

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

**FARKLI BİLEŞENLER İÇEREN YENİLEBİLİR FİLM VE
KAPLAMALARIN MİKROBİYAL İNAKTİVASYONA ETKİSİ**

FIRAT ATEŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

HAZİRAN 2020

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

**FARKLI BİLEŞENLER İÇEREN YENİLEBİLİR FİLM VE
KAPLAMALARIN MİKROBİYAL İNAKTİVASYONA ETKİSİ**

FIRAT ATEŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

HAZİRAN 2020

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Farklı Bileşenler İçeren Yenilebilir Film ve Kaplamaların Mikrobiyal
İnaktivasyona Etkisi
Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğrt. Üyesi Seval CİNG YILDIRIM

Hazırlayan

Fırat ATEŞ

Jürimiz tarafından 25/06/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda bu tez oybirliği /oyçokluğu ile başarılı bulunarak Biyoloji Anabilim Dalı Biyoteknoloji bilim dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul etmiştir.

Jüri Üyelerinin Unvanı Adı Soyadı

İmza

1. **Dr. Öğr. Üyesi Seval CİNG YILDIRIM**

.....

2. **Prof. Dr. Dilek ASMA**

.....

3. **Dr. Öğr. Üyesi Miraç UÇKUN**

.....

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../20... tarih ve 20.../..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Kazım TÜRK

Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın fikir, çalışma ve sonuç aşamalarının tümünde yardımını esirgemeyen her zaman destek olan ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Seval CİNG YILDIRIM'a,

Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ'ye,

Tez aşamasında yardımcı olan ve filmleri üretmemizde büyük emeği olan İnönü Üniversitesi Kimya Bölümünden Prof. Dr. Ahmet GÜNTEK ve Dr. Fadime Nilüfer Kiğılı'ya,

Tez aşamalarında fikirleriyle ve yardımlarıyla yanımda olan ve bana yol gösteren değerli hocalarım Doç. Dr. Duygu Neval Sayın İPEK ve Araş. Gör. Özge KAYGUSUZ'a,

Tezin deney aşamasının hemen hemen tamamında yanımda olan tecrübelerini esirgemeyen Aslıhan Şeyma DİNÇER'e,

Bu tez çalışmasını FYL-2017-841 nolu proje olarak destekleyen BAP'a,

Yaşamım boyunca elimden tutan ve her adımda yol gösteren tüm aileme sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum ‘‘Farklı Bileşenler İçeren Yenilebilir Film ve Kaplamaların Mikrobiyal İnaktivasyona Etkisi’’ başlıklı bu çalışmanın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada kuralına uygun olarak gösterildiğini belirtir, bunu onurumla doğrularım.

FIRAT ATEŞ



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ŞİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
GİRİŞ.....	1
1.1. Ambalaj	1
1.2. Aktif Ambalajlama	3
1.3. Yenilebilir Film ve Kaplamalar	4
1.4. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Maddeler	7
1.4.1. Hesperidin.....	8
1.4.2. β - Karoten	9
1.4.3. Propolis	9
1.5. Gıda Kaynaklı Patojenler	10
1.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
1.5.2. <i>Escherichia coli</i>	11
1.6. Antimikrobiyal Aktivite Testleri	12
1.7. Beyaz Peynirlerin Üretilmesi ve Ambalajlanması.....	13
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	14
3. MATERYAL ve METOT	21
3.1. Kimyasal Malzemeler.....	21
3.2. Mikroorganizmalar ve kültürler	21
3.3. β -karoten, Hesperidin ve Propolis' in Hazırlanması	21
3.4. Selüloz-bazlı Yenilebilir β -karoten, Hesperidin ve Propolis İçeren Filmlerin Hazırlanması.....	21
3.5. Beyaz Peynir Numunelerinin Hazırlanması ve Kontamine Edilmesi	22
3.6. Peynirin Kaplanması	22
3.7. Peynirin Homojenizasyonu ve Canlı Hücre Sayımı	22
3.8. β -karoten, Hesperidin ve Propolis Çözeltilerinin Antimikrobiyal Tayini	23
3.9. β -karoten, Hesperidin ve Propolis İçeren Selüloz Bazlı Yenilebilir Filmlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	23
3.10. Analizler	23
3.10.1. DPPH radikali ile antioksidan tayini	23
3.10.2. Toplam fenolik madde miktarı tayini	24
3.10.3. Enstrümental analiz	24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	25
4.1. Enstrümental analiz	25
4.2. β -Karoten, Hesperidin ve Propolis Çözeltilerinin ve Selüloz Bazlı Yenilebilir Filmlerin (SBYF) Antimikrobiyal Aktivitesi	26
4.3. Antimikrobiyal Filmlerin Depolama Periyodunda <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> Düzeyi Üzerine Etkisi	30
4.3.1. <i>E. coli</i> sayımı	30
4.3.2. <i>S.aureus</i> sayımı.....	33

4.3.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları	37
4.3.4. DPPH ile Antiosidan Tayini Sonuçları	38
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	48



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1: Selüloz bazlı yenilebilir filmin farklı antimikrobiyal maddelerle bileşimi.	22
Çizelge 4.1: β -karoten, hesperidin, propolis ve potasyum sorbat çözeltilerinin test edilmiş mikroorganizmalara karşı inhibisyon aktiviteleri.	27
Çizelge 4.2: Farklı içerikteki selüloz bazlı yenilebilir filmlerin (SBYF) mikroorganizmaların üremesi üzerine antimikrobiyal aktivitesi.	28
Çizelge 4.3: 4° C de depolama sırasında antimikrobiyal maddeler içeren SBY filmleri ile kaplanmış beyaz peynirlerdeki <i>E.coli</i> (log kob/g) sayısı	31
Çizelge 4.4: 4° C de depolama sırasında antimikrobiyal maddeler içeren SBY filmleri ile sarılı beyaz peynirdeki <i>S.aureus</i> (log kob/g) sayısı.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: Yenilebilir film ve kaplamaların oluşumunda kullanılan biyomateryaller	7
Şekil 1.2: Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan materyaller	8
Şekil 1.3: Hesperidinin kimyasal yapısı	9
Şekil 1.4: β - Karoten'in kimyasal yapısı	9
Şekil 1.5: Propolis içerisinde bulunan bazı bileşenler	10
Şekil 2.1: Esansiyel yağların bakterilere etkisi	17
Şekil 4.1: Selüloz bazlı yenilebilir filmin (FTIR) spektrum ölçümü	25
Şekil 4.2: Selüloz bazlı yenilebilir filmin sıcaklık analizi. (a) Termogravimetrik analiz (TGA) ve (b) Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC).....	26
Şekil 4.3: Uygulanan maddelerin toplam fenolik madde miktarı	37
Şekil 4.4: Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 4.5: Uygulanan maddelerin antioksidan aktivitesi.....	39
Şekil 4.6: Trolox kalibrasyon grafiği	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

KOB	Koloni Oluşturan Birim
DMSO	Di-metil sülfoksit
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
DSC	Diferansiyel tarama kalorimetri
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroskopisi
H	Hesperidin
MAP	Modifiye Atmosferde Paketleme
PBS	Fosfat Tamponu
P	Propolis
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SBYF	Selüloz Bazlı Yenilebilir Film
TGA	Termogravimetrik analiz
a/h	Ağırlık/hacim
K	β -karoten
h/h	Hacim/hacim

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI BİLEŞENLER İÇEREN YENİLEBİLİR FİLM VE KAPLAMALARIN MİKROBİYAL İNAKTİVASYONA ETKİSİ

Fırat ATEŞ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

48+XI Sayfa

2020

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Seval CİNG YILDIRIM

Yenilebilir film ve kaplamalar gıda kökenli mikroorganizmaların neden olduğu mikrobiyolojik bozunmalarla karşı etkili olmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamaların normal ambalaj materyallerine göre bazı avantajları mevcuttur. Yenilebilir filmler, organik biyopolimer bazlı materyallerdir. Bu ince yapılı materyaller, gıdaların yüzeyine kaplama şeklinde uygulanarak gıdanın dış etkilere karşı korunması amacıyla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, β -karoten, hesperidin, propolis ile hazırlanmış yenilebilir selülozik filmlerin önemli gıda patojenlerinden olan *Staphylococcus aureus*'a ve *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal etkileri doğrudan yapay kontamine gıda örnekleri ile buzdolabı sıcaklığında muhafaza şartları altında değerlendirilmiştir. Yapay kontaminasyon için yarı sert geleneksel Türk peynirlerinden olan taze beyaz peynir örnekleri kullanılmıştır. β -karoten, hesperidin ve propolisin antimikrobiyal aktivitesi kağıt disk yöntemi ile ölçüldü. Antimikrobiyal madde içeren selüloz bazlı yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitesi, modifiye agar difüzyon metodu ile ölçülmüştür. Test edilen antimikrobiyal maddelerin DPPH radikali ile antioksidan tayini ve toplam fenolik madde miktarı tayini yapılmıştır. Kaplama işlemlerinde oluşturulan farklı film kompozisyonlarının *E. coli* ve *S. aureus* düzeyleri üzerindeki indirgenme kapasiteleri benzer olmuştur. Ancak hesperidin püskürtülen filmlerin *E.coli* üremesi, karoten püskürtülen filmlerin de *S. aureus* üremesi üzerinde antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Her iki bakteri türünün üremesi de %20 propolis varlığında yüksek oranda ihhibe olmuştur (> %50). Selülozik bazlı

yenilebilir antimikrobiyal filmler, günümüzde koruyucu olarak kullanılan potasyum sorbattan daha fazla antimikrobiyal etki gösterip daha çok bakteri üreme inhibisyonu sağlamıştır. Bu gelişmiş paketlenme teknolojisi ile gıda güvenliği sağlanabilir, ürünün raf ömrü uzatılabilir ve bu sektördeki gıda kayıpları azaltılabilir.



Anahtar kelimeler: Yenilebilir selülozik bazlı film, β -karoten, Propolis, Hesperidin, Antimikrobiyal aktivite, Fenolik bileşikler.

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECT OF EDIBLE FILMS AND COATINGS WITH DIFFERENT COMPONENTS ON MICROBIAL INACTIVATION

Firat ATEŞ

Inonu University
Institute of Science and Technology

48+XI Sayfa

2020

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Seval CİNG YILDIRIM

Edible films and coatings are effective against microbiological degradation caused by food-borne microorganisms. Edible films and coatings have some advantages over normal packaging materials. Edible films are organic biopolymer based materials. These fine materials are used as a coating on the surface of the food and used to protect the food against external influences.

In this study, the antimicrobial effects of edible cellulosic films prepared with β -carotene, hesperidin and propolis against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, which are important food pathogens, were evaluated directly under artificial storage conditions with artificial contaminated food samples. Fresh white cheese samples from semi-hard traditional Turkish cheeses were used for artificial contamination. Antimicrobial activity of β -carotene, hesperidin and propolis was measured by the paper disc method. The antimicrobial activity of cellulose-based edible films containing antimicrobial agent was measured by the modified agar diffusion method. The antioxidant determination with the DPPH radical and the total amount of phenolic substance were tested. The reduction capacities of the different film compositions formed in the coating processes on *E. coli* and *S. aureus* levels were similar. However, it was determined that hesperidin sprayed films showed *E.coli* growth and carotene sprayed films showed antimicrobial effects on *S. aureus* growth. The growth of both bacterial species has been high in the presence of 20% propolis (> %50). Cellulosic based edible antimicrobial films have shown more antimicrobial effects

and more bacterial growth inhibition than potassium sorbate, which is used today as a preservative. With this advanced packaging technology, food safety can be ensured, shelf life of the product can be extended and food losses in this sector can be reduced.



Keywords: Edible cellulosic based film, β -carotene, Hesperidin, Propolis, Antimicrobial activity, Fenolic compound.

GİRİŞ

1.1. Ambalaj

Ambalaj, içerisine konulan ürünleri dış etkenlerden koruyan ve depolama süresince ürünlerin özelliklerini kaybetmemesini sağlayan bir prosesin adıdır. Geçmişte gıda ambalajları, gıda maddelerini fiziksel ve çevresel etmenlere karşı korumak için bariyer oluşturması amacıyla kullanılmıştır (Han J.H., 2000). Ancak günümüzde çok daha farklı amaçlara da hizmet etmektedir. Gıdanın korunması dışında; ürün özelliklerini arttırıcı besin maddeleri içermesi, pazarlama niteliğine göre tüketiciye hem bilgi verme hem de ürünü cazip gösterme sayılabilir. Geleneksel ambalajlar, gıda maddelerinde istenmeyen bazı mikroorganizmaların gelişimi ile gıdaların sağlık açısından ve duyuşal yönden tüketilemez hale gelmesini engellemede yetersiz kalmaktadır (Quintavalla ve Vicini, 2002).

Gıda ambalajlamada çokça kullanılan plastikler petrol türevli malzemelerden üretilmektedir. Bu petrol türevi maddeler hem çevre kirliliğini hem de insan sağlığını olumsuz etkilediği bilinmektedir. 2012 yılında yılda toplam 1,3 milyar ton kentsel katı atık üretildi. Ancak 2025 yılına kadar yılda 2,2 milyar tona yükselmesi beklenmektedir (The World Bank, 2018). Yenilenemeyen, biyolojik olarak parçalanamayan ambalaj malzemelerinin ciddi çevresel dezavantajları vardır. Bu tarz ambalaj malzemeleri, tüketiciler ve çevre aktivistleri tarafından önemli bir katı atık ve çevre kirliliği kaynağı olarak kabul edilmektedir (Risch S.J., 2000; Ramos, 2013).

Petrol türevi maddelerin, gıda maddelerine migrasyonu ile gıdalarda bozunmalar hızlanır ve bu bozunmuş gıdaların sürekli tüketilmesi ile vücutta benzen türevleri maddelerin birikimine yol açar (Davis, G. ve Song, J.H., 2006). Özellikle peynir gibi yağlı gıdalarda plastik ile gıda arasındaki etkileşim daha güçlüdür. Gıdanın plastiğin yapısına işlenip difüze olmasıyla plastikte geçirgenlik artışı olur. Böylece plastikten de gıdaya daha fazla monomer geçişi gözlenir (Fiengbaum A., vd, 1993). Kullanılan çoğu plastik materyallerin gerekse işlenme biçimine bağlı olarak gerekse de plastiğin türüne bağlı olarak değişen kanserojen maddeler taşıdığı ve bu maddelerin de besine geçmesiyle insan sağlığını olumsuz etkilediği saptanmıştır (Yiğit V. ve Evranos O., 1978). Plastik filmler, bir veya birden fazla plastik materyalin farklı işlemlere tabi tutulması sonucu oluşmaktadır (Marsh K. ve Bugusu B. 2007). Plastikleştirici, stabilizer ve bisfenol A gibi ajanlar tüketici sağlığını riske etmesine rağmen üretim maliyetinin az olması ve fonksiyonel avantajlarından dolayı plastik

ambalajlar tercih edilmektedir. Gıda endüstrisinde en fazla tercih edilen sentetik ambalaj materyali polietilendir ve en ucuz sentetik polimerdir (Lopez-Rubio A. vd, 2004).

Geleneksel plastik ambalajlar günümüzde gıdayı taşıma ve tüketiciye ulaştırmada yetersiz kaldığından alternatif paketleme yöntemleri geliştirme ihtiyacı doğmuştur. Hem gıdanın içerisindeki besin değerini korumak hem de fiziksel olarak dış bütünlüğünü, rengini, kokusunu korumak için geleneksel ambalaj sistemleri geliştirilmiş, yeni ambalajlama teknikleri ortaya çıkmıştır (Quintavalla, S., ve Vicini, L., 2002).

Günümüz tüketicileri, değişen yaşam koşulları ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak ambalajların koruma özelliğinin yanında farklı özelliklere de gereksinim duymaya başlamıştır. Özellikle kadınların iş hayatında aktif görev almasıyla birlikte kısa sürede hazırlanan gıdalara ve pratik ambalajlara verilen önem artmıştır ve buna bağlı olarak da üretici ve tüketici istekleri doğrultusunda gıda ambalaj sektöründe yeni teknolojiler geliştirilmiştir.

Gıda ambalajı sektörü ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Yeni ve fonksiyonel ambalajlar üretilmeye devam edilmektedir. Bu çalışmaların hedefi ambalajın niteliğini arttırma, tüketiciye bilgi verme, pazarlama stratejisi açısından nitelikli hale getirilmektir (Dobrucka, R., 2013). Öncelikle ambalajlama yapılan ortamın dengelenmesi ile ortam değerlerinin stabil hale getirilmesi önemlidir. Yapılan bir araştırmada gıda maddesinin paketlenmesi yapılırken ortama gaz ilavesi ile ortamdaki gıdanın bozunma hızı azaltılmaya çalışılmıştır (Lavieri, N., ve Williams, S.K., 2014). Bu yöntem Modifiye Atmosferde Paketleme (MAP) denir (Fişekci, B., 2013). Bu yöntemin yüksek kalitede ürün sağlamanın yanı sıra; raf ömrünü arttırmak suretiyle ekonomik kayıpları azaltması, ürünlerin daha uzun mesafelere dağıtılmalarına olanak sağlaması ve dağıtım masraflarını azaltması, daha az kimyasal ajan kullanımını desteklemesi, dilimlenmiş ürünlerin ayırımını kolaylaştırması, kokusuz ve kullanışlı ambalajlamaya izin vermesi gibi birçok avantajları vardır. Ancak bunlar yapılırken de her gıda için ayrı ayrı gaz konsantrasyonunun oluşturması, pakette meydana gelen yırtılmalar ile gıdanın besin değerinin korunmayacağı da dezavantaj olarak sayılabilir (Stivertsvik, M., vd. 2002). Ayrıca modifiye atmosferde paketleme yönteminde gıda gaz ortamında paketlenmesine rağmen plastik veya ambalaj maddesi ile doğrudan temas halinde olduğundan plastikten ürüne ve üründen plastiğe madde migrasyonu engellenemez. Bu da hem gıdanın kalitesini düşürür hem de zamanla ambalaj maddesinde yıpranma ve solmalara neden olur (Fiengbaum A., vd. 1993,). Böylece yapılan çalışmalar ürünün niteliğini azaltmayacak, besin değerini düşürmeyecek hatta besin değerini arttıracak ambalajlama için en uygun yöntemi bulmak üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun neticesinde

gıdanın türüne göre farklı kompozitler olarak hazırlanabilen, gıdanın besin değerine negatif etki vermeyen ve hatta besin değerini arttıracak kaplama maddeleri ile gıdayı koruyabilen, plastik veya petrol ürünleri ile direkt temas halinde olmayan ya gıdanın direk içerisine ya da yüzeyine uygulanabilen antioksidan ve/veya antibakteriyel maddelerin kullanılması ile yenilebilir ambalajların üretilmesi ve kullanılması daha önemli hale gelmiştir (Karagöz S., ve Demirdöven A., 2017). Bu tip ambalajlama yöntemi, aktif ambalajlama olarak adlandırılmıştır (Üçüncü, M., 2011).

1.2. Aktif Ambalajlama

Gıda maddelerinin kalitesinin devamlılığının sağlanması yanında raf ömrünün de uzatılması için ambalaj materyalinde çeşitli modifikasyonların yapıldığı ambalajlama tipi olarak tanımlanan aktif ambalajlama, sürekli değişen tüketici talepleri ve piyasa eğilimleri doğrultusunda ortaya çıkan yenilikçi gıda ambalaj konseptlerinden bir tanesidir. Aktif ambalajlama, bozulma reaksiyonlarının hızının azaltılması ve gıdanın raf ömrünün uzatılması için ambalaj içindeki ortamın değiştirilmesiyle veya ürünü dış etkilerden korumada kullanılan ambalaj malzemesine emici-tutucu veya salıcı-yayıcı sistemlerle yeni özelliklerin kazandırılmasıdır (Quintavalla, S., ve Vicini, L., 2002).

