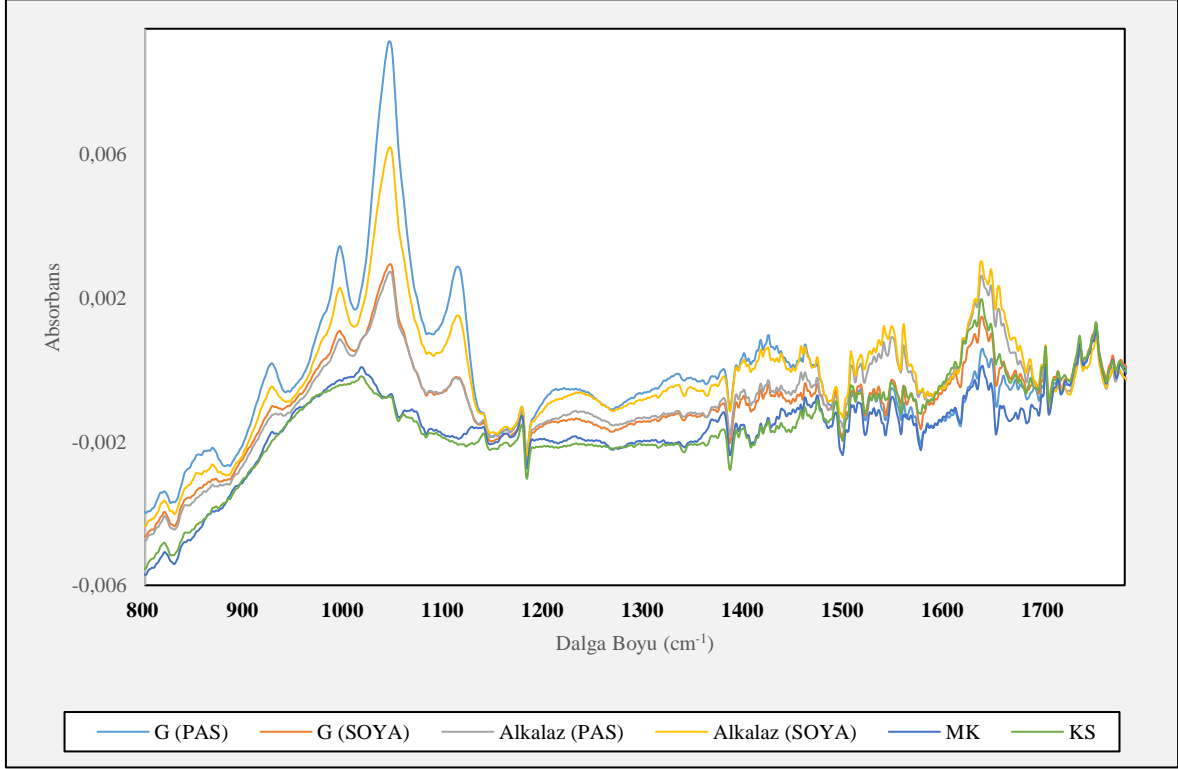
- [71] J. Sedlářiková, M. DoleDalová, P. Egner, J. Pavlalková, J. Krejčí, O. Rudolf, P. Peer, 2017, “Effect of Oregano and Marjoram Essential Oils on the Physical and Antimicrobial Properties of Chitosan Based Systems”, *International Journal of Polymer Science*, vol. 2017.
- [72] Y. Elsayed and Y. Shabana, 2018, “The effect of some essential oils on *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* infestation in archaeological oil paintings”, *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*, vol. 18, no. 3, pp. 71–87.





