

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

**NATAMİSİN İÇEREN ALJİNAT VE ZEİN FİLMLEİNİN
HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE KAŞAR
PEYNİRİNİN RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ**

GÖKCE SARITAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2017

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Gökçe SARITAŞ tarafından hazırlanan ve Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE danışmanlığında yürütülen “ Natamisin İçeren Aljinat ve Zein Filmlerinin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Kaşar Peynirinin Raf Ömrü Üzerine Etkisi ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27 / 07 / 2017 tarihinde oy birliği / oy çokluğu Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE
Deniz Bil. ve Tek. Müh. Bölümü, Ordu Üniversitesi

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE
Deniz Bil. ve Tek. Müh. Bölümü, Ordu Üniversitesi İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Işıl BARUTÇU MAZI
Gıda Mühendisliği, Ordu Üniversitesi İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Kemal ŞEN
Gıda Mühendisliği, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 24./08/2017. tarih ve 2017../392 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

25./08/2017..



Enstitü Müdürü Y.

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sami GÜLER

(Handwritten signature)

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Gökce SARITAŞ

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

NATAMİSİN İÇEREN ALJİNAT VE ZEİN FİLMLEİNİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE KAŞAR PEYNİRİNİN RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Gökce SARITAŞ

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2017
Yüksek Lisans Tezi, 83s.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE

Bu çalışmanın amacı, kaşar peynirinde küflenme problemini sınırlandırma/engelleme amaçlı olarak doğal bir antimikrobiyal olan natamisin içeren polisakkarit (aljinat) ve protein (zein) bazlı biyofilmlerin geliştirilmesidir. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein esaslı yenilebilir filmlerin antifungal etkileri model mikroorganizma olarak seçilen *Aspergillus niger* (*A. niger*) ve *Penicillium camemberti* (*P. camemberti*) kullanılarak agar disk difüzyon metoduyla belirlenmiştir. Mekanik özellikleri, nem tutma kapasiteleri, filmlerin kesit yapısı ve yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Son olarak filmlerin kaşar peynirinin raf ömrüne etkisi *Aspergillus niger* ve *Penicillium camemberti* küfleri test mikroorganizmaları kullanılarak buzdolabı sıcaklığında 45 gün depolama süresi boyunca araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, natamisin