Geleneksel ambalajlama yöntemlerinde gıdalar sadece dış etkenlere karşı korunmaktadır. Bu dış etmenler; ısı, ışık, nem, oksijen, basınç, enzimler, mikroorganizmalar ve böcekler olarak nitelendirilebilmektedir. Geleneksel ambalaj materyalleri gıdalarla mümkün olduğunca inert konumdadır. Bu yüzden geleneksel ambalaj ve gıda arasında etkileşimler kısıtlıdır. Son yirmi yılda tüketicilerin yaşam koşullarının değişmesi, yemek yapmaya ayrılan zamanın azalması, nakliye uzaklığının artması gibi etmenler aktif ambalaj sistemlerini bir ihtiyaç haline getirmiştir. Bununla beraber artan sağlık sorunları ile tüketici, gıda içerisinde veya yüzeyinde sentetik katkı maddesi kullanılmasını istememektedir. Ayrıca tüketiciler, tat ve aroma bakımından tazeye en yakın ürün tercih ederek ve ürünlerin raf ömrünün fazla olmasını beklemektedir (Üçüncü, M., 2011).

Geleneksel ambalaj materyalleri, günümüz tüketicilerinin istek ve ihtiyaçlarını karşılayamamaktadır. Aktif ambalajlama ise normal ambalaj materyalleri dışında gıdayı mikrobiyolojik ve oksidatif bozunmalardan koruyan, besin değerini arttıran, organik materyallerden sentezlenmiş moleküllerin gıdaya temas etmesiyle veya gıdanın içeriğine katılmasıyla elde edilir (Restuccia D., vd., 2010). Aktif ambalajlar organik kaynaklı olduklarından ürün ile beraber de tüketilmektedir. Gıdanın türüne göre, gıdanın içerisindeki

besin değerinin korunması ve bozunmasını önleyici maddelerin seçimi önemlidir. Aktif ambalajlar gıdaya temas halindedirler. Bu nedenle gıdanın hem fiziksel ve mekanik etkilerden korunması için hem de ilgi çekici ve ürünü ön plana çıkarabilecek pazarlanmasını sağlayacak geleneksel bir ambalaj ile sarılması gerekmektedir Böylece ürün dış etkilerden korunurken içeriği değişmeden tüketiciye ulaşma imkânı artar (Özdemir M. ve Floros JD. 2004).

Gıdanın şekil, renk veya tadında bozulma meydana gelmesinin çeşitli sebepleri vardır ancak en sık rastlanılan oksidasyon ile gıdaların bozulmasıdır. Buna engel olmak için oksijen tutucu ajanlar veya bu ajanlara sahip filmler ile temas eden tüm yüzeylerde, kaplama sonrası ortamda kalan oksijeni absorbe etmesi sağlanarak gıdalarda beklenmeyen farklı tatları ve mikrobiyal üremeyi engellemektedir (Özdemir M. ve Floros JD. 2004). Aktif ambalajlama sistemleri korunacak olan gıdanın nitelik özelliklerine bağlı olarak farklı çözümler sunmaktadır. Örneğin ürününün oksidasyonunun yavaşlatılması gerekiyorsa, ambalaj ortamında oksijen tutucu ya da antioksidan içeren aktif sistemler kullanılırken, ortamda nemi azaltmak gerekiyorsa ambalaj ortamına bir nem emici ilave edilmektedir (Pereira De Abreu, D.A., vd., 2012).

1.3. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Gıdalar üretim, depolama ve nakliye sırasında çeşitli etkenler nedeniyle bozulmaktadır. Kalite kayıplarının önlenmesi ve gıda bütünlüğünün sağlanmasına yönelik çeşitli ambalajlar kullanılmaktadır. Genellikle ambalajlar sentetik plastiklerden üretilmektedir ancak son zamanlarda çevre kirliliği ve gıda ile istenmeyen etkileşimler nedeniyle, sentetik ambalajların yerine yenilebilir ambalajlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Yenilebilir filmler ve kaplamalar (YFK) fiziksel, kimyasal ve biyolojik bozulmalardan koruyarak gıda ürünlerinin kalitesini geliştirirler. Yenilebilir filmler ve kaplamalar genellikle yağlara, gazlara veya buharlara karşı engelleyiciler olarak ve antioksidanlar ve antimikrobiyaller gibi aktif maddelerin taşıyıcısı olarak görev yaparlar. Yenilebilir film ve kaplamalar farklı kaynaklardan elde edilen çeşitli karbonhidrat, yağ ve proteinlerin taşıyıcı polimer olarak kullanıldığı materyallerdir (Uçan, F., ve Mercimek, H.A. 2013).

YFK çok yeni bir uygulama olmamakla birlikte, son dönemlerde gittikçe önem kazanmıştır. İlk uygulama olarak Çin’de nem kaybını azaltmak için limon ve portakallar mumla kaplanmıştır. Avrupa’da 16. yüzyılda aynı amaçla etlerin yüzeyi yağla kaplanmış, 19.yüzyılda ise jelatin bazlı kaplamaların kullanımına başlanılmıştır (Uçan, F., ve Mercimek,

H.A. 2013). Nüfusun artmasıyla beraber zirai alanların ve gıda kaynaklarının sınırlı olması, üretilen gıda ürünlerinin ambalajlanmasını ve daha dayanıklı hale getirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Özellikle çalışan insan sayısının artması ile hazır gıda sektörünün hızla gelişmesi, pratik ve fonksiyonel ambalaj malzemelerinin kullanımının artmasına sebep olmuştur (Temiz H., ve Yeşilsu, A.F. 2006., Kılınççeker O., vd. 2009)

Yenilebilir filmler, organik biyopolimer bazlı materyallerdir. Bu ince yapılı materyaller, gıdaların yüzeyine kaplama şeklinde uygulanarak gıdanın dış etkilere karşı korunması amacıyla kullanılmaktadır (Sobral, P.J.A., vd 2001., Galus, S., 2012). Petrokimyasal ambalaj materyalleri biyobozunur bir yapıya sahip olmamalarından dolayı doğada ayrışamazken organik biyopolimerlerden üretilen yenilebilir film ve kaplamalar doğada ayrışabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı, yenilebilir film ve kaplamalar doğa dostu ambalaj materyali olarak son zamanlarda yoğun talep görmektedir. Bunun yanı sıra, mekanik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilebilmesi yenilebilir film ve kaplamaların alternatif bir ambalaj materyali olarak kullanımını mümkün kılabilir (Lee, H., ve Min, S.C. 2014).

Yenilebilir film ve kaplamalar gıda kökenli mikroorganizmaların neden olduğu mikrobiyolojik bozunmalarla mücadele edebilmektedir. Yenilebilir film ve kaplamaların yapılarına katılabilen antimikrobiyal maddeler sayesinde gıdaların bozulması kontrol altına alınabilmektedir. Ayrıca yenilebilir film ve kaplamaların antimikrobiyal maddeleri içeren çözeltilere daldırılması veya bu maddelerin film veya kaplama yüzeyine doğrudan püskürtülmesi gibi yöntemlerle de mikrobiyolojik kontaminasyon engellenebilmektedir. (Temiz H., ve Yeşilsu, A.F. 2006., Lee, H., ve Min, S.C. 2014). Yenilebilir filmler, gıdalardan ayrı olarak işlenen ve daha sonra gıdaların ambalajlanmasında kullanılan materyallerdir. Yenilebilir kaplamalar ise doğrudan gıda üzerine uygulanan ince tabakalı yenilebilir materyallerdir. Bir başka deyişle de yenilebilir kaplama, bir gıda üzerinde oluşmuş ince tabaka halindeki materyal olarak ifade edilirken; yenilebilir film ise gıda bileşenleri ya da gıda üzerine uygulanmak üzere önceden hazırlanmış, ince ve yenilebilir materyal olarak da açıklanabilir (Aldemir Ö. 2013).

Gıdaların nitelik özellikleri de yenilebilir ambalajlar ile geliştirilebilmektedir. Gıdanın rengini ve parlaklığını daha iyi tutabilme, sertlik ve yapışkanlık özelliklerinin stabil halde kalmasını sağlamak için de ambalajlama kullanılabilir. Filmin fonksiyonel olarak etkinliği, filmin komponentlerinin yapısına ve filmin içeriğine bağlı olarak değişmektedir (Debeaufort, F., vd., 1998). Yenilebilir film ve kaplamaların uygulanması çok çeşitli tekniklerle olabilmektedir. Ürünün türüne göre uygun kaplama yöntemi de

değişmektedir. Yıldız ve Yangılar (2016)' in yaptığı derleme çalışmasına göre bunlar;

1. Daldırma metodu, gıda maddesinin film çözeltilisine daldırılması, süzülmesi ve film oluşumunun sağlanması yöntemidir. Et, balık ve tavuk etlerine asetil gliseritlerin, meyve ve sebzelere mumların uygulanması için önerilmektedir.

2. Püskürtme metodu, daha ince, düzgün ve homojen film oluşturulmasında tercih edilmektedir. Sosla kaplanacak olan pizza tabanları gibi, sadece tek yüzeyinde koruma sağlanacak maddeler için uygun bir yöntemdir.

3. Dökme metodu, hazırlanan film çözeltilisinin uygun bir şekilde yüzeye dökülerek kurutulması ve daha sonra soğutulması ile gıdanın kaplanması yöntemidir.

4. Boyama Metodu: Akışkan formundaki kaplama solüsyonunun fırça yardımıyla boyama yapılarak ürünün üzerinin kaplanması ile gerçekleştirilen metotlar olarak sıralanabilir (Oğuzhan Yıldız P., ve Yangılar F., 2016.).

Yenilebilir film ve kaplamaların normal ambalaj materyallerine göre bazı avantajları mevcuttur. Gıda ile birlikte tüketilmekte ya da organik yapıda olduklarından doğada kirliliğe sebep olmamakta, heterojen gıdalarda farklı tabakalar arasına uygulanabilmekte, uygulandıkları gıda maddesinin organik yapısını bozmamakta, gıdaların besin değerini arttırıcı etki göstermektedir (Gennadios A., ve Weller C. L. 1991.). Ancak her ürün için farklı proses hazırlanması, uygulanacak gıda materyali sayısının az olması ve maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları da vardır (Işık H., vd., 2013).

Yenilebilir film ve kaplamalar, yapısal maddeleri baz alınarak lipit, protein, polisakkarit veya bu üçünün farklı kombinasyonlarından meydana gelen biyopolimerler olmak üzere dört grupta sınıflandırılabilirler (Varela P., ve Fiszman SM., 2011) Birçok polisakarit, triaçil ve protein tek başına veya bir karışım halinde komponent oluşturularak yenilebilir film ve kaplamalarının üretiminde kullanılmaktadır (Şekil 1.1). Polisakkarit bazlı yenilebilir filmlerin üretiminde nişasta, selüloz, aljinat, pektin ve kitosan kullanılmaktadır (Dhanapal A., vd. 2012). Yenilebilir film ve kaplamaların fonksiyonel özellikleri; gıda maddelerinin yapısal bütünlüğünün mekanik darbelere karşı korunması, oksijen ve karbondioksit gibi gazların transferlerinin yavaşlatılması, içerisine lezzet, renk, tat maddelerinin eklenerek, gıdaların organoleptik özelliklerini arttırması, antimikrobiyal ve antioksidan maddeler için taşıyıcı yüzey olarak kullanılması, heterojen gıdalarda farklı tabakalar arasına uygulanabilmesi, özellikle proteinden yapılan filmlerin gıdaların beslenme değerlerini desteklemesi olarak sayılabilir (Yılmaz L, vd. 2007). Ana malzemelere ek olarak,

yenilebilir filmlerin üretiminde çözücüler, plastikleştiriciler, emülgatörler, antioksidanlar ve antimikrobiyal ajanlar kullanılabilir. Yenilebilir filmler, ürünün depolama stabilitesini daha da arttırmak için antimikrobiyal aktivite sergileyen bitki özleri ile desteklenebilmektedir (Janjarasskul, T., Krochta, J.M., 2010).



Şekil 1.1: Yenilebilir film ve kaplamaların oluşumunda kullanılan biyomateryaller (Parreidt TS., vd. 2018).

Ayrıca, yenilebilir ambalaj kullanımına yönelik hızla artan ilgi, raf ömrünü uzatan ve yenilebilir bariyerli gıdaların kalitesini artırma eğilimi gösteren, asgari düzeyde işlenmiş taze benzeri gıdalara yönelik tüketicilerin artan ilgisiyle de ilişkilendirilebilmektedir (Diab T., vd. 2001).

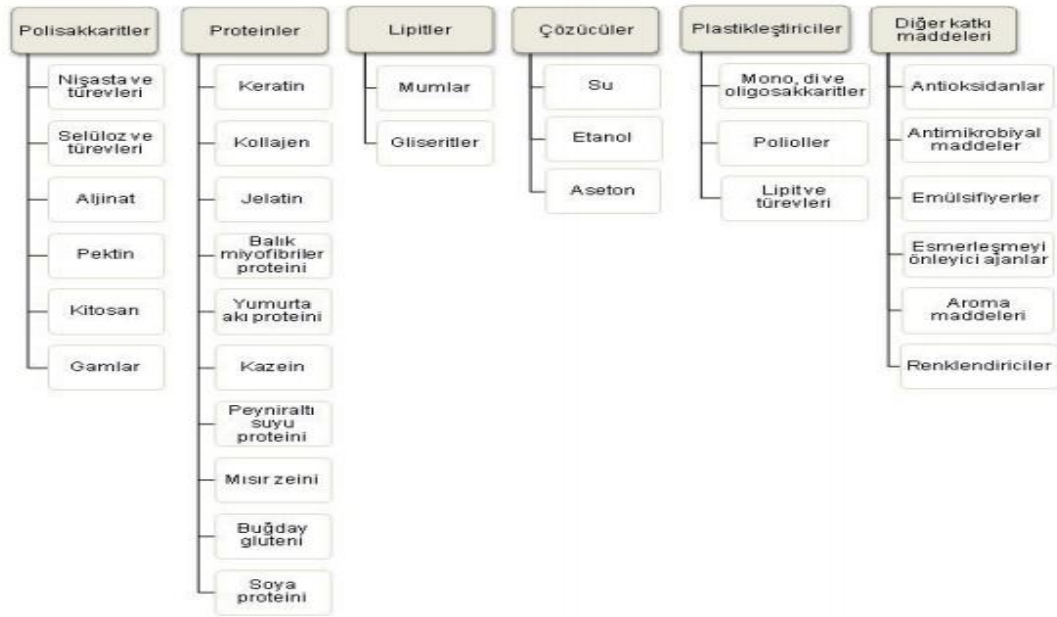
1.4. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Maddeler

Yenilebilir kaplamalara ve filmlere antimikrobiyal ve antioksidan ajanların eklenmesi, ajanların aşamalı olarak serbest bırakılması ve uzun bir süre boyunca kritik bir konsantrasyonun sürdürülmesi, gıdaların depolama aşamasında önemli olmaktadır (Appendini P. ve Hotchkiss J.H., 2002).

Organik kaynaklı birçok polisakkarit, lipit ve protein tek başına veya birbirleriyle karışım halinde yenilebilir film üretiminde kullanılmaktadır. Film hazırlamada kullanılan lipit, protein ve polisakkaritin yapısal özellikleri farklılık gösterdiğinden hem film üzerine

etkileri farklıdır hem de her oluşturulacak filmin gıda üzerine etkisi çeşitlilik gösterir. (Paylath, AE. ve Orts W., 2009).

Genel bir kural olarak, lipitler su transferini azaltmak, polisakkaritler oksijen ve diğer gazların geçişini kontrol etmek, proteinler ise filmlere mekanik dayanıklılık kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Polisakkarit, lipit ve proteinin dışında; çözücü, plastikleştirici, emülsüfyer, antioksidan ve antimikrobiyal ajanlardan da yararlanılmaktadır (Üstünol Z. 2009). Şekil 1.2’de yenilebilir film ve kaplamaların yapımında kullanılan materyaller sınıflandırılıp şematize edilmiştir (Tural S. vd., 2017).



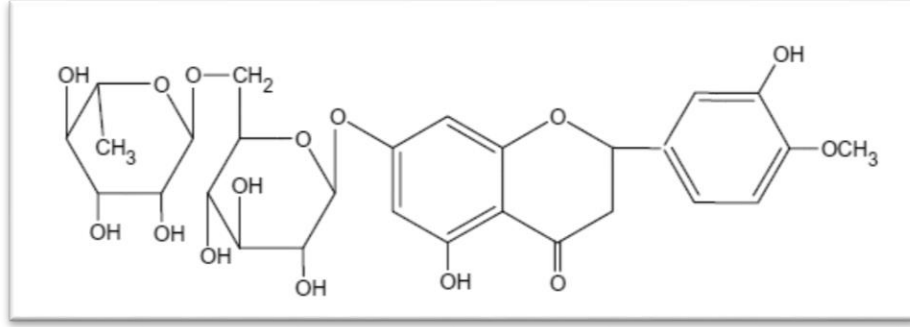
Şekil 1.2: Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan materyaller (Tural S. Vd., 2017)

Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan materyaller organik olabileceği gibi sentezlenip de kullanılabilir. Örneğin antioksidan olarak doğal antioksidanlardan; retinol, tokoferol, askorbik asit, flavonoid, polifenoller, karotenoidler, kullanılabilir gibi yapay olarak sentezlenen; bütillenmiş hidroksianisol (BH), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbütül hidrokinon (TBH), propilgallat (PG), gibi maddeler de antioksidan olarak kullanılabilir (Salık Y. 2019).

1.4.1. Hesperidin

Hesperidin, limon ve portakal meyvesinin kabuğunda ve zarlarında bol miktarda bulunan, tanımlanmış 4000’den fazla flavonoidden biridir (Hollman, P.C.H. ve Katan, M.B. 1997). Hesperidin, suda az çözünen katı bir maddedir. Molekül formülü, $C_{28}H_{34}O_{15}$ ’ dir ve molekül ağırlığı 610.57 daltondur. Hesperidin, antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-allerjik,

damar koruyucu ve anti-karsinojenik etkiye sahiptir (Erlund, I. vd., 2001). Hesperidinin kimyasal yapısı Şekil 1.3’de gösterilmiştir (Abeyasinghe, D.C vd., 2007).

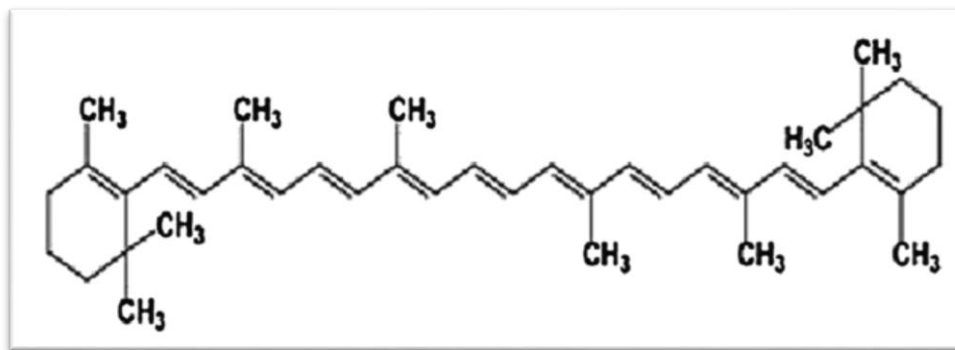


Şekil 1.3: Hesperidinin kimyasal yapısı (Abeyasinghe, D.C vd., 2007).