## EKLER

### EK-1 Protein Çözeltilerine Eklenen Ajanların FTIR Sonuçları



Şekil 1. Protein Çözeltilerine Eklenen Ajanların FTIR Sonuçları

## EK-2 Film Çözeltilerinin Viskozite Grafiklerine Ait Korelasyon Bağantısı ve R<sup>2</sup> Değerleri

**Çizelge 2.1** Film çözeltilerinin viskozite grafiklerine ait korelasyon bağıntısı ve R<sup>2</sup> değerleri

| Çözelti |                          | Korelasyon Bağıntısı   | R <sup>2</sup> |
|---------|--------------------------|------------------------|----------------|
| WPI     | Den+%3 gly               | $y = 4,1669x^{-0,98}$  | 0,9991         |
|         | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | $y = 5,8559x^{-0,811}$ | 0,9967         |
|         | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | $y = 5,8756x^{-0,953}$ | 0,9980         |
|         | Hidroliz                 | $y = 5,5406x^{-0,994}$ | 0,9995         |
|         | Hid+%1 mercanköşk        | $y = 3,8127x^{-0,87}$  | 0,9862         |
|         | Hid+%5 kekik suyu        | $y = 5,0527x^{-0,958}$ | 0,9973         |
|         | Kontrol                  | $y = 4,5225x^{-1,051}$ | 0,9999         |
| WPC(80) | Den+%3 gly               | $y = 4,1669x^{-0,98}$  | 0,9979         |
|         | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | $y = 5,8559x^{-0,811}$ | 0,9996         |
|         | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | $y = 4,4451x^{-0,911}$ | 0,9890         |
|         | Hidroliz                 | $y = 5,4653x^{-1,05}$  | 1,0000         |
|         | Hid+%1 mercanköşk        | $y = 5,0321x^{-0,837}$ | 0,9828         |
|         | Hid+%5 kekik suyu        | $y = 5,5896x^{-0,972}$ | 1,0000         |
|         | Kontrol                  | $y = 5,3095x^{-1,072}$ | 0,9972         |
| WPC(35) | Den+%3 gly               | $y = 4,2378x^{-0,672}$ | 0,9013         |
|         | Den+%3 gly+%1 mercanköşk | $y = 5,2156x^{-0,954}$ | 0,9997         |
|         | Den+%3 gly+%5 kekik suyu | $y = 5,0861x^{-0,882}$ | 0,9972         |
|         | Hidroliz                 | $y = 4,1948x^{-0,857}$ | 0,9995         |
|         | Hid+%1 mercanköşk        | $y = 5,1157x^{-0,873}$ | 1,0000         |
|         | Hid+%5 kekik suyu        | $y = 4,4689x^{-0,867}$ | 0,9999         |
|         | Kontrol                  | $y = 4,7781x^{-1,015}$ | 1,0000         |
| SOYA    | Den+%1 gly               | $y = 5,0136x^{-1,055}$ | 0,9998         |
|         | Den+%1 gly+%1 mercanköşk | $y = 5,8046x^{-0,894}$ | 0,9998         |
|         | Den+%1 gly+%5 kekik suyu | $y = 5,494x^{-1,006}$  | 1,0000         |
|         | Hidroliz                 | $y = 5,2618x^{-0,976}$ | 1,0000         |
|         | Hid+%1 mercanköşk        | $y = 5,4906x^{-0,893}$ | 0,9998         |
|         | Hid+%5 kekik suyu        | $y = 4,4188x^{-1,034}$ | 0,9989         |
|         | Kontrol                  | $y = 5,4075x^{-0,934}$ | 0,9999         |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı** : Rana  
**Soyadı** : ŞEN  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri** : Aydın  
**E-mail** : [ranasen@live.com](mailto:ranasen@live.com)

### Eğitim Bilgileri

| <u>Derece</u> | <u>Eğitim Birimi</u>          | <u>Mezuniyet Tarihi</u> |
|---------------|-------------------------------|-------------------------|
| Yüksek Lisans | Uşak Üniversitesi             | 2020                    |
| Lisans        | Orta Doğu Teknik Üniversitesi | 2003                    |
| Lise          | Mersin Fen Lisesi             | 1996                    |

### İş Deneyimi

| <u>Yıl</u> | <u>Yer</u>                      | <u>Görev</u>         |
|------------|---------------------------------|----------------------|
| 2007-2011  | Bechtel&Enka İnşaat/Arnavutluk  | Yemekhane Yöneticisi |
| 2003-2007  | Bilintur Catering Centre/Ankara | Gıda Mühendisi       |