1.4.2. β- Karoten

Beta karoten, açık sarı veya turuncu renkte bir pigment maddesi olup Provitamin A olarak da adlandırılır (Şekil 1.4). Beta karoten bağırsak epitel hücrelerinde A vitamini dönüştürülmekte ve karaciğerde palmitat esteri olarak depolanmaktadır. Kimyasal olarak karotenoid yapısında ve terpenoidler içerisinde yer alan beta karoten genellikle havuç ve hemen hemen yeşil yapraklı tüm bitkilerde bulunmaktadır (Miura vd., 1998).

Beta karoten; fotosentez sırasında zararlı ışığa karşı fotokoruma, antioksidan, kansere karşı koruma, immün cevabı artırma, tümör elişimini inhibe etme gibi özelliklere sahip olduğu yapılan araştırmalar ile belirtilmektedir. Ayrıca bazı peynir ürünleri ve margarinlerin yapısına katılmaktadır (Girard vd., 1994).



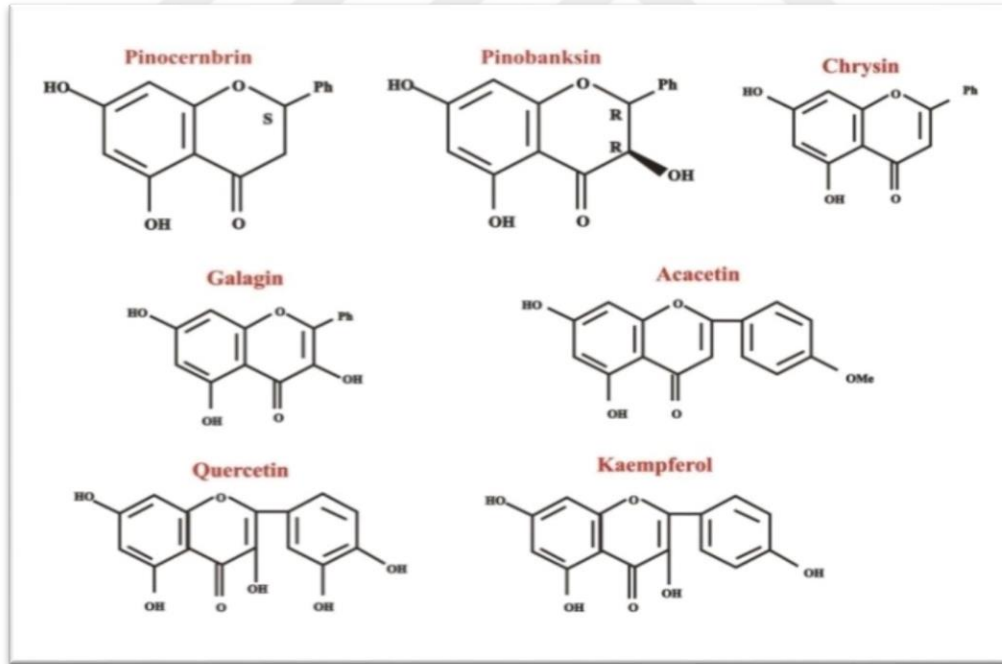
Şekil 1.4: β- Karoten’in kimyasal yapısı (Mata-Gomez LC., vd. 2014)

1.4.3. Propolis

Propolis arıların bitkilerin bazı kısımlarından, bitki tomurcuklarından ve bitkilerin salgularından toplayarak oluşturdukları doğal reçinemsî bir maddedir (Ghisalberti, E.L.

1979). Kendine has aromatik bir kokuya sahiptir. Kaynağına ve olgunlaşmasına göre çeşitlenen farklı tonda renkleri mevcuttur (Brown, R. 1989). Oldukça karmaşık bir kimyasal yapıya sahip olan propoliste bugüne kadar 300'den fazla farklı bileşik tespit edilmiştir (Şekil 1.5). Kimyasal kompozisyonu %30 mum, %45 reçine, %10 temel yağlar, %5 polen ve %5-10 diğer organik bileşenler şeklindedir (Yucel, B., vd., 2017).

Propolisin antioksidan aktivitesi üzerine literatürde geniş kapsamlı bilgi mevcuttur ve halen araştırılmaya devam etmektedir. Propolisin yüksek antioksidatif aktivitesi sayesinde gıda sanayisinde oksidasyonu önlemede ve besleyici bir katkı maddesi olarak kullanılabilceği saptanmıştır (Katalinić, V., vd., 2004). Ayrıca yapılan çalışmalarda propolisin su aktivitesi, pH dengeleme, renk koruma, gıdaların ağırlık kaybını önleme, mikrobiyal bozunmayı engelleme gibi fonksiyonları belirlenmiştir (Bernardi, S., vd., 2013). Propolis içerisinde çok sayıda yararlı bileşen bulundurur. Khurshid Z. ve arkadaşlarının 2017'de yaptığı çalışmada bazıları tespit edilmiştir. Ayrıca henüz tanımlanamayan olası daha fazla potansiyele sahip olduğu, insan sağlığı açısından da yararlı olduğu belirtilmiştir (Khurshid Z. vd. 2017).



Şekil 1.5: Propolis içerisinde bulunan bazı bileşenler (Khurshid Z. vd., 2017).

1.5. Gıda Kaynaklı Patojenler

Gıda kaynaklı infeksiyon ve toksin oluşumlarına neden olan çok sayıda bakteri bulunmakla birlikte, en önemlileri ve en sık karşılaşılanları *Salmomella spp.*, *Campylobacter*

spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium spp.*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio spp.*, *Brucella spp.*, ve *Aeromonas spp.* olarak bilinmektedir (Carrique-Mas ve Bryant 2013). Peynir üzerine yapılan araştırmalarda ise *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, maya ve küflerin daha etkili olduğu saptanmıştır. Peynire işlenecek sütlerde ise *S. aureus*, *Salmonella* türleri, *E. coli*, *Brucella* türleri ve *Mycobacterium tuberculosis* gibi fazla miktarda ve değişik türlerde bakteriler bulunabilmektedir. Bu bakteriler, peynirin karakteristik özelliklerini değiştirebildikleri gibi tüketilmesi sonucunda zehirlenmelere ve hastalıklara da neden olabilirler. Bu nedenle süt işleme aşamasında pastörize işlemi, patojenleri ortadan kaldırmak için önemli bir aşama olarak belirtilmiştir (Pınar K. 2011).

1.5.1. *Staphylococcus aureus*

Micrococcaceae familyasından olan *Staphylococcus* türleri Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, hareketsiz bakterilerdir. *Staphylococcus aureus*'un da dahil olduğu pek çok stafilokok türü, insanların üst solunum yollarında ve derilerinde doğal olarak bulunurlar. Stafilokoklar hem hastane enfeksiyonlarında hem de gıda sektöründe salgın yapabilme özellikleri bulunduğundan halk sağlığı açısından önemli mikroorganizmalardır. Uygun olmayan şartlarda üretilen süt ve süt ürünleri gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonlara neden olan riskli gıda grupları arasında yer almaktadır. Bu zehirlenmeler ortama salınan proteinin yapısında, yüksek toksisiteli, bağırsak bölgesi ve sinir sistemi üzerine etkili olan enterotoksinler ile meydana gelmektedir (Bergdoll MS., 1989).

S. aureus çiğ sütte bulunan en önemli mikroorganizmalardan birisi olup, insan ve hayvanlar üzerindeki patojenitesi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır, ayrıca ülkemizde süt ve süt ürünlerinin üretimi oldukça yüksek olup bu ürünlerin çoğu küçük işletmelerde, mandıralarda kontrolsüz olarak üretilmektedir (Güven K., vd., 2010). Peynirin mikroflorasının yapımı sırasında kullanılan süt, peynirin olgunlaşma süresine bağlı olarak değiştiği de bilinmektedir. Özellikle çiğ süttten elde edilen peynirler halk sağlığı açısından büyük riskler oluştırmaktadırlar. Bu üretim koşullarından dolayı süt ve süt ürünleri kaynaklı enfeksiyon ve gıda zehirlenmelerinin riski artmaktadır (Perreira V., vd., 2009).

1.5.2. *Escherichia coli*

E. coli, *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram (-), basit büyüme ortamlarında kültürü yapılabilen, kokobasil şeklinde fakültatif anaerob bir bakteridir. *E.coli* spor oluşturmaz, fimbriaları ile tutunan ve peritratif flagellası ile hareket eden bir bakteridir

(Cruickshank, R vd., 1973). *E. coli*'nin koloni şekli kokobasil ve yüzeyi düz olmasına rağmen bazı suşlar mukoid koloniler oluşturur (Macone vd., 1981).

Halk sağlığı için risk teşkil eden peynir kaynaklı zehirlenmelerin en önemli nedeni olarak *E.coli* gösterilmektedir. Gıdalarda saptanması, saptanma miktarı, halk sağlığı yönünden önem arz eden enteropatojenik veya toksikonejik *E. coli* bulunma ihtimali açısından, fekal kontaminasyonu gösterme açısından indikatör bir mikroorganizma olarak kabul edilir (Pamela L. Vd., 2008).

1.6. Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Antimikrobiyal aktivite testleri, antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu düşünülen bir maddenin ne derece ve hangi mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğunu tespit etmeye yarayan testlerin bütünüdür. Antimikrobiyal aktivite testleri;

1. Disk difüzyon testleri
2. Dilüsyon testleri
 - 2.1. Agar dilüsyon testleri
 - 2.2. Broth dilüsyon testleri
 - a. Makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemi
 - b. Mikrodilüsyon testleri
3. Gradient strip testleri (E-test)
4. Otomatize yöntemler
5. Moleküler yöntemler olarak sınıflandırmıştır.

Bu testlerde önemli olan hangi madde için hangi testin kullanılmasıdır. Uygulanacak madde ve mikroorganizma için farklı yöntemler denenmiş ve optimize edilmiştir (Yasemin S., 2019).

Antimikrobiyal maddelerin gıda ambalajlarındaki etkilerinin tespit edilmesine yönelik farklı in vitro test metotları kullanılmaktadır. Bu testler, öncelikle uygulanacak antimikrobiyal maddenin tespitine yönelik olup, antimikrobiyal madde tespitinden sonra yenilenebilir filmlere uygulanacak optimum antimikrobiyal madde dozunun belirlenmesi hedeflenmektedir. In vitro şartlarda tespit edilen bu veriler antimikrobiyal etkinin gıda ambalajlamasında değerlendirilmesinde yetersiz olmaktadır. Bu sebeple gıda örneklerinde yapay mikrobiyal kontaminasyonlar yapılarak gerçek şartları yansıtan denemelerin yapılması antimikrobiyal etkiyi tespit etmek açısından önemlidir.

1.7. Beyaz Peynirlerin Üretilmesi ve Ambalajlanması

Beyaz peynir insanlar için vazgeçilmez bir besin kaynağıdır. İçerdiği besin değerleri sayesinde ise pek çok faydası bulunmaktadır. Yoğun olarak tüketilmesi doğrultusunda bu peynirlerin üretiminin hijyenik koşullarda olması da oldukça önemlidir. Üretimin ilk aşamasından tüketime kadar tüm aşamalarda hijyen koşullara uymak çok önemlidir. Hijyenik koşullar sağlanmadığı takdirde peynirde bulunan faydalı mikroorganizmaların haricinde dış ortamdaki zararlı mikroorganizmalar da peynire geçebilir. Peynir üretimi birkaç aşamada yapılır. Bu nedenle mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için tüm iç ve dış faktörlerin sıkı bir şekilde her aşamada kontrol edilmesi gerekmektedir (Pal M. Vd., 2016).

Peynir sektöründe en önemli problemlerden biri, depolama sırasında mikrobiyal bozunmadır (Garnier L. Vd., 2017). Antimikrobiyal gıda paketleme sistemleri mikroorganizmaların üremesini engeller, mikrobiyal bozulmayı azaltır ve mikrobiyal kaliteyi korur. Günümüzde peynirler genellikle biyolojik olarak parçalanamayan ve önemli bir çevre problemine sebep olan plastik ambalajlarla paketlenmektedir (Parreidt T.Ş., vd., 2018).

Dünya nüfusu hızla artmakta ancak bunu karşılayacak yeterli gıda üretimi sağlanamamaktadır. Gıdaların korunması da üretimi kadar önemlidir. Bu amaçla çeşitli ambalaj materyalleri kullanılabilen ancak bunlardan bir kısmı çevre kirliliğine neden olabilmektedir. Tüketicinin mikrobiyolojik bakımdan güvenli, pratik ve uzun raf ömürlü gıdaya artan talebi doğrultusunda, gıda endüstrisinde enzimatik ve bakteriyel bozulmanın geciktirilmesi ile gıda güvenliğinin sağlanması için farklı muhafaza ve ambalaj teknikleri kullanılmaktadır. Şu anda ambalajlama üzerinde en çok çalışma yapılan konu yenilebilir film ve kaplamalardır. Ambalajlama sistemindeki temel endişe kimyasal bileşik kaplamalar kullandığında gıdaya kanserojen etki katmasıdır. Yenilebilir film ve kaplamalar kullanarak hem bu olumsuz durum ortadan kaldırılacak hem de gıdaların raf ömürlerinin artması ve tat içeriğinin bozulmaması sağlanacaktır (Sarıküş G., 2006).

Bu çalışmada, ayrı ayrı β -karoten, hesperidin, propolis ve propolisin β -karoten ve hesperidin ile karışımlarından hazırlanmış yenilebilir selülozik filmlerin önemli gıda patojenlerinden olan *Staphylococcus aureus*'a ve *Escherichia coli*'ye karşı etkileri doğrudan yapay kontamine gıda örnekleri ile buzdolabı sıcaklığında muhafaza şartları altında değerlendirilmiştir. Yapay kontaminasyon için yarı sert geleneksel Türk peynirlerinden olan taze beyaz peynir örnekleri kullanılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Gıda raf ömrü, ambalaj için uygun malzemeler kullanılarak uzatılabilir. Ambalajlı gıda ürünlerinin bozulması, esas olarak ambalajlı gıda maddelerinin dış atmosferi ve iç ortamı arasında meydana gelebilecek etkileşimler sonucu oluşmaktadır (H. Muostafa vd. 2019). Biyopolimerler kullanılarak oluşturulan ambalaj malzemeleri, oksijen ve su buharı geçirgenliğini ve lipit transferini azaltabilmektedir (A.M. Youssef vd., 2018).

Bitki özü içeren yenilebilir filmler ise gıda bozulmalarına neden olan patojenlerin üremesini ve nem kaynaklı oksidasyonu önleyerek gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatabilmektedir (N.A Al-Tayyar vd., 2020). Ayrıca, antimikrobiyal ve antioksidan ajanları içeren aktif yenilebilir filmlerin kullanılması, gıda maddelerinin raf ömrünü arttırmak için yeni bir metodolojiyi göstermektedir (V. Sirocchi vd., 2017).

Aktif gıda ambalajlarında fenolikler, karotenoidler ve flavonoid bileşikler gibi antioksidan kompozitlerin kullanılmasıyla gıda güvenliği sağlanmaktadır. Genel olarak, biyobozunur nitelikteki biyoaktif ambalaj malzemeleri gıda kalitesinin sürdürülmesinde önemli bir yer teşkil etmektedir. Selülozik filmler, aktif film grubunda yer alan ambalaj için uygun bir malzemedir (Sayanjali S. vd., 2011). Peynir, kimyasal, biyolojik ve bakteriyolojik süreçler sonucu oluşan bir süt ürünüdür (S.M. El-Sayed 2020). Sert peynirler, belirli bir tada ve aromaya sahip büyük bir peynir grubudur (S. El-Shibiny vd., 2020). Bakteriler, maya ve küfler dahil olmak üzere mikroorganizmalar olgunlaşma boyunca peynirde bulunmaktadır. Bazıları olgunlaşmaya olumlu bir şekilde katkıda bulunur (T. Bresford ve A. Williams. 2004). Ancak bozulmaya neden olabilir veya peynirin kalitesini düşüren istenmeyen aromalar, tatlar veya diğer metabolik ürünler üretebilirler. Ayrıca, mikotoksin üretimi potansiyellerine bağlı olarak halk sağlığını tehdit edebilirler. Antimikrobiyal yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıda maddelerinin bozulmasını önleme ve depolama sırasında antimikrobiallerin gıda yüzeyi üzerinde yayılmasını ve salınmasını kontrol ederek patojenlerin büyüme riskini azaltabilmektedir (Golfo M. Vd., 2015). Gıda yüzeyinde oluşan mikrobiyal büyüme ve oksidasyon reaksiyonları, taze ve işlenmiş katı gıda ürünlerinin bozulmasının ve kaybının ana nedenlerinden ikisidir.

Raf ömrünü uzatmak için, peynir de dahil olmak üzere çoğu gıda türüne, gerekli oranda (gıda katkı maddeleri hakkındaki mevzuatla) bazı koruyucu maddeler yaygın olarak eklenmektedir (Yangılar F. ve Yıldız P.O 2016).

Ambalajlama zaman içerisinde farklı gelişmeler göstermiş tüketicinin beklentisini karşılamak üzere geliştirilmiştir. Tüketicilerin gelirlerindeki artış, yaş profillerinin değişmesi ve sosyo-ekonomik gelişmeler gıdalarda beklentilerin artmasına ve değişmesine neden olmaktadır (Jensen H. H., 2006). Bununla birlikte tüketiciler gıdanın geçmişi ve kalitesi hakkında daha fazla bilgi veren ambalajları tercih etmektedirler (Robertson G. L., 2006). İşte, bu beklentileri karşılamak amacıyla, gıda ve ambalaj endüstrisi yüksek basınç, ışınlama, gen teknolojileri ve nanoteknoloji gibi yeni yaklaşımlara başvurmaktadır. Ambalajlama endüstrisi aktif ve akıllı ambalajlama gibi yeni teknolojilerle tüketici isteklerini yerine getirmeye çalışmaktadır. Geliştirilen yöntemler tüm tüketicilerde aynı etkiyi göstermemekte, bazı kesimler için ürünü arttırıcı etki gösterirken bazı kesimler ise gelişen teknolojiye korku ve güvensizlikle yaklaşmaktadır (Behrens J. H., vd., 2009).

Junqueira-Gonçalves ve arkadaşlarının 2011 yılında 497 kişi üzerinde yaptığı çalışmaya göre tüketicilerin %46'sı besinlere uygulanan ışınlama yönteminin gıdayı radyoaktif yaptığını öne sürmektedir (Junqueira Gonçalves M. P., vd., 2011). Gunes ve Deniz'in 2006 yılında Türkiye'de yaptığı çalışmaya göre ise tüketicilerin %80'i ışınlanmış gıdalar konusunda endişeli olduklarını belirtmişlerdir (Gunes G., ve Deniz Tekin M., 2006).

Gıdaların daha uzun ömürlü, besin değeri yüksek ve dayanıklı olmasını sağlayan genetik çalışmalar da tüketiciler tarafından endişeyle karşılanmaktadır (Ronteltap A., vd., 2007). 2013 yılında Türkiye'de 1222 kişi üzerinde yapılan bir çalışmaya göre tüketiciler doğal ürün istediklerini ve genetik modifikasyona karşı olduklarını belirtmişlerdir (Kaya H. I., 2013). Birçok tüketicinin endişeyle karşıladığı gıda sektörü ile ilgili durum da gıda maddelerinin plastik malzemelerle ambalajlanmasıdır. Kullanılan plastik ambalajların hem çevresel hem de sağlık açısından sebep oldukları sorunlardan dolayı yeni yaklaşımlar günümüzde olumlu karşılanmaya başlanmış ve alternatif ambalajlama sistemlerinin önü açılmıştır (Petersen, K., vd., 1999).

Laroche ve arkadaşlarının 2001'de yaptığı çalışmada, tüketicilerin çevreyi korumak için sadece ambalajın geri dönüştürülebilir maddeden yapıp yapılmadığına dikkat ederken (Laroche M., vd., 2001), Rashid'in 2009'da yaptığı çalışmada ise tüketicilerin artık ürün tercihi yaparken eko-etiketlere bakarak alışveriş yaptığının önemini belirtmiştir (Rashid N. A., 2009). Yener'in 2014 yılında yaptığı tez çalışmasına göre insanların yeni nesil ambalajlama metotlarına karşı tutumlarının farklı olduğunu belirtilirken ancak yeni nesil ambalajların gün geçtikçe tüketiciler tarafından tanındığı ve tüketicilerin bu tarz ambalajlama yöntemlerine daha olumlu yaklaştığı belirtilmiştir (Yener U., 2004).

Çetinkaya ve diğerlerinin (2005) yaptığı çalışmaya göre; kaşar peynirleri ince kesitler halinde alınıp üzerine balmumu ilavesi yapmışlar. 3. 6. 10. ve 13. gün bekletilerek 10-12°C'de inkübasyon ile kontrol grubu ile karşılaştırmışlar. Balmumu ile kaplanmış örneklerin duyuşal özellikleri 7.günden itibaren olumlu geliştiğini rapor etmişlerdir. (Çetinkaya F., ve Soyutemiz E. G. 2005).

Özdemir ve Demirci (2006) yaptıkları çalışmada; kaşar peynirleri 90 günlük olgunlaştırma süresinde gözlem altına alınıp, bu süre boyunca kaşar peyniri üzerindeki mikrobiyolojik değişimleri araştırmışlardır. 90 günlük olgunlaştırma aşamasında küflenmesini önlemek amacıyla daldırma, spreyleme, katı halde serpmeye gibi yöntemlerle potasyum sorbat içeren film uygulamışlar ve küf sayısının kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir. Ayrıca potasyum sorbat katı halde uygulandığında diğer yöntemlere oranla küf miktarını daha fazla inhibe ettiğini raporlanmıştır (Özdemir C., ve Demirci M. 2006).

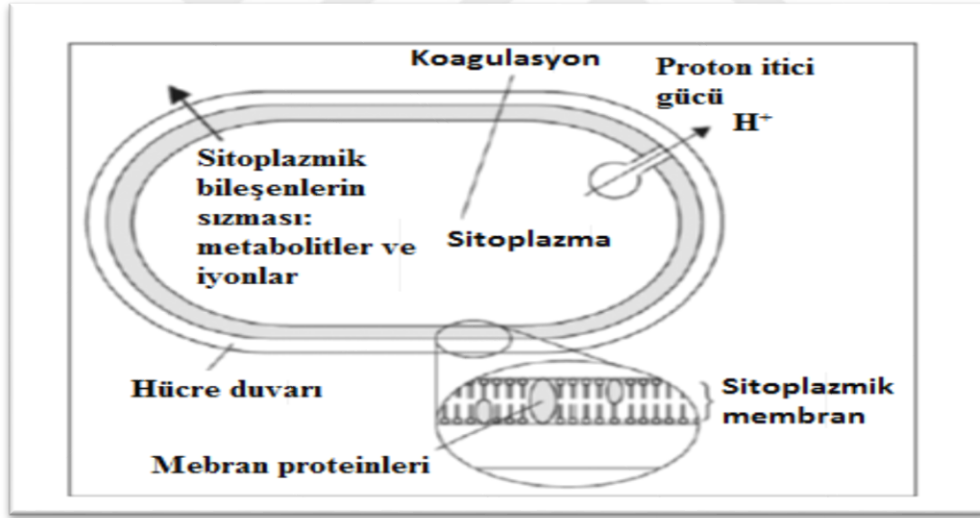
Sarıkuş (2006) tarafından yürütölen bir çalışmada, peynir altı suyu proteini izole edilerek kekik biberiye ve sarımsak katkılı filmler üretmiş, üretilen bu filmler kaşar peynirine uygulanmış ve üretilen filmlerin gerilme kuvveti % uzama gibi fiziksel özellikleri ile *L. plantarum*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *S. enteritidis* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. Gerilme kuvveti ve % uzamanın örnekler üzerinde aynı etkileri gösterdiği raporlanmıştır. Gerilme kuvvetleri sırasıyla en yüksek biberiye, kontrol grubu, kekik, sarımsak katkılı filmlerde olduğunu bulmuşlardır. Yapılan araştırma ile kekik veya sarımsak özütleri içeren filmlerin yüksek düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenirken, biberiye ekstraktı katkılı filmlerin ise antimikrobiyal etkisi tam olarak saptanamamıştır (Sarıkuş G. 2006).

Sarıoğlu ve Öner (2006) sorbitol içeren sodyum kazeinatlı yenilebilir filmle kaplamanın kaşar peynirlerinin kalitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, 90 günlük olgunlaşma periyodu boyunca örneklerde ağırlıkta % kayıp, peynir sıklığı, pH, titrasyon asitliği kuru madde, yağ, tuz, protein, aroma maddeleri analizlerini yapmışlar ve olgunlaşma boyunca meydana gelen mikrobiyolojik değişimlerini incelemişlerdir. Araştırma sonunda, kaşar peynirlerinde sorbitol içeren sodyum kazeinattan elde edilen yenilebilir filmle kaplamanın, peynirlerin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde olumlu değişikliklere neden olduğunu belirlemişlerdir (Sarıoğlu T., ve Öner Z. 2006).

Torlak ve Nizamlıoğlu (2009) *Listeria monocytogenes*'e karşı kitosan ve uçucu yağ içeren kitosan solüsyonları ile hazırlanan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkileri 4°C' de

14 gün boyunca araştırmışlardır. Kekik ve karanfil uçucu yağları yenilebilir film solüsyonlarına belirli oranlarda ilave edilmiş ve kaşar peynir dilimlerini *L. monocytogenes* ile 5 log kob/g düzeyinde kontamine etmişlerdir. Depolama sonunda kontrol grubuna nazaran yenilebilir filmler ile kaplanmış örneklerde *L. monocytogenes* sayısının 1,18-2,39 log kob/g olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, kekik yağı içeren filmlerin karanfil yağı içeren filmlere oranla daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu saptamışlardır (Torlak E., ve Nizamoğlu M. 2009).

Antimikrobiyal madde ile karşılaşan bakteri hücrelerinde hücre duvarından başlayarak bir seri bozulmalar olmaktadır. Şekil 2.1'deki görüldüğü gibi öncelikle hücre duvarının bozulmaktadır. Daha sonra sitoplazmik membran hasarı, membran proteinlerinin zarar görmesi, hücre içeriğinin sızması, sitoplazmanın pıhtılaşması, elektron akışı/aktif taşımanın bozulması ve proton itici kuvvetinin tükenmesiyle antimikrobiyal maddenin etkisi sonuçlanır. Böylece bakteri hücrelerinin üremesini inhibe etmektedir (Balkan C.E., vd 2016).



Şekil 2.1: Esansiyel yağların bakterilere etkisi (Balkan C.E., vd 2016)

Di Pierro ve diğ. (2011) yaptıkları çalışmada, Ricotta peynirinin raf ömrünü artırmak amacıyla yenilebilir film kaplaması olarak kitosan ve peynir altı suyu protein karışımlarını kullanmışlar ve örnekleri 4°C modifiye atmosfer şartları altında depolamışlardır. 30 günlük depolama periyodu boyunca kontrol grubu ve film kaplı Ricotta peynirlerinin pH değerlerinde önemli farklılıklar olmadığını saptamışlardır. Ayrıca ilk 2 haftalık depolama boyunca kontrol grubunun titrasyon asitliğinde düzenli bir artış gözlemlenirken, depolama

periyodu sonunda sabit kaldığı tespit edilmiştir. Depolama sonunda yenilebilir filmle kaplı Ricotta peynirlerinin, kontrol grubuna kıyasla laktik asit, mezofilik ve psikrotrofilik bakteri sayılarında önemli bir düşüş olduğunu bulmuşlardır. Araştırma sonunda günlük süt ürünlerinin raf ömrünün uzatılmasında kitosan ve peynir altı suyu proteinleri karışımı ile hazırlanan yenilebilir film uygulamasının etkili bir şekilde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Di Pierro P., vd., 2011)

Zhong ve arkadaşları (2014) sodyum aljinat, kitosan ve soya proteini ekstraktları kullanılarak mozzarella peynirini kaplamışlar ve depolama boyunca sodyum aljinat ile kaplanan örneklerin fiziksel özelliklerinin korunduğu, kimyasal özelliklerinin ise daha iyi geliştiği test edilmiştir (Zhong Y., vd., 2014).

Raybaudi-Massilia ve diğ. (2008) doğal antimikrobiyal maddeler olan tarçın, palmorasa ve lemongrass esansiyel yağları ve malik asiti, aljinat esaslı yenilebilir filmle kombine ederek taze dilimlenmiş kavun (*Cucumis melo* L.) örneklerini ambalajlamada kullanılmışlardır. Paketlenmiş kavun dilimlerini 5°C’de depolamış ve depolama periyodu boyunca raf ömrü üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kavun dilimlerine *Salmonella enteritidis* (108 kob/ml) inokule edildikten sonra kaplama işlemine geçilmiştir. Araştırma sonunda yenilebilir film uygulanan kavun örneklerinde bulunan *S. enteritidis*’in popülasyonunda önemli azalmalar gözlemlenmiştir (Raybaudi-Massilia R. M., vd., 2008).

Del-Valle ve diğ. (2005) yaptıkları bir çalışmada, kaktüsün dikenlerinde bulunan zank maddesini çileğin raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanmışlar ve yenilebilir film olarak üretilen bu zank ile başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (Del-Valle V., vd., 2005).

Lee ve diğ. (2003) tarafından yapılan çalışmada, esmerleşme reaksiyonlarını önleyici iyonlarla birlikte kombine edilen yenilebilir film, elma dilimlerine uygulayarak 3°C’de 2 hafta boyunca depolamışlardır. Bu uygulamayla elma dilimlerindeki solunum oranının kontrol altına alındığı saptamışlardır. %20’lik ve %5’lik karragenan (0,5 g/100 mL) ve peynir altı suyu protein konsantratu (5 g/100 mL) ile kaplı elma örneklerinin 25°C’deki solunum oranının azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında elma dilimleri 3°C’de depolandığında raf ömrünün 2 haftaya kadar uzatıldığını rapor etmişlerdir (Lee vd., 2003).

Gıdalarda, propolisin antibakteriyel ve antioksidan madde olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar da mevcuttur. Mısır’da yapılan bir çalışmada farklı yoğunluklarda kullanılan propolisin Ras (Rumi) peyniri yüzeyine uygulanmasının *Aspergillus versicolor* küfünün gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda propolis katkısının

90 günlük olgunlaşma sürecinden sonra küf üremesini tamamen durdurucu etki gösterdiği bildirilmiştir. En yüksek propolis konsantrasyonunu içeren grubun yüzeye muamelesinin küf gelişimi ve toksin üretimini tamamen durdurduğu ve kontrol grubunda küf gelişiminin ve toksin üretiminin devam ettiği belirtilmiştir (Aly, S. A., ve Elewa, N. A. 2007).

Alexander 2007 yılında yaptığı çalışmada, peynir üretimi yaparken propolis ekstraktı ilave etmiş ve çalışması sonucunda küf ve toksin oluşumunu önlemek için propolisin doğal katkı maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Alexander, C. 2007).

Çin’de ise yoğurda propolis ilave edilerek propolisin antimikrobiyal etkisini tayin etmek üzere araştırma yapılmıştır. 2011 yılında yürütülen bu çalışmada hem *S. aureus* ve *E. coli* gibi patojen bakterilerin hem de bağırsak florasındaki yararlı bakterilerden olan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türü bakteriler üzerine propolisin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. *S. aureus* ve *E. coli* gelişimi, düşük konsantrasyonda propolisin ilavesi ile yavaşlarken, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri üzerindeki antimikrobiyal etkinin çok düşük seviyede kaldığı bildirilmiştir. Bu sonuç bize propolisin zararlı bakteriler üzerinde daha fazla etkili olduğunu göstermektedir (Jian-xin, G., vd., 2011).

2009 yılında yapılan başka bir çalışmaya göre de yoğurttaki küflenmeyi önlemek için %0,05 oranında propolisi yoğurda ilave ederek periyodik olarak incelemeler yapılmış, hazırlanan propolis çözeltilisinin yoğurdun raf ömrünü uzattığı ve kalitesini koruduğu ifade edilmiştir (Yang, F. L., vd., 2009).

2016 yılında Ordu Üniversitesi tarafından yapılan Yüksek lisans tez çalışmasında ise meyveli yoğurtlara farklı dozlarda propolis eklenerek propolisin potansiyel koruyucu etkisi araştırılmıştır. Propolis katılan meyveli yoğurt numunelerinin antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, kimyasal ve duyuşsal özellikleri incelenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda propolis katkısı kimyasal ve duyuşsal özelliklerde önemli düzeyde bir olumsuz etkiye sebep olmazken, numunelerde antioksidan aktivite artmış, mikrobiyal gelişimin propolis katılmayan meyveli yoğurda göre yavaşladığı vurgulanmıştır (Güney, F., 2016).

Propolisin antioksidan, antibakteriyel, pH dengeleme, kalitatif denge gibi koruyucu özellikleri sadece süt ve süt ürünlerinde değil diğer gıda ürünlerinde de başarılı sonuçlar vermiş ve propolisin doğal bir gıda koruyucusu olabileceği yapılan çalışmalarla pekiştirilmiştir. Örneğin Türkiye’de 2007 yılında yapılan bir çalışmaya göre meyve suyuna (elma, portakal, beyaz üzüm, mandalina) doğal koruyucu olarak propolisin ilave edildiğini ve bu propolisin Elma, portakal, beyaz üzüm ve mandalina suyu örneklerinde yaygın

koruyucu madde olarak kullanılan sodyum benzoat ile antifungal etkileri kıyaslanmıştır. Propolisin tüm örneklerde tüm küf türlerine karşı antifungal etkisinin sodyum benzoata göre yüksek olduğu araştırma sonunda rapor edilmiştir (Koc, A. N., vd., 2007).

Pires S. ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada nisin/natamisin içeren selüloz bazlı filmlerin 12 gün boyunca 12°C'de dilimlenmiş mozzarella peynirinde *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *Penicillium spp*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Her ne kadar nisin içeren selüloz filmlerde, nisinin filmde numuneye çok yavaş difüzyon oranı nedeniyle bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olmamasına rağmen, natamisin içeren filmler yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir (Pires S., vd. 2008). Baharatlardaki antimikrobiyal etkiye sahip olan yağlar genellikle hidroksil grubu içeren fenol bileşikleridir ve önemli antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahiptir. Bu fenolik bileşikler hücre zarındaki fosfolipid tabakasını tahrip ederek bu katmanın geçirgenliğini artırır ve böylece hücre içindeki maddeler hücreden sızar veya bakterilerin enzim sistemi bozulur. Bu durumda, mikroorganizma inhibisyonu meydana gelmektedir (Morreira M.R., vd.2005) Peynir altı suyu proteini bazlı sorbik asit içeren yenilebilir filmlerin *L. monocytogenes*, *E. coli* O157: H7 ve *S. typhimurium* DT104 için ortalama inhibisyon bölgesi çapları sırasıyla 21.8, 14.6, 13.9 ve 26.7, 10.5, 9.7 mm olmuştur (Çağrı A., vd. 2001).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Kimyasal Malzemeler

Mikrokristalin selüloz, potasyum sorbat, β -karoten ve hesperedin Sigma'dan temin edilmiştir. Propolis, SBS Bilimsel Bio Çözümler San. Ve Tic. A.Ş.'den sağlanmıştır. Diğer tüm kimyasallar analitik derecededir.

3.2. Mikroorganizmalar ve kültürler

Bu çalışmada kullanılan beyaz peynirinin kontaminantı olarak *Escherichia coli* (ES DII) ve *Staphylococcus aureus* (F6 III) suşları kullanılmıştır. Bu suşlar Refik Saydam Ulusal Tip Kültür Koleksiyonu'ndan (Ankara / Türkiye) temin edilmiştir. Bakteriyel kültürler, 37 ° C'de besiyerinde inkübe edildi. β -karoten, hesperedin, propolis ve selülozik yenilebilir filminin antimikrobiyal aktivitesini ölçmeden önce 0.1 mL kültür, 20 mL yeni LB broth ortamına inokule edildi ve 24 saat inkübasyona bırakıldı.

3.3. β -karoten, Hesperidin ve Propolis' in Hazırlanması

β -karoten ve hesperidin çözeltileri, DMSO içinde son konsantrasyonları % 1, 3 ve 5 (a/h) olacak şekilde hazırlandı. Propolis çözeltileri PEG (Polietilen glikol) içinde son konsantrasyonları %10 ve 20 (a/h) olacak şekilde kullanıldı.

3.4. Selüloz-bazlı Yenilebilir β -karoten, Hesperedin ve Propolis İçeren Filmlerin Hazırlanması

Yenilebilir film karışımı mikrokristalin selüloz (500 g/L), NaOH (570 g/L), üre (380 g/L) ve distile su ilave edilerek son hacim 1 L olacak şekilde hazırlandı. Karışım, 0-5°C'de 15 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen karışım -8°C'de 6 saat bekletildi. Bekleme süresinin sonunda berrak homojen bir çözelti oluşturuldu. Bu karışım ince tabakalar halinde steril kalıplara döküldü. Kalıplarda 5 dakika bekletilen karışımın üzerine damla damla 1 M CH₃COOH ilavesi yapılarak koagülasyon sağlandı. Filmler, 15 dakika sonra saf su ile yıkandı. Sentezlenen selüloz bazlı yenilebilir filmler oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Her film plakadan dikkatlice ayrıldı ve daha ileri analiz için bir polietilen torbada saklandı. İşlemler öncesinde filmler, UV ışık altında sterilizasyon amacıyla 2 dk bekletildi. Steril edilen filmlerin yüzeyine, peynir kaplaması öncesinde, β -karoten, Hesperedin (%5) ve Propolis (%10 ve %20) ekstraktları ve potasyum sorbat (10 mg/g peynir) deney tasarımıyla püskürtüldü (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Selüloz bazlı yenilebilir filmin farklı antimikrobiyal maddelerle bileşimi.

İşlem	Bileşim
SBYF film	Mikrokristalin selüloz ¹ , NaOH, üre
F1	SBYF + K ^a (5% (a/h))
F2	SBYF + K (5% (a/h)) + P ^b (10 % (h/h))
F3	SBYF + K (5% (a/h)) + P (20 % (h/h))
F4	SBYF + H ^c (5% (a/h))
F5	SBYF + H (5% (a/h)) + P (10 % (h/h))
F6	SBYF + H (5% (a/h)) + P (20 % (h/h))
F7	SBYF + P (10 % (h/h))
F8	SBYF + P (20 % (h/h))
F9	SBYF + PS ^d (10 mg/g peynir)

^a K: Karoten

^b P: Propolis

^c H: Hesperedin

^d PS: Potasyum Sorbat

¹ Kuru selüloz baz alınarak ölçülmüştür.

SBYF: Selüloz Bazlı Yenilebilir Film

3.5. Beyaz Peynir Numunelerinin Hazırlanması ve Kontamine Edilmesi

Malatya yöresinde yerel işletmelerde satışa sunulan beyaz peynirler toplandı. Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvar ortamına getirildi. Her peynir kalıbının üç ayrı noktasından 3×3 cm boyutunda yaklaşık 3 g ağırlığında ince kesitler (1-3 mm) alındı. Örneklerin her biri numaralandırılarak steril petri kaplarına alındı. Peynirlerin üzerine yaklaşık 10⁴-10⁵ kob/mL inokulum içeren 0.1 mL bakteri kültürü ekilerek yüzeye yayıldı. Daha sonra kontamine edilen peynirler, bakterilerin yüzeye daha iyi sabitlenmesi için 15 dakika 37° C'de bekletildi.

3.6. Peynirin Kaplanması

Kontamine edilen peynir örnekleri hazırlanan farklı içerikteki filmlerle tek tek kaplandı. Steril petri kapları içerisine alınan kaplanmış peynirler + 4 °C'de buzdolabında 15 gün boyunca bekletildi. Canlı hücre hücre sayımı analizleri 5 günlük aralıklarla yapıldı.

3.7. Peynirin Homojenizasyonu ve Canlı Hücre Sayımı

Peynir örnekleri, homojenizasyon işlemleri için steril stomacher poşetler içine alındı. Steril stomacher poşetlerinde numune, 27 ml PBS tamponu (fosfat tamponu, pH; 7.4) ile homojenize edildi. Homojenat sıvısına yeterli sulandırma işlemi yapıldı. Uygun sulandırım tüplerinden sıvı kültürler alınarak farklı katı besiyerlerine yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı.

3.8. β-karoten, Hesperedin ve Propolis Çözeltilerinin Antimikrobiyal Tayini

β-karoten, hesperedin ve propolisin antimikrobiyal aktivitesi kağıt disk yöntemi ile ölçüldü (Maclowry, J.D. vd. 1970). Antimikrobiyal maddeler, herhangi bir mikroorganizmayı uzaklaştırmak için 0.45 um membran filtre ile süzüldü ve %1, %3 ve %5 (a/h) konsantrasyonlarda çözeltiler haline getirildi. Sterilize edilmiş 1,2 cm çapında kağıt diskler, bakterilerle yayılan besin agar plakalarına yerleştirildi ve 0.1 mL antimikrobiyal madde çözeltileri ayrı ayrı kağıt diskler üzerine pipetlendi.

3.9. β-karoten, Hesperedin ve Propolis İçeren Selüloz Bazlı Yenilebilir Filmlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

β-karoten, hesperedin ve propolis içeren selüloz bazlı yenilebilir filmlerin (1.bölümde belirtilen Tablo 1'de) antimikrobiyal aktivitesi, Moller vb. (2004) 'e göre modifiye edilmiş bir agar difüzyon metodu ile ölçülmüştür. Bu çalışmada kullanılan tipik peynir bakteriyel kontaminantlar *E. coli* ve *S. aureus*'tur. *E. coli* ve *S. aureus*, 37°C'de sıvı besiyerinde (nutrient broth) üretildi. Antimikrobiyal madde içeren filmlerin antimikrobiyal aktivitesini ölçmeden önce, 0.1 mL kültür yeni besiyeri ortamına aktarıldı ve 1 gün boyunca inkübe edildi. Filmler, aseptik koşullar altında farklı test filmlerinden (1.2 cm çapında) kesilerek daha önce yaklaşık 10^4 - 10^5 kob/mL *S. aureus* ve *E. coli* içeren 0.1 mL inokulum ile ekilmiş olan nutrient agar plaklarına yerleştirildi. Plaklar daha sonra 4°C'de 15 dakika boyunca soğutuldu ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Üçlü veriler, inhibisyon bölgesi çapı (mm) olarak ifade edilir ve film disklerini çevreleyen inhibitör bölge ölçüldü.

3.10. Analizler

3.10.1. DPPH radikali ile antioksidan tayini

DPPH radikali ile antioksidan analiz yöntemleri doğal ekstraktların kapasitesini ölçmede çok sık kullanılan bir metottür. DPPH çözeltisi analiz öncesi taze olarak hazırlandı. Buna göre 10^{-4} M DPPH'in metanoldeki çözeltisinden 1'er ml alınarak alüminyum folyo kaplı tüplere aktarıldı. Bir seri dilüsyon hazırlamak üzere tüpler yan yana dizildi ve tüp dilüsyon yöntemi ile karoten, hesperidin ve propolis' in miktarları $\frac{1}{2}$ oranında azaltılarak tüplere dağıtıldı. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda metonele karşı okundu. Analizler 3 tekrarlı olarak yapıldı.

Standart olarak trolox kullanılmış olup, tespit edilen absorbans değeri üzerinden örneklerin % süpürme kapasiteleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ süpürme kapasite} = 1 - [A\ddot{O}/AK] \times 100$$

A \ddot{O} ₃₀: Örneğin 30. dakikadaki Absorbansı

AK₃₀: Kontrolün 30. dakikadaki Absorbansı

Sonuçlar mg TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity-Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) / g antimikrobiyal madde olarak ifade edilmiştir.

3.10.2. Toplam fenolik madde miktarı tayini

Selülozik film yüzeyine püskürtülen antimikrobiyal maddelerin toplam fenolik madde miktarı tayini Folin-Ciocalteu reaktifi ile yapılmıştır.

Toplam fenolik madde miktarı belirlenecek olan örnek solüsyonlarından belirli miktarlarda kullanılarak üzerine 250 µL folin reaktifi eklenmiştir. 5 dakika inkübasyon süresinden sonra % 2'lik 800 µL sodyum karbonat (Na₂CO₃) ilave edilmiş ve elde edilen karışım vortekslenerek oda sıcaklığında 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometrede 755 nm dalga boyunda absorbans değeri belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarını belirlemede standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Sonuçlar mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri) / g antimikrobiyal madde olarak ifade edilmiştir.

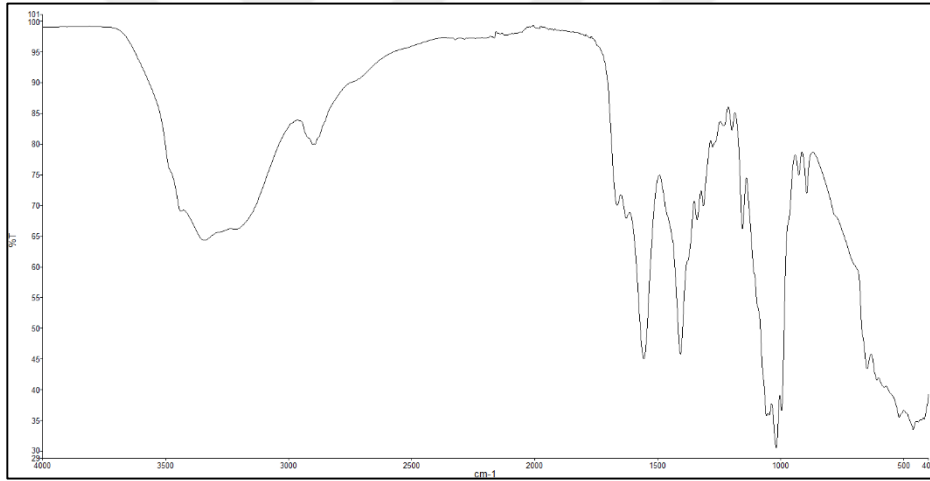
3.10.3. Enstrümental analiz

Selüloz esaslı yenilebilir filmlerin FTIR spektrumları, oda sıcaklığında, 4000-400 cm⁻¹ aralığında 4 cm x 1 çözünürlük oranında bir dedektör ile ATI UNICAM sistemleri 2000 Fourier dönüşüm spektrometresi ile kaydedildi. Filmlerin termal kararlılığı termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile yapıldı. TGA termogramları Shimadzu TGA-50 analizörleri tarafından 10 mg numune için 10 ° C / dk'lık bir ısıtma hızında kaydedildi ve tarama aralığı 30–700 ° C'ye tutuldu. Deney hava atmosferi altında gerçekleştirildi. Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) bir Shimadzu DSC-60 kullanılarak yapıldı. Tarama hızı, hava atmosferi altında 30-500 ° C sıcaklık aralığında 10 ° C / dakikaydı ve numune ağırlığı 5 mg idi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

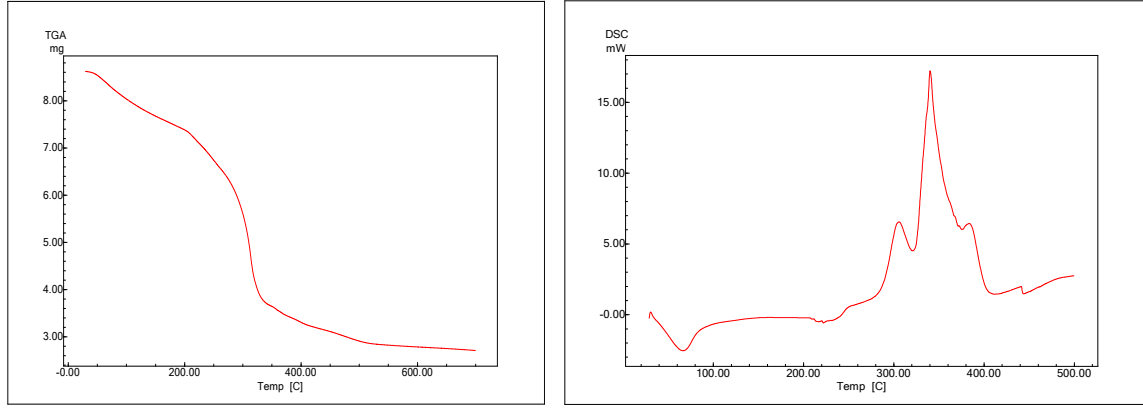
4.1. Enstrümental analiz

Bu çalışmada selüloz esaslı yenilebilir filmler sentezlenmiştir. Filmlerin karakteristikleri FT-IR, TGA ve DSC enstrümanları ile yapıldı. Şekil 4.1, selüloz esaslı yenilebilir filmin FTIR spektrumlarını göstermektedir. Selüloz esaslı yenilebilir filmin FTIR spektrumlarında, 3600 ve 3200 cm^{-1} 'deki karakteristik pikler O-H germe titreşimleriyle ilişkilidir. 3342 cm^{-1} 'deki geniş tepe, moleküller arası hidrojen bağı nedeniyle -OH gruplarının simetrik germe titreşimlerine aittir. 3000-2800 cm^{-1} ile 1500-1250 cm^{-1} arasındaki emme bantları C-H ve C-H₂ germe ve bükme titreşimlerinden kaynaklanmıştır. 1156 cm^{-1} 'deki emilim bandı, C-O-C germe hareketiyle ilişkilidir. 1058 ve 1018 cm^{-1} 'de gözlenen pik, C-O gerilmesine aittir. 894 ve 650 cm^{-1} arasındaki bantlar O-H bükülme titreşimlerine aittir.



Şekil 4.1: Selüloz bazlı yenilebilir filmin (FTIR) spektrum ölçümü

Termal analiz teknikleri malzeme karakterizasyonu için çok kullanışlıdır. Şekil 4.2., mikrokristalin selüloz esaslı yenilebilir filmin TGA ve DSC termogramlarını göstermektedir. 100°C civarındaki sıcaklıkta MCC numunesi için ilk ağırlık kaybı, su veya nemin buharlaşmasına bağlanmıştır. TGA ve DSC termogramlarından açıkça görülebileceği gibi, 200-400°C arasındaki sıcaklıklar hemiselülozun bozunmasına bağlanmıştır. Degradasyon sıcaklıkları, filmlerde selülozun yüksek kristalliğine bağlı olarak kademelidir. Kristallerin selüloz filmdeki oryantasyonu, bozunma sıcaklığını artırır.



(a)

(b)

Şekil 4.2: Selüloz bazlı yenilebilir filmin sıcaklık analizi. (a) Termogravimetrik analiz (TGA) ve (b) Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC).

4.2. β -Karoten, Hesperidin ve Propolis Çözeltilerinin ve Selüloz Bazlı Yenilebilir Filmlerin (SBYF) Antimikrobiyal Aktivitesi

Çeşitli konsantrasyonlardaki β -karoten, hesperidin, propolis ve potasyum sorbat çözeltilerinin test edilen mikroorganizmalara karşı inhibisyon aktiviteleri Çizelge 4.1'de gösterilmektedir. β -karoten, hesperidin, propolis ve potasyum sorbat çözeltilerinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi inhibisyon bölgelerinin çapı ile sınıflandırılmıştır. Yaygın gıda koruyucu olarak kullanılan potasyum sorbat pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

β -karotenin, *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi kağıt diskler ile test edilmiştir. % 1'lik ve % 3'lük konsantrasyonlarda kullanılan β -karoten, hem *E. coli* hem de *S. aureus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı, antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. Ancak β -karoten % 5 olarak hazırlanıp kağıt disklere uygulandığında hem *E.coli* hem de *S.aureus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu, antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır.

Hesperidin'in *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi kâğıt diskler ile test edilmiştir. %1'lik ve %3'lük konsantrasyonlarda hazırlanan hesperidin, hem *E. coli* hem de *S. aureus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı, antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. Ancak hesperidin % 5'lik konsantrasyonunda kağıt disklere uygulandığında hem *E.coli* hem de *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır.

En iyi antimikrobiyal aktivite, β -karoten ve hesperidinin uygulanan konsantrasyonu %5 olduğunda belirlenmiştir. Ancak propolisin hem %10 hem de %20 konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilerinde yüksek miktarda inhibisyon gözlenmiştir. %5'lik hesperidin, %5'lik β -karoten, %10luk propolis ve %20lik propolis çözeltileri potasyum sorbata oranla daha fazla inhibisyon sağlamış, daha geniş zon çapı gözlenmiştir. İnhibitör bir bölgenin oluşumu, antimikrobiyal bileşiğin kültür ortamına difüzyonuna ve mikroorganizmaların büyüme hızına bağlıdır. Bu parametreler kültürün fizyolojik durumu, kimyasal yapısı ve filmlerin çapraz bağlanma düzeyinden etkilenir (Çağrı A. vd. 2001).

Çizelge 4.1: β -karoten, hesperidin, propolis ve potasyum sorbat çözeltilerinin test edilmiş mikroorganizmalara karşı inhibisyon aktiviteleri.

Antimikrobiyal madde	kons. (% (a/h))	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
β-karoten	1	-	-
	3	-	-
	5	+	+
Hesperidin	1	-	-
	3	-	-
	5	++	++
Propolis	% 10	++	++
Propolis	% 20	++	++
Potasyum sorbat	10 mg/g peynir	+	+

Farklı antimikrobiyal maddelere karşı antimikrobiyal aktivite, inhibisyon bölgesinin çapı ile sınıflandırıldı:

-, tespit edilmedi;

+, inhibisyon bölgesinin çapı <5 mm idi;

++, inhibisyon bölgesinin çapı 5-20 mm idi.

Çalışmanın ikinci aşamasında, maksimum antimikrobiyal madde konsantrasyonları belirlendikten sonra, bu maddelerin selüloz bazlı yenilebilir filmler disklerle uygulanarak deneylere devam edilmiştir. Hazırlanan selüloz bazlı yenilebilir filmler diskler halinde kesilip, yüzeylerine antimikrobiyal maddeler püskürtüldükten sonra bakteri inoküle edilen besiyeri bırakılıp inkübasyon süresince üreme inhibisyon zonu oluşturup oluşturmayacağı test edildi. β -karoten, hesperidin, propolis ve potasyum sorbat içeren selüloz bazlı yenilebilir filmlerinin iki mikroorganizmaya antimikrobiyal aktivite etkileri çizelge 4.2.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2: Farklı içerikteki selüloz bazlı yenilebilir filmlerin (SBYF) mikroorganizmaların üremesi üzerine antimikrobiyal aktivitesi.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
SBYF	-	-
F1	5.41±0.57	5.22±0.70
F2	12.67±0.20	14.40±0.10
F3	13.33±0.23	19.12±0.18
F4	8.72±0.42	6.76±0.30
F5	11.33±0.47	12.01±0.41
F6	21.00±0.15	22.09±0.29
F7	14.13±0.11	12.66±0.32
F8	18.76±0.97	16.50±0.55
F9	3.43±0.29	3.01±0.12

-, tespit edilemedi.

SBYF: Selüloz bazlı yenilebilir film

F1: SBYF + K (% 5 (a/h))

F2: SBYF + K (5% (a/h)) + P (10 % (a/h))

F3: SBYF + K (% 5 (a/h)) + P (% 20 (a/h))

F4: SBYF + H (% 5 (a/h))

F5: SBYF + H (% 5 (a/h)) + P (% 10 (a/h))

F6: SBYF + H (% 5 (a/h)) + P (% 20 (a/h))

F7: SBYF + P (% 10 (a/h))

F8: SBYF + P (% 20 (a/h))

F9: SBYF + PS (10 mg/g peynir)

SBYF tek başına hem *E.coli*'ye hem de *S.aureus*'a karşı inhibisyon göstermemiştir ve negatif kontrol olarak test edilmiştir. Potasyum sorbat içeren F9 filmi pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Potasyum sorbat mikroorganizmalar üzerinde sınırlı da olsa inhibisyon sağlamıştır. *E.coli* ve *S.aureus*'un koloni oluşturmasını inhibe etmiştir (Zon çapları; *E.coli* için 3.43 mm, *S.aureus* için 3.01 mm).

Antimikrobiyal madde içeren filmler *E.coli* ve *S. aureus*'un üremesini engelleyerek daha geniş inhibisyon zonları oluşturmuştur. % 5 oranında β-karoten içeren F1 filmi uygulamalarında oluşan inhibisyon zonları *E.coli* ve *S.aureus* için sırasıyla 5.41 mm, 5.22 mm'dir. % 5 β-karoten ve % 10 propolis içeren F2 filminin oluşturduğu inhibisyon zonu *E.coli* için 12.67 mm, *S.aureus* için 14.40 mm olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan potasyum sorbat kullanıldığı zaman elde edilen değerlerden yaklaşık olarak 3 kat daha yüksek olmuştur. % 5 β-karoten ve % 20 propolis içeren F3 filminin antimikrobiyal aktivitesinin test edildiğinde ölçülen inhibisyon zon çaplarında artış tespit edilmiştir (*E.coli*;13.33 mm, *S.aureus*; 19.12 mm zon çapı). β-karoten eklenen

karışımlar arasında en yüksek inhibisyon hem *E.coli* hem de *S.aureus* için % 5 β -karoten ve % 20 propolis içeren F3 filminde görülmüştür.

E.coli ve *S.aureus*'un üremesi üzerinde test edilen ve hesperidin ihtiva eden filmler karşılaştırıldığında en yüksek inhibisyon *E.coli* için 21.00 mm, *S.aureus* için 22.09 mm zon çapı oluşturan, hesperidin ve % 20 propolis maddesi içeren F6 filmi ile olmuştur. Ayrıca F6 filmi hem *E.coli* hem de *S.aureus* üzerinde denenen tüm filmler arasında oluşturmuş zon çapı ile en yüksek inhibisyon sağladığını göstermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan potasyum sorbatın *E.coli* ve *S.aureus* üzerinde gösterdiği inhibisyon çapından yaklaşık olarak 6 kat fazla zon çapı oluşturmuştur. Sadece % 5 oranında hesperidin bulunan F4 filminin antimikrobiyal aktivite kapasitesi, *E. coli* için 8.72mm, *S. aureus* için 6.76 mm inhibisyon zon çapıyla saptanmıştır. Hesperidin test edilen bakterilerden *E. coli* üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. % 5 oranında hesperidin ve % 10 oranında propolis içeren F5 filmi ise *E.coli* üzerinde 11.33 mm, *S.aureus* üzerinde ise 12.01 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Hesperidin bulunduran F4, F5 ve F6 filmleri pozitif kontrol olarak kullanılan potasyum sorbat içeren F9 filminden daha fazla inhibisyon sağlamıştır.

%10 propolis içeren F7 ve % 20 propolis içeren F8 filmleri *E.coli* üzerinde sırasıyla 14.13 mm ve 18.76 mm; *S.aureus* üzerinde sırasıyla 12.66 mm ve 16.50 mm zon çapı oluşturduğu görülmüştür. Propolis maddesi ile daha önce yapılan çoğu çalışmada yüksek antimikrobiyal özellik gösterdiği raporlanmıştır (Güney F, 2016; Koc A.N., vd, 2007; Yang F.L, vd, 2009). Hatta Jian-xin G, (2011) ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışma, propolisin antimikrobiyal özelliği patojen veya zararlı mikroorganizmalar üzerinde daha fazla etki gösterdiğiydi (Jian-xin, G., vd., 2011). Propolisin farklı konsantrasyonları ve farklı maddelerle hazırlanan filmlerinin *E.coli* ve *S.aureus* üzerinde en yüksek inhibisyon zonu oluşturması yapılan önceki çalışmaları destekler niteliktedir.

β -karoten, hesperidin ve propolis kıyaslanıp film karışımları göz önüne alındığında en yüksek antimikrobiyal etki gösterenin propolis olduğu yapılan deneyler ile saptanmıştır. Ancak propolis hesperidin karışımı ile propolis karoten karışımı arasında kıyaslama yapıldığında hesperidin bulunan F5 filminin F2 filmine oranla iki kat inhibisyon gösterdiği saptanmıştır. Bu inhibisyon farkı her iki maddenin bağlanmasına, yüzey tutunmasına, oluşturduğu bileşiğin yapısına bağlı olarak değişebilir. %20 propolis ile kullanıldıklarında (F3 ve F6) yine hesperidin ile olan filmler daha fazla inhibisyon göstermiştir.

4.3. Antimikrobiyal Filmlerin Depolama Periyodunda *E. coli* ve *S. aureus* Düzeyi Üzerine Etkisi

Malatya yöresinde yerel işletmelerde satışa sunulan ve koruyucu madde içermeyen beyaz peynirler toplanılmıştır. Her peynir kalıbının üç ayrı noktasından 3×3 cm boyutunda yaklaşık 3 g ağırlığında ince kesitler (1-3 mm) halinde alınan örneklerin her biri numaralandırılarak steril petri kaplarına alınmıştır. Beyaz peynirler yapay olarak kontamine edilerek yüzeyine antimikrobiyal maddeler püskürtülen selüloz bazlı yenilebilir filmler ile kaplanmıştır. 4°C'de depolama süresince antimikrobiyal maddelerin *E. coli* ve *S. aureus* düzeyindeki etkileri 5., 10. ve 15. günlerde canlı hücre sayımı yapılarak tespit edilmiştir. Film ile kaplanmamış peynir örnekleri, bakteri kültürleri ile yapay olarak kontamine edilmiş ve negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sadece potasyum sorbat içeren selüloz bazlı yenilebilir film (F9) ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol gruplarının depolama süreci ve mikrobiyolojik analiz işlemleri, diğer uygulama gruplarıyla aynı şartlar altında gerçekleştirilmiştir. Deneyler üçerli tekrarlar halinde uygulanmıştır.

4.3.1. *E. coli* sayımı

Halk sağlığı için risk teşkil eden peynir kaynaklı zehirlenmelerin en önemli nedeni olarak *E. coli* gösterilmektedir. Gıdalarda saptanması, saptanma miktarı, halk sağlığı yönünden önem arz eden enteropatojenik veya toksikonejik *E. coli* bulunma ihtimali ve fekal kontaminasyonu gösterme açısından indikatör bir mikroorganizma olarak kabul edilir (Pamela L. Vd., 2008).

Çalışmalarda peynirlerdeki *E. coli* düzeyinin genel olarak, tüm antimikrobiyal madde içeren film kaplamalarında depolama süreci boyunca kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). 5. gün yapılan ölçümlerde, kontrol grubundaki *E. coli* düzeyi log 6.38 Kob/g olarak hesaplanmıştır. % 5 oranında β-karoten içeren F1 film ile kaplama sonucunda ise 5. gün ölçümlerinde peynirlerdeki *E. coli* düzeyi log 5.00 Kob/g olarak saptanmıştır. Kontrol grubuna göre % 21 oranında *E. coli* düzeyinde inhibisyon sağlamıştır. % 5 β-karoten ve %10 Propolis ihtiva eden (F2) film ile kaplanma sonucunda *E. coli* düzeyi log 5.45 Kob/g olarak tespit edilmiştir (5. Günde). Bu iki antimikrobiyal maddenin karıştırılması sonucu elde edilen çözeltinin *E. coli* düzeyi üzerindeki antimikrobiyal etkisi % 14 olmuştur. β-karoten ve % 20 oranında propolis bulunan F3 filmi ile kaplama sonucunda, 5. gün yapılan ölçümlerde *E. coli* düzeyi 5.34 lo Kob/g olarak hesaplanmıştır. Peynire inokule edilen bakteri düzeyinin, uygulanan antimikrobiyal madde sonucunda % 16 oranında

azaldığı hesaplanmıştır. β -karoten temelli hazırlanan üç farklı film uygulamasında, 5 günlük depolama sürecinden sonra en iyi sonuç yalnızca β -karoten püskürtülen F1 film ile kaplama yapıldığında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3: 4° C de depolama sırasında antimikrobiyal maddeler içeren SBY filmleri ile kaplanmış beyaz peynirlerdeki *E.coli* (log kob/g) sayısı

	Depolama (gün)		
	5	10	15
Kontrol	6.38±0.41	7.24±0.38	7.34± 0.29
F1	5.00±0.23	4.20±0.23	3.78±0.34
F2	5.45±0.40	4.47±0.46	4.22±0.20
F3	5.34±0.62	4.03±0.38	3.90±0.45
F4	4.58±0.88	3.79±0.22	3.13±0.19
F5	5.30±0.31	4.97±0.27	3.72±0.26
F6	5.34±0.34	4.20±0.49	4.04±0.33
F7	5.39±0.43	4.26±0.66	3.75±0.29
F8	3.94±0.29	3.11±0.54	3.02±0.34
F9	5.26±0.18	5.32±0.22	5.36±0.43

F1: SBYF + K (%5 (a/h))

F2: SBYF + K (%5 (a/h)) + P (%10 (a/h))

F3: SBYF + K (%5 (a/h)) + P (%20 (a/h))

F4: SBYF + H (%5 (a/h))

F5: SBYF + H (%5 (a/h)) + P (%10 (a/h))

F6: SBYF + H (%5 (a/h)) + P (%20 (a/h))

F7: SBYF + P (%10 (a/h))

F8: SBYF + P (% 20 (a/h))

F9: SBYF + PS (10 mg/g peynir)

Hesperidin püskürtülen filmlerin 5 günlük depolama sürecinde *E.coli* düzeyi üzerine etkisi değerlendirildiğinde en yüksek oranda bakteri üremesini inhibe eden filmin % 5 oranında hesperidin içeren F4 filmi olduğu saptanmıştır. Log 4.58 Kob/g olarak tespit edilen canlı bakteri miktarıyla, kontrol grubuna kıyasla % 28 oranında bakteri üremesinin inhibe edildiği tespit edilmiştir. % 5 hesperidin ve % 10 propolis içeren F5 filmi ile kaplama sonucunda peynirlerdeki *E. coli* düzeyi, log 5.30 Kob/g olarak hesaplanmıştır. Bakteri üremesinin % 17 oranında inhibe edildiği bulunmuştur. Hesperidin ve % 20 oranında propolis içeren F6 filmiyle kaplama sonucunda *E. coli* düzeyi log 5.34 Kob/g olarak hesaplanmış ve % 16 oranında bakteri üremesinin engellediği görülmüştür. Hesperidin temelli hazırlanan üç farklı filmde de en iyi sonuç sadece hesperidin içeren film kaplamalarıyla elde edilmiştir. Hesperidin ile hazırlanan yenilenebilir antimikrobiyal film kaplamasıyla depolama sürecinin 5. gününde karoten içeren film uygulamalarına göre daha

yüksek bakteriyel inhibisyon etkisi elde edilmiştir.

Sadece %10 oranında propolis içeren F7 filmi ile kaplama sonucunda 5. Gün itibarıyla *E. coli* düzeyi log 5.39 Kob/g olarak saptanmıştır ve %15 oranında bakteri üremesinin inhibe edildiği görülmüştür. %20 oranında propolis içeren F8 film ile kaplama sonucunda ise *E. coli* düzeyi 3.94 Log Kob/g olarak tespit edilmiştir. En yüksek bakteri inhibisyonuna (%38) ulaşılmıştır. Potasyum sorbat içeren F9 filmi uygulandığında 5. günde *E. coli* düzeyi 5.26 Log Kob/g olarak tespit edilmiştir. %17 oranında inhibisyon sağlamıştır. 5. günde yapılan tüm ölçümler göz önüne alındığında *E. coli* üzerinde kısa sürede etki gösteren filmin %20 propolis ihtiva eden F8 filmi olduğu görülmüştür.

Depolamanın 10. gününde negatif kontrol grubunun *E.coli* düzeyi 5. güne göre artış göstererek log 7.24 Kob/g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Depolama sürecinin 5-10. günlerinde *E.coli* miktarında % 13 oranında artış meydana gelmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan F9 filmi ile peynir kaplama uygulamasında depolama sürecinin 5. ve 10. günlerinde benzer bakteri üreme inhibisyon sonuçları elde edilmiştir.

Peynirlerin antimikrobiyal filmlerle kaplamasından sonraki depolama sürecinin 10. günü ile 5. günü sonuçları kıyaslandığında, uygulanan tüm filmlerin (F1-F8) üremeyi inhibe etmeye devam ettiği görülmektedir. 5. güne oranla en fazla bakteri üremesini inhibe eden filmin, %5 β -karoten ve %20 propolis içeren, F3 filmi olduğu tespit edilmiştir ve %24 oranında üreme inhibisyon artışı sağlamıştır. 10. gün yapılan canlı hücre sayımı sonucunda F1, F2, F4, F5, F6, F7, F8 filmlerinin 5. gün sonuçlarına kıyasla sırasıyla %16, %17, %17, %6, %21, %20, %21 oranında bakteri üreme inhibisyon yüzdelerinin arttırdığı tespit edilmiştir. Propolis içeren F3, F6, F8 filmlerinin ikinci ölçümde daha fazla etki gösterdiği görülmektedir. İlk ölçümlerde F9 filmi, uygulanan diğer filmlere (F1 ve F8 hariç) benzer oranda bakteri inhibisyonu sağlarken yapılan 10. gün ölçümlerinde tüm filmler F9 filminden daha iyi üreme inhibisyonu sağlamıştır. Bu sonuç, antimikrobiyal maddelerin sentetik bir koruyucu olan potasyum sorbatla kıyaslandığında uzun vadede daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu durum antimikrobiyal maddelerin püskürtüldükleri yüzeyden yavaş yavaş difüze olup bakteri üremesini inhibe edebilme kapasitesi göstermeleriyle açıklanabilmektedir. Antimikrobiyal maddelerin uzun sürede daha fazla etki göstermesi, raf ömrü uzun olan ürünlere uygulanabilmesi açısından önemli bir sonuçtur. Fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil grupları bakteriler üzerinde inhibe edici etki göstermektedir (Shan B. vd. 2004). Bu gruplar, bakterilerin hücre zarı ile etkileşime girerek hücrelerin membran yapısını bozmakta ve hücresel bileşenlerin hücre dışına sızmasına neden

olmaktadır (Xue J. vd. 2013). Fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil grupları, proton değiştirici olarak hareket eden elektronların delokalizasyonuna ve bakteri hücrelerinin sitoplazmik zar üzerindeki eğilimini azaltmaya yardımcı olarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Gyawali R. ve İbrahim SA. 2014). Hidroksil gruplarının, mikroorganizmaların hücre metabolizmalarını değiştirerek enzimlerin aktif bölümünü kolayca bağlayabileceğini bildirmiştir. Bu durum, hidroksil gruplarının antimikrobiyal aktivitede önemini ortaya koymaktadır (Farag RS. vd. 1989). Fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil grupları aynı zamanda antioksidan etki de göstermektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin temizlenmesini sağlamakta, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemekte ve böylece gelişme ortamının redoks potansiyelini düşürmektedirler (Cueva C. vd. 2010).

Depolama sürecinin 15. gününde peynir yüzeyindeki *E. coli* düzeyi, 10. gün ile kıyaslandığında, *E.coli* üremesi antimikrobiyal madde içeren filmlerden tarafından inhibe etmeye devam ettiği görülmektedir. Negatif kontrol gruplarındaki bakteri düzeyi günlere bağlı olarak artmaktadır (Çizelge 4.3). %5 hesperidin ve %10 propolis içeren F5 filmi uygulamaları sonucunda %25 oranında bakteri inhibisyonunda artış tespit edilmiştir. 10. ve 15. gün bakteri düzeylerinin kıyaslanması sonucunda bakteri inhibisyonunda en yüksek artış bu sonuçla, F5 filmi uygulamalarında görülmüştür. F1 filmi %11, F2 filmi %5, F3 filmi %3, F4 filmi %17, F6 filmi %3, F7 filmi %11, F8 filmi ise %2 oranında bakteri üreme inhibisyonunda artışa neden olmuştur. Pozitif kontrol olarak kullanılan potasyum sorbat içeren filmlerin bakteri inhibisyon oranları depolama süreci boyunca benzer olmuştur. Negatif kontrol grubunda bakteri düzeyi zamana bağlı artış gösterirken tüm film kaplama uygulamalarında zamana bağlı olarak beyaz peynir üzerindeki bakteri yoğunluğu azalmıştır. En yüksek bakteri inhibisyon yüzdeleri propolis (%20) ve %5 Hesperidin içeren film kaplamalarında sırasıyla %59 ve %57 olmuştur. Gerek %10 gerekse %20 propolisin tek olarak püskürtüldüğü filmlerde yüksek oranlarda bakteri inhibisyonları elde edilmesine rağmen hesperidin ve karoten ile karışımları sonucunda yapılan uygulamalarda beklenen sinerjetik etki görülememiştir. Bu durum her bir antimikrobiyal maddenin karışım haline geldiğinde antimikrobiyal aktivitede görev yapan hidroksil gruplarının başkalaşması ile açıklanabilmektedir (Gyawali R. ve İbrahim SA. 2014).

4.3.2. *S.aureus* sayımı

Gıda mikrobiyolojisi yönünden *Staphylococcus* cinsi içindeki en önemli patojen tür *S. aureus*' dur. *S. aureus* suşlarının yaklaşık %50-70' i enterotoksin sentezleyebilmektedir. Süperantijenik yapıdaki *S. aureus* enterotoksinlerinin gelişmiş ülkelerdeki gıda

zehirlenmelerinin başlıca nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir (Erol İ. 2007). Malatya ilindeki yerel marketlerden alınan beyaz peynirler, *S. aureus* ile kontamine edilerek antimikrobiyal maddeler içeren selüloz bazlı yenilebilir filmler ile kaplanmıştır. 4 °C'deki depolama sürecinde SBY fimlerin *S.aureus* düzeyi üzerindeki etkisi 5 günde bir 15 gün boyunca test edilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak bakteri ile kontamine edilmiş ve film ile kaplanmamış peynirler kullanılmıştır. Sadece potasyum sorbat içeren selüloz bazlı yenilebilir film içeren F9 filmi ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Potasyum sorbat içeren F9 filmi uygulandığında 5. günde *S. aureus* düzeyi log 5.48 Kob/g olarak tespit edilmiş ve %13 oranında bakteri üreme inhibisyonu sağlamıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4: 4° C de depolama sırasında antimikrobiyal maddeler içeren SBY filmleri ile sarılı beyaz peynirdeki *S.aureus* (log kob/g) sayısı

	Depolama (gün)		
	5	10	15
Kontrol	6.30±0.64	7.27±0.54	7.25±0.16
F1	5.25±0.68	3.98±0.47	3.03±0.48
F2	5.36±0.45	4.76±0.58	4.48±0.33
F3	4.27±0.22	4.21±0.29	4.07±0.51
F4	4.74±0.43	3.64±0.49	3.28±0.28
F5	4.70±0.48	4.20±0.37	3.75±0.34
F6	5.01±0.56	4.64±0.25	4.46±0.29
F7	5.39±0.42	3.91±0.33	3.46±0.26
F8	5.36±0.51	3.86±0.45	3.04±0.40
F9	5.48±0.11	6.08±0.28	6.05±0.33

F1: SBYF + K (% 5 (a/h))

F2: SBYF + K (5% (a/h)) + P (10 % (a/h))

F3: SBYF + K (% 5 (a/h)) + P (% 20 (a/h))

F4: SBYF + H (% 5 (a/h))

F5: SBYF + H (% 5 (a/h)) + P (% 10 (a/h))

F6: SBYF + H (% 5 (a/h)) + P (% 20 (a/h))

F7: SBYF + P (% 10 (a/h))

F8: SBYF + P (% 20 (a/h))

F9: SBYF + PS (10 mg/g peynir)

Peynirlerdeki *S. aureus* düzeyinin genel olarak, tüm antimikrobiyal madde içeren film kaplamalarında kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). 5. gün yapılan ölçümlerde inoküle edilen *S.aureus* miktarı kontrol grubunda log 6.30 Kob/g olarak hesaplanmıştır. % 5 β-karoten içeren F1 filmi ile kaplanıldığında, 5.günde, kontrol grubuna göre % 17 oranında (Log 5.25 Kob/g) inhibisyon sağlanılmıştır. β-karoten ve % 10 Propolis ihtiva eden F2 filmiyle kaplama yapıldığında *S.aureus* düzeyi log 5.36 Kob/g olarak tespit edilmiş ve % 15 oranında bakteri üreme inhibisyonunu sağlamıştır. β-karoten ve % 20 oranında propolis bulunan F3 filmiyle kaplama sonucunda, 5. gün yapılan ölçümlerde,

S.aureus düzeyi log 4.27 Kob/g olarak saptanmış ve bakteri üremesi % 32 oranında inhibe edildiği hesaplanmıştır. Depolamanın 5. Gününde en yüksek bakteri inhibisyon yüzdesine F3 film kaplamalarında ulaşılmıştır. F3 film kaplamasının test edilen iki bakteri türü üzerindeki inhibisyon etkisi kıyaslandığında *S. aureus* düzeyini *E. coli*'ye göre %100 oranında daha fazla inhibe ettiği görülmüştür (5. gün sonuçlarına göre). Hesperidin bulunan F4 filminin, *S. aureus* düzeyi log 4.74 Kob/g olarak saptanmıştır. %24 oranında bakteri üreme inhibisyonuna ulaşılmıştır. %5 hesperidin ve %10 propolis içeren F5 film uygulamalarında *S. aureus* düzeyi log 4.70 Kob/g olarak tespit edilmiş ve F5 filminin bakteri üremesini inhibe ettiği oran %25'dir. F6 filmi ile kaplanan peynirlerdeki *S. aureus* düzeyi log 5.01 Kob/g olurken %20 oranında bakteri üremesinin engellediği görülmüştür. Sadece %10 oranında propolis içeren F7 film kaplamalarında bakteri düzeyi log 5.39 Kob/g olarak tespit edilmiş ve bakteri üreme inhibisyonu %14'dür. Suda çözünmeyen formda propolis içeren F8 film kaplamalarında ise *S. aureus* düzeyi log 5.36 Kob/g olarak saptanmıştır ve %15 oranında bakteri üremesi engellemiştir. Uygulanan tüm filmler (F1-F8) pozitif kontrol olarak kullanılan, potasyum sorbat içeren F9 filminden daha fazla bakteri üreme inhibisyonu sağlamıştır.

Depolama sürecinin ilk aşamasında, F3 filmi kaplamalarında kontrol grubuna kıyasla %32 oranında en yüksek bakteri üreme inhibisyonu elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Antimikrobiyal maddelerin bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri farklı olmaktadır. Selüloz bazlı yenilebilir film yüzeylerine püskürtülen dört farklı antimikrobiyal madde ayrı ayrı ya da karışımlar halinde kullanılmıştır. *S. aureus* ile kontamine edilen peynir örneklerinin bu farklı film kompozisyonları ile kaplanmaları sonucunda antimikrobiyal maddelerin karışım halinde de etkili olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* uygulamalarının aksine karışım halindeki antimikrobiyal maddeler kısa sürede *S. aureus* düzeyini indirgeyebilmişlerdir. Redoks potansiyelinin düşmesi, başta aerobikler olmak üzere birçok mikroorganizmanın gelişimini sınırlamaktadır. Bakteri inhibisyonunun membran bütünlüğünün bozulmasından, membranın seçici geçirgen yapısının zarar görmesi nedeni ile hücre içeriğinde (molekül ve iyonlar) kayıpların yaşanmasından, fenolik bileşiklerin hücre zarında hasara neden olmasından, hücrenin yaşamsal faaliyetlerinin (enerji üretimi, protein sentezi) yağdan zarar görmesinden kaynaklanabileceği iddia edilmektedir (Şengün İ.Y. ve Öztürk B. 2018)

10. gün yapılan ölçümlerde sadece bakteri inoküle edilmiş ve filmle kaplanmayan taze peynirlerdeki *S.aureus* miktarı, log 7.27 Kob/g olarak tespit edilmiştir. 5. gün

sonuçlarına kıyasla, *S.aureus* miktarında % 15 oranında artış meydana gelmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan F9 filmi 10. günde yapılan ölçümlerde bakteri inhibisyonuna % 10 oranında artışla devam etmiştir.

10. gün ile 5.gün kıyaslandığında uygulanan tüm filmlerin (F1-F8) bakteri üremesini inhibe etmeye devam ettiği görülmektedir. 5. güne oranla en fazla bakteri inhibisyon sağlayan filmin, % 20 propolis içeren F8 filmi olduğu görülmüş ve % 38 oranında inhibisyon yüzdesinde yükselme tespit edilmiştir. 5. güne oranla 10. Gün hesaplanan bakteri inhibisyon sonuçlarına göre, F1 filmi % 24, F2 filmi % 11, F3 filmi % 1, F4 filmi % 23, F5 filmi % 10, F6 filmi % 6, F7 filmi % 27 daha fazla bakteri üremesini inhibe ettiği görülmüştür.

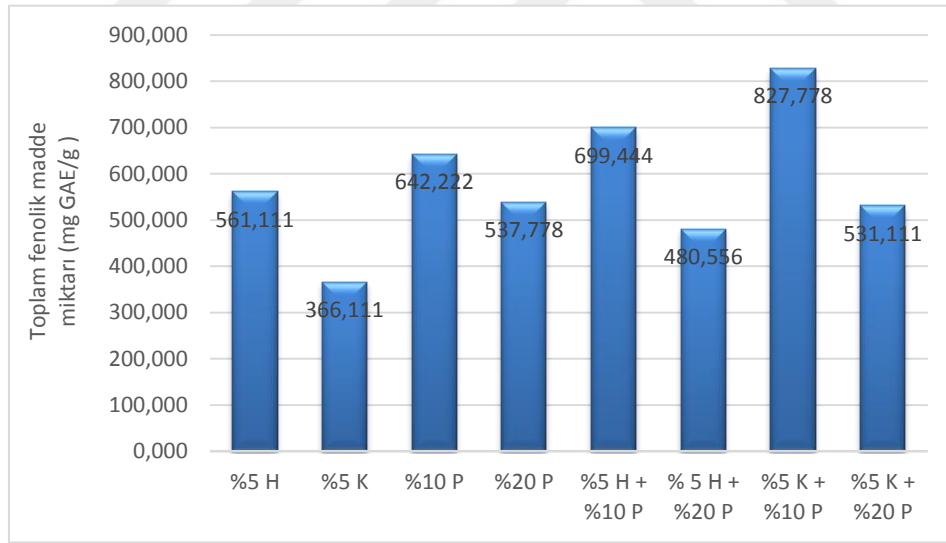
Depolamanın ileri süreçlerinde de (15. gün) uygulanan tüm filmlerin, *S.aureus* üremesini inhibe etmeye devam ettiği görülmektedir. % 5 β -karoten bulunan F1 filmi % 23 oranında bakteri üremesinde inhibisyon göstermeye devam etmiştir. 2.ve 3.yapılan ölçümler arasında en fazla etkiyi bu film göstermiştir. F2 filmi % 5, F3 filmi % 3, F4 filmi % 9, F5 filmi % 10, F6 filmi % 3, F7 filmi % 11, F8 filmi ise % 21 oranında bakteri üreme inhibisyonunu arttırmıştır. Filmle kaplanmayan ve negatif kontrol olarak sadece *S.aureus* inoküle edilen beyaz peynirdeki kontaminasyon 15 günlük süre boyunca artmaya devam etmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan potasyum sorbat içeren film kaplaması *S.aureus* düzeyini minimal düzeyde indirgebilmiştir. Kaplama yapılan diğer tüm filmler *S.aureus* üremesini inhibe etmiş ve zamana bağlı olarak beyaz peynirdeki bakteri yoğunluğu azalmıştır. β -karoten içeren F1 ve % 20 propolis içeren F8 filmleri, *S. aureus* düzeyi üzerinde kontrole oranla % 58 oranında azalma olmasını sağlamışlardır. Karoten ve % 20 propolis içeren film kaplama uygulaması depolama sürecinin başlangıç aşamasında hızlı bakteri üremesi inhibisyonuna sebep olurken bu etki depolama sürecinin ileri aşamalarında daha yüksek bir inhibisyon etkisine neden olamamıştır. Yüksek oranda fenolik madde içeren propolis çözeltilisinin hidroksil gruplarının başkalaşması ile açıklanabilmektedir (Gyawali R. ve İbrahim SA. 2014).

S. aureus'a uygulanan filmler kıyaslandığında 5. gün için en yüksek inhibisyon F3 filminde (%32) olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 5-15 günlük bekleme süreleri kıyaslandığında da F8 filmi, bekleme süresi arttıkça kontrol grubuna kıyasla en yüksek oranda (% 43) inhibisyon sağladığı gözlenmiştir. Gıda maddelerinde kullanılan potasyum sorbat içeren film (F9) kontrol grubuna oranla minimum oranda bakteri üreme inhibisyonu sağlamıştır.

Kaplama işlemlerinde oluşturulan farklı film kompozisyonlarının *E. coli* ve *S. aureus* düzeyleri üzerindeki indirgenme kapasiteleri benzer olmuştur. Ancak hesperidin püskürtülen filmlerin *E.coli* üremesi, karoten püskürtülen filmlerin de *S. aureus* üremesi üzerinde antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Heriki bakteri türünün üremesi de %20 propolis varlığında yüksek oranda ihhibe olmuştur (> % 50) Selülozik bazlı yenilebilir antimikrobiyal filmler, günümüzde koruyucu olarak kullanılan potasyum sorbattan daha fazla antimikrobiyal etki gösterip daha çok bakteri üreme inhibisyonu sağlamıştır.

4.3.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

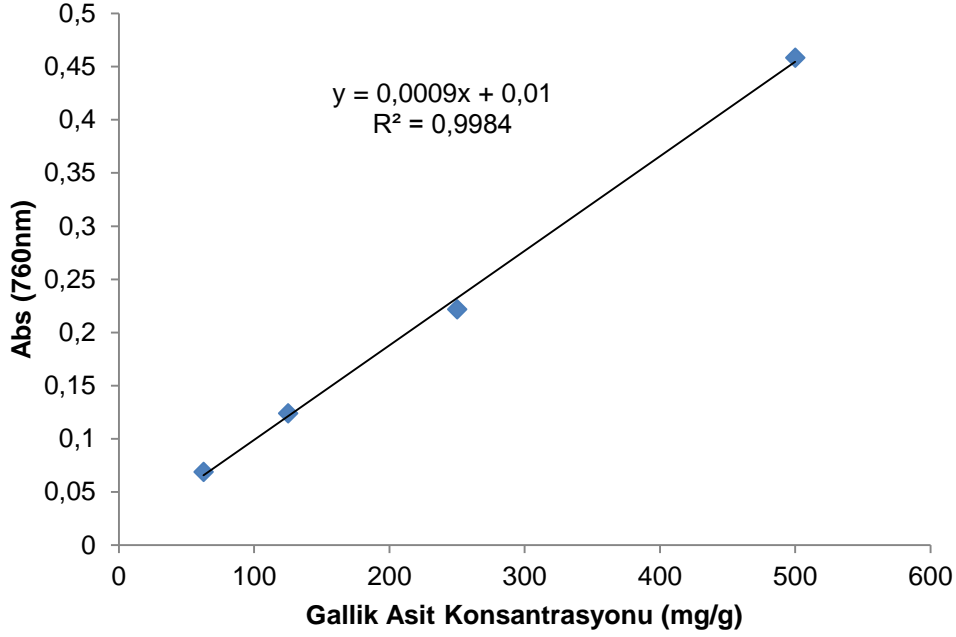
Baharatlarda antimikrobiyal etkiye sahip olan yağlar genellikle fenol bileşikleri içeren hidroksil grubudur ve önemli antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahiptir. Bu fenolik bileşikler hücre zarındaki fosfolipid tabakasını tahrip ederek bu katmanın geçirgenliğini artırır ve böylece hücre içindeki maddelerin hücreden daha kolay sızmasına veya bakterilerin enzim sistemini bozmasına yardımcı olur. Bu durumda mikroorganizma inhibisyonu meydana gelir ve böylece antimikrobiyal etki göstermiş olur (Moreira M.R. vd, 2008).



Şekil 4.3: Uygulanan maddelerin toplam fenolik madde miktarı

Filmlerde bileşen olarak kullanılan maddelerin toplam fenolik madde miktarları gallik asit kalibrasyonu ile hesaplanmıştır (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). β -karoten, hesperidin ve propolis maddeleri ayrı ayrı incelendiğinde; en fazla fenolik madde miktarını % 10'luk propolis çözeltisinin içerdiği tespit edilmiştir. Ancak karışım olarak incelendiğinde tek başına daha az fenolik madde içeren β -karoten maddesi %10'luk propolisle beraber

incelendiğinde en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. İki maddenin karışması, birbiri içerisinde çözünmesi, yüzey tutunma dereceleri fenolik madde salınımını etkilemektedir (Gujarati ve Damodar., 2008). F2 filminin komponentleri yüksek fenolik madde içermektedir ancak *E.coli* düzeyi üzerinde en yüksek inhibisyonu F4 ve F8 filmleri gösterirken, *S.aureus* düzeyi üzerinde ise F3 ve F8 en yüksek inhibisyonu göstermiştir.



Şekil 4.4: Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği

4.3.4. DPPH ile Antiosidan Tayini Sonuçları

Seri tüp dilisyon yöntemi sonrasında hesperidin, β -karoten ve propolis' in miktarları $\frac{1}{2}$ oranında azaltılarak tüplere dağıtılıp 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda metonele karşı okundu.

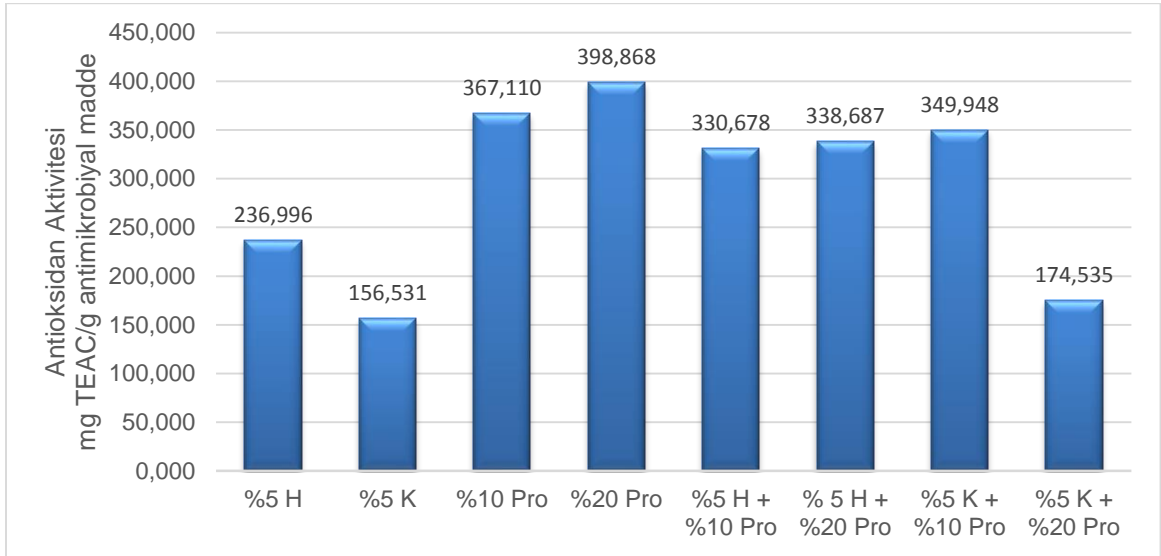
$$\% \text{ süpürme kapasite} = 1 - [A\ddot{O}/AK] \times 100$$

A \ddot{O} ₃₀: Örneğin 30. dakikadaki Absorbansı

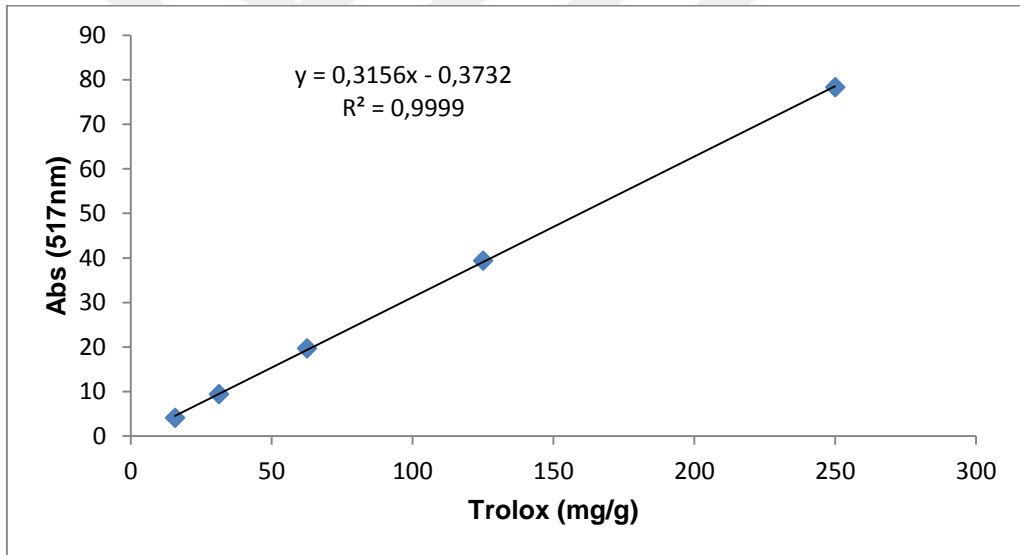
AK₃₀: Kontrolün 30. dakikadaki Absorbansı

Yukarıdaki formüle göre yapılan hesaplamalar şekil 4.5 ve 4.6'da verilmiştir. Test edilen materyaller arasında %20 propolis en fazla antioksidan özellik gösteren madde olmuştur. Bunun yanında propolis içeren karışımlar propolis içermeyen karışımlardan daha fazla antioksidan özellik göstermiştir. Propolisi yüksek oranda antioksidan kapasitesine sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarda raporlanmıştır (Kovalik, P.V. 1979; Russo, A. vd. 2004). Yapılan ölçüm sonuçları önceki çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Hesperidin ve β -karotenin de serbest radikalleri süpürme aktivitesi vardır ancak propolis ile kıyaslandığında

daha az süpürücü etkisi olduğu test edilmiştir.



Şekil 4.5: Uygulanan maddelerin antioksidan aktivitesi



Şekil 4.6: Trolox kalibrasyon grafiği

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Selüloz bazlı yenilebilir filmlerin uygulanmasıyla, süt endüstrisindeki önemli sorunlardan biri olan beyaz peynirde *E. coli* ve *S. aureus* kontaminasyonunun neden olduğu sorunlar, filme β -karoten, hesperidin ve propolis veya bu maddelerin karışımları eklenerek önlenabilir. Peynir üzerindeki *E.coli* yükünü hesperidin % 57 oranında, β -kroten % 48 oranında propolis ise % 59 oranında azaltmıştır. *S.aureus*'ta da benzer sonuçlar gözlenmiş, Hesperidin % 54, β -karoten %58, Propolis ise % 58 oranında peynirdeki kontamine yükü azalttığı, inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu gelişmiş paketlenme teknolojisi ile gıda güvenliği sağlanabilir, ürünün raf ömrü uzatılabilir ve bu sektördeki gıda kayıpları azaltılabilir. Ayrıca, dış yüzeydeki plastik ambalaj malzemesinin kalınlığı azaltılacağından, ambalaj atığı miktarı azaltılacak ve çevre kirliliği bir ölçüde önlenecektir.

KAYNAKLAR

- A.M. Youssef, S.M. El-Sayed, H.S. El-Sayed, H.H. Salama, F.M. Assem, M.H. Abd El-Salam (2018) Novel bionanocomposite materials used for packaging skimmed milk acid coagulated cheese (Karish) *Int J Biol Macromol*, 115, pp. 1002-1011.
- Abeyasinghe, D. C., Li, X., Sun, C., Zhang, W., Zhou, C., Chen, K., (2007) Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrusfruit of four species, *Food chemistry*, 104 (4): 1338-1344.
- Acta Scientiarum Polonorum, *Technologia Alimentaria.*, 17 (1) (2018), pp. 37-49
- Aldemir, Ö. (2013). Balık filetolarının kaplanması salça üretim atıklarının kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli
- Alexander, C. (2007). Propolis: creating a buzz as a natural preservative. *Food Engineering & Ingredients*, 32(2), 9–11.
- Aly, S. A., & Elewa, N. A. (2007). The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *J Dairy Res*, 74(1), 74-78.
- Appendini, P.; Hotchkiss, J.H. (2002) Review of antimicrobial food packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 3, 113–126.
- Balkan E., Karameşe M., Çelebi D., Aydoğdu S., Dicle Y., Çalık Z.. (2016). The Determinations of the antibacterial activities of Rose, Thyme, Centaury and Ozaone Oils Against Some Pathogenic Microorganism. *Kafkas J Med Sci*; 6(1):18–22 • doi: 10.5505/kjms.2016.87587
- Behrens J. H., Barcellos M. N., Frewer L. J., Nunes T. P., Landgraf M., (2009). Brazilian Consumer Views on Food Irradiation. *Innov Food Sci Emerg*, 10 (3): 383-389.
- Beresford. T., and Williams A. Cheese: Chemistry, physics and microbiology, Vol. 1, Elsevier, London (2004), pp. 287-318
- Bergdoll MS. (1989) *Staphylococcus aureus*. In, Doyle MP (Ed): Foodborne bacterial pathogens. Pp. 463-523, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Bernardi, S., Fávaro-Trindade, C. S., Trindade, M. A., Balieiro, J. C. D. C., Cavenaghi, A. D., & CONTRERAS-CASTILLO, C. J. (2013). Italian-type salami with propolis as antioxidant. *Ital J Food Sci*, 25(4).
- Brown, R. (1989). Hive products: pollen, propolis and royal jelly. *Bee world*, 70, 109- 117.
- Carrique-Mas JJ, Bryant JE. (2013) A review of foodborne bacterial and parasitic zoonoses in Vietnam. *Eco Health.*; 10: 465-489.
- Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmion, B. P and Swain, R., H., A., "Medical Microbioloji", *The practise of Medical Microbiyology*. Vol 2. 12th. ed. (1975).
- Cueva C, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bills G, Vicenta MF, Basilio A, Rivas CL, Requena T, Rodriguez JM, Bartolomé B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res Microbiol*; 161(5): 372-382 /

- Çağrı, A., Üstünoğlu, Z., Ryser, E.T., (2001) “Antimicrobial, Mechanical, and Moisture Barrier Properties of Low pH Whey Protein-based Edible Films Containing p-Aminobenzoic or Sorbic Acids”, *Food Microbiology and Safety*, Vol. 66(6), pp. 865-870.
- Çetinkaya F., Soyutemiz E. G. (2005). Microbiological and Chemical Changes throughout the Manufacture and Ripening of Kashar: a Traditional Turkish Cheese. *Turk J Vet Anim Sci*, 30: 374-404.
- Davis, G. and Song, J.H., (2006). Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Ind Crops Prod*, 23 (2): 147- 161.
- Debeaufort, F., Gallo, J.A.Q., Voilley, A., (1998). Edible films and coatings: tomorrow’s packagings: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 38(4): 299-313.
- Del-Valle V., Hernandez-Munoz P., Guarda P. A., Galotto M., (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*, 91: 751–756.
- Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhini, G., Banu. M.S., (2012) “Edible films from Polysaccharides”, *Food Science and Quality Management*, Vol.3.
- Di Pierro P., Sorrentino A., Mariniello L., Giosafatto C. V. L., Porta R. (2011). Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. *Lwt-Food Sci Technol*, 44: 2324-2327.
- Diab, T., Biliaderis, C.G.; Gerasopoulos, D.; Sfakiotakis, E. (2001). Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 988–1000.
- Dobrucka, R., (2013). The Future of Active and Intelligent Packaging Industry. *Int. J. Logist. Manag.* 9 (2): 103-110.
- Erlund, I.; Meririnne, E.; Alftan, G.; Aro, A. (2001): “Plasma Kinetics and Urinary Excretion of the Flavanones Naringenin and Hesperetin in Humans After Ingestion of Orange Juice and Grapefruit Juice”, *Nutr. J.*, 131 235-241
- Erol, İ., (2007), Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara.
- Farag RS, Daw ZY, Hewedi FM, El-Baroty GSA. (1989) Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J Food Prot*; 52(9): 665-667
- Fiengbaum A., Riquet A.M. and Ducruet V., (1993). Safety and quality of foodstuffs in contact with plastic materials, *J. Chem. Educ.*, 70 (11), 883-885.
- Fişekci, B., (2013). Lor Peynirinin Raf Ömrü Üzerine Modifiye Atmosfer Paketlemenin ve CO₂ Uygulamasının Etkilerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Isparta.
- Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., Debeaufort, F. (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. *Innov Food Sci Emerg*, 16, 148-154.
- Garnier, L., Valence, F., Mounier, J. (2017). Diversity and Control of Spoilage Fungi in Dairy Products: An Update, *Microorganisms*, Vol.5, doi: 10.3390/microorganisms5030042,
- Gennadios A., Weller C. L. (1991). Edible film and coatings from soymilk and soyprotein. *Cereal Foods World*, 36 (1): 46-47.

- Ghisalberti, E.L. (1979). Propolis: a review. *Bee World*, 60: 59-84.
- Girard, P., Falconnier, B., Bricout, J, Vladescu, B. (1994). Carotene Producing Mutants of *Phaffia rhodozyma*, *Appl Microbiol Biot*, 41: 183–191.
- Golfo Moatsou, Ekaterini Moschopoulou, Antigoni Beka, Paraskevi Tsermoula. (2015). Effect of natamycin-containing coating on the evolution of biochemical and microbiological parameters during the ripening and storage of ovine hard-Gruyere-type cheese. *Int. Dairy J.* 50: 1-4
- Gujarati, Damodar (çev. Ümit Şenesen, Gülay Günlük Şenesen). (2008). Temel Ekonometri, Literatür Yayınları ISBN 975-7860-99-9.
- Gunes G., Deniz Tekin M., (2006). Consumer Awareness and Acceptance of Irradiated Foods: Results of a Survey Conducted on Turkish Consumers *Lwt-Food Sci Technol*, 39 (4): 444-448.
- Güney, F., (2016). Bazı propolis özütlerinin meyveli yoğurtların biyokimyasal, fizikokimyasal ve raf ömrü üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Güven K, Mutlu M B, Gulbandılar A, Cakır P. (2010) Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *J Food Safety*; 30: 196-212.
- Gyawali R, Ibrahim SA. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*; 46: 412-429).
- H. Moustafa, A.M. Youssef, N.A. Darwish, A.I. Abou-Kandil. (2019). Eco-friendly polymer composites for green packaging: Future vision and challenges *Composites Part B*, 172 pp. 16-25.
- Han, J. H., (2000). Antimicrobial food packaging. *Food Technol.*, 54 (3): 56-65.
- Hollman, P.C.H.; Katan, M.B. (1997): “Absorption, Metabolism and Health Effects of Dietary Flavonoids in Man”, *Biomed & Pharmacother*, 51 305-310 *Int. J. Bus. Manag.*, 4 (8): 132-141.
- Işık H., Dağhan Ş., Gökmen S. (2013). Gıda Endüstrisinde Kullanılan Yenilebilir Kaplamalar Üzerine Bir Araştırma. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8 (1): 26-35.
- Janjarasskul, T., Krochta, J.M. (2010). “Edible Packaging Materials”, *Annu Rev Food Sci T.* Vol. 1, pp. 415-448,
- Jensen H. H., (2006). Consumer Issues and Demand. *Choices*, 21 (3): 165-169.
- Jian-xin, G., Hai-ying, C., & Zhao-yun, L., (2011). The Influence of Propolis on Bifidobacteria And Lactobacillus in Yogurt. *Chinese Journal of Disinfection*. 2011-02.
- Junqueira Gonçalves M. P., Galotto M. J., Valenzuela X., Dinten C. M., Aguirre P., Miltz J., (2011). Perception and View of Consumers on Food Irradiation and the Radura Symbol. *Radiat. Phys. Chem.*, 80 (1): 119-122.
- Karagöz S., Demirdöven A., (2017). Gıda Ambalajlamada Güncel Uygulamalar: Modifiye Atmosfer, Aktif, Akıllı ve Nanoteknolojik Ambalajlama Uygulamaları. *Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research*. 146-8168.
- Katalinić, V., Radić, S., Ropac, D., Mulić, R., & Katalinić, A. (2004). Antioxidative activity of propolis from Dalmatia (Croatia). *Acta medica Croatica: casopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti*, 58(5), 373-376.

- Kaya H. I., (2013). Alteration of Attitude Toward GM Foods of Urban Consumer Depending Geographical Regions in Turkey. *Ijcebs*, 1 (1): 47-51.
- Khurshid Z., Naseem M. ve Zhaib S. (2017). Propolis: A natural biomaterial for dental and oral halthcare. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects*.
- Kılınççeker, O., Doğan, İ.S., Küçüköner, E. (2009). Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillet. *Lwt-Food Sci Technol*, 42, 868- 873.
- Koc, A. N., Silici, S., Mutlu-Sariguzel, F., & Sagdic, O. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technol*.
- Kovalik, P.V. (1979): The use of propolis in the treatment of patients with chronic fungal sinusitis. *Vestnik otorindaringologii* No.6, 60-62. 18.
- Laroche M., Bergeron J., Barbaro-Forleo G., (2001). Targeting Consumers who are Willing to Pay More for Environmentally Friendly Products. *J Consum Mark*, 18 (6): 503-520.
- Lavieri, N., Williams, S.K., (2014). Effects of Packaging Systems and Fat Concentrations on Microbiology Sensory and Physical Properties of Ground Beef Stored at 4 ± 1 °C For 25 Days. *Meat Science*, 97 (4): 534–54.
- Lee J. Y., Parka H. J., Lee C. Y., Choi W. Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Lwt-Food Sci Technol*, 36: 323-329.
- Lee, H., Min, S.C. (2014). Development of antimicrobial defatted soybean meal-based edible films incorporating the lactoperoxidase system by heat pressing. *J. Food Eng.*, 120, 183-190
- Lopez-Rubio A, Almenar E, Hernandez-Munoz P, Lagaron JM, Catala R, Gavara R. (2004) Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. *Food Rev Int.*; 20(4):357-87).
- Maclowry, J.D., Jaqua, M. J., Selepak, S.T., (1970). “Detailed Methodology and Implementation of a Semiautomated Serial Dilution Microtechnique for Antimicrobial Susceptibility Testing”, *American Society for Microbiology*. Vol. 20 (1), pp. 46-53.
- Macone, A. B., Pier, G. B., Pennington, J. E., Matthews, W. J. And Goldman, D. A., “Mucoid *Escherichia coli* in cystic fibrosis”. *New England J. Med.*, 304, 1445-1449 (1981).
- Marsh K, Bugusu B. (2007) Food packaging-roles, materials, and environmental issues. *J Food Sci.*;72(3):39-55).
- Mata-Gomez LC., Montanez JC., Mendez-Zavala A., Aguilar CN., (2014) Biotechnological Production of Carotenoids by Yeasts: an overwiev. *Microb Cell Fact*.
- Miura, Y., Kondo, K., Saito, T., Shimada, H., Fraser, P, Misawa, N., (1998). Production of the Carotenoids Lycopene, carotene, and Astaxanhin in the Food Yeast *Candida utilis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 1226–1229.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., Valle, C.E., Roura, S.I., (2005) “Inhibitory Parameters Of Essential Oils To Reduce Reduce A Food Born Pathogen”, *Lwt-Food Sci Technol*, Vol. 38(5), pp. 565-570.

- Möller, H., Grelier, S., Pardon, P., Coma, V., (2004) “Antimicrobial and Physicochemical Properties of Chitosan–HPMC-Based Films”, *J. Agric. Food Chem*, Vol. 52, pp. 6585–6591,
- N.A. Al-Tayyar, A.M. Youssef, R. Al-Hindi (2020). Antimicrobial food packaging based on sustainable Bio-based materials for reducing foodborne Pathogens: A review *Food Chemistry*, 310 Article 125915.
- Özdemir C., Demirci M. (2006). Selected microbiological properties of kashar cheese samples preserved with potassium sorbate. *Int. J. Food Prop.*, 9: 515- 521.
- Özdemir M, Floros JD. (2004). Active food packaging technologies. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 44:185-193.
- Pal, M., Mulu, S., Tekle, M., Pintoo, S.V., Prajapati, J.P., (2016) “Bacterial Contamination of Dairy Products”, *Beverage & Food World*, Vol. 43(9), pp.40-43
- Pamela L, Rinemann D, Kathryn H, (2008). The Effect of Milking Management on Microbial Quality Presented at XII. Curso. Novas Enfoques Na produçose reproduced de Bovinos, Uberlandia, Brazil.
- Parreidt TS., Müller K., Schmid M. (2018) Alginate-Based Edible Films and Coating for Food Packaging Applications. *Foods*, 7,170; doi:10.3390/foods7100170
- Pavlat, A.E., Orts, W., (2009). Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.
- Pereira De Abreu, D.A., Cruz, J.M., Losada, P.P., (2012). Active and Intelligent Packaging for The Food Industry. *Food Rev. Int.* 28: 146–187.
- Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, and Teixeira P. (2009) Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiol*; 26: 278-82.
- Petersen, K., Væggemose Nielsen P., Bertelsen G., Lawther M., Olsen M. B., Nilsson N.H., Mortensen, G., (1999). Potential of biobased materials for food packing. *Trends Food sci. Technol.* 10(2), 52-68.
- Pinar Kaynak, (2011). Ülkemiz Peynirleri Üzerine Mikrobiyolojik Araştırmalar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 41(1):1-8, 2011 doi:10.5222/TMCD.2011.001
- Quintavalla, S., Vicini, L., (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62 (3): 373-380.
- Rashid N. A., (2009). Awareness of Eco-Label in Malaysia's Green Marketing Initiative, *Int. J. Bus. Manag.* Vol 4 no.8. 2009.
- Raybaudi-Massilia R. M., Mosqueda-Melgar J., Martín-Belloso O. (2008). Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon *Int. J. Food Microbiol.*, 121: 313-327.
- Restuccia D., Spizzirri U.G., Parisi O.I., Cirillo G., Curcio M., Iemma F., Puoci F., Vinci G. ve Picci N., (2010). New EU Regulation Aspects and Global Market of Active and Intelligent Packaging for Food Industry Applications. *Food Control*, 21 (11): 1425-1435.
- Risch, S.J., (2000) New developments in packaging materials. In Food Packaging; *J. Am. Chem. Soc.*: Washington, DC, USA; Volume 753, pp. 1–7,

- Robertson G. L., (2006). Active and Intelligent Packaging. Food packaging: Principles and Practice, edn. Boca Raton, Fl. 13: 115-133.
- Ronteltap A., van Trijp J. C. M., Renes R. J., Frewer L. J., (2007). Consumer Acceptance of Technology-Based Food Innovations: Lessons for the Future of Nutrigenomics. *Appetite*, 49 (1): 1-17.
- Russo, A.; Cardile, V.; Sanchez, F.; Troncoso, N.; Vanella, A.; Garbarino, J.A (2004): Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. *Life Sciences* 76 (5), pp. 545–558.
- S. El-Shibiny, M.A. Abd El-Gawad, F.M. Assem, S.M. El-Sayed. (2018) The use of nanosized eggshell powder for calcium fortification of cow’s and buffalo’s milk yogurt. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 17(1) 2018, 37–49
- S.M. El-Sayed (2020) Use of spinach powder as functional ingredient in the manufacture of UF-Soft cheese *Heliyon*, 6 (1) Article e03278
- Salık. Y. (2019). Alyssum Floribundum Boiss. & Balansa (Brassicaceae) Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans tezi.
- Santos Pires, A.C., Soares, N.F.F., Andrade, N.J., Silva, L.H.M., “Camilloto G.P., Bernardes PC. (2008) Development And Evaluation Of Active Packaging For Sliced Mozzarella Preservation”, *Packag Technol Sci*, Vol. 21, pp. 375-383,
- Sarıkuş G. (2006). Farklı antimikrobiyal maddeler içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyal inaktivasyona etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 69 s, Isparta.
- Sarıoğlu T., Öner Z. (2006). Yenilebilir filmlerin kaşar peynirinin kaplanmasında kullanılma olanakları ve peynir kalitesi üzerine etkileri. *Gıda*, 31 (1): 3-10.
- Sayanjali S., Ghanbarzadeh B., Ghiassifar S.(2011) Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic *Aspergillus* species in fresh pistachios. *Lebensm. Wiss. Technol.* 2011; 44: 1133-1138
- Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem*, 53(20), 7749-7759. doi:10.1021/jf051513y
- Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Hubinger, M.D., Roques, M.A. (2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocoll.*, 15, 423-432.
- Stivertsvik, M., Rosnes, J.T., Bergslien, H., (2002). Modified Atmosphere Packaging. Minimal Processing Technologies, Ohlsson T., Bengtsson N. (ed). Woodhead Publishing, 282.
- Şengün, İ.Y., Öztürk, B., (2018). Bitkisel kaynaklı bazı doğal antimikrobiyaller, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C-Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7, 256-276)
- Temiz H., Yeşilsu, A.F. (2006). Bitkisel protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (2), 41-50.
- The World Bank. Chapter 3 Waste Generation. Available online: <https://siteresources.worldbank.org/INTURBANDEVELOPMENT/Resources/336387-1334852610766/Chap3.pdf> (accessed on 18 September 2018)

- Torlak E., Nizamoglu M. (2009). Doğal antimikrobiyal maddeler ile hazırlanan yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri. *Vet. Bil. Derg.* 25 (1-2): 15-217.
- Tural S., Sarıcaoğlu FT., Turhan S. (2017). Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Üretimleri, Uygulama Yöntemleri, Fonksiyonları ve Kaslı Gıdalarda Kullanımları. *Akademik Gıda* 15(1) (2017) 84-94. A review.
- Uçan, F., Mercimek, H.A. (2013). Gıda endüstrisinde kitosan filmlerin önemi. *Turkish JAF Sci.Tech*, 1(2), 79-85.
- Uğur Y. (2014) Aktif ve Akıllı Ambalajlama Teknolojilerine Tüketici Bakışının Regresyon Ağacı ve Çoklu Uyum Analizi Tekniğiyle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Üçüncü, M., (2011). Aktif Ambalajlama Teknolojisi ve Akıllı Ambalajlar. Gıda Ambalajlanma Teknolojisi. Karakter Color A.Ş. İstanbul, Turkey, 789-839.
- Üstünoğlu, Z., (2009). Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p
- V. Sirocchi, F. Devlieghere, N. Peelman, G. Sagratini, F. Maggi, S. Vittori, *et al.* (2017) Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat *Food chemistry*, 221, pp. 1069-1076).
- Varela P, Fiszman SM (2011) Hydrocolloids in fried foods. A review. *Food Hydrocol.*, 25: 1801-1812.
- Xue J, Davidson PM, Zhong Q. (2013) Thymol nanoemulsified by whey protein-maltodextrin conjugates: The enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol. *J Agric Food Chem*; 61(51): 12720-12726
- Yang, F. L., Dang, Y. G., & Zhu, Y. N. (2009). Research on the preservative effect of propolis on yogurt. *J. Shaanxi Normal Univ. Nat. Sci. Ed.* (6), 10.
- Yangılar F. ve Yıldız P.O. (2016) Casein/natamycin edible films efficiency for controlling mould growth and on microbiological, chemical and sensory properties during the ripening of kashar cheese. *J Sci Food Agr*;96: 2328-2336
- Yıldız O.P., Yangılar F., (2016). Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıda Endüstrisinde Kullanımı: Derleme. *BEU Journal of Science* 5(1),27-35.
- Yılmaz L, Akpınar Bayazit A, Özcan Yılsay T (2007). Süt proteinlerinin yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1: 59-64.
- Yiğit V. ve Evranos O., (1978), Gıda ambalajlanmasında kullanılan plastikler üzerine araştırmalar, Tubitak, Marmara bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü Beslenme ve Gıda Tekn. Ünitesi, Yayın No:29.
- Yucel, B., Topal, E., & Kosoğlu, M., (2017). Bee products as functional food-an overview of their processing and utilization. Prof. Naofumi Shiomi (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/65477.
- Zhong Y., Cavender G., Zhao Y. (2014). Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese. *LWT-Food Science and Technol.* 56: 1-8.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Fırat ATEŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 1993 / DİYARBAKIR
E-posta : fraaddates@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2015, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
- **Yüksek Lisans** : 2020, İnönü Üniversitesi, Biyoloji, Biyoteknoloji

MESLEKİ DENEYİM:

- **Ege Üniversitesi-Tıp Fakültesi**, 2012, Moleküler Tıp Laboratuvarı, Stajyer
- **Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi**, 2014, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Stajyer
- **Dicle Üniversitesi-Veteriner Fakültesi**, 2016, Parazitoloji Laboratuvarı, Stajyer
- **Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi**, 2017, Genetik Laboratuvarı, Stajyer
- **Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi**, 2018,
Laboratuvar sorumlusu

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN ÇALIŞMALAR (Makaller, Bildiriler, Patentler v.b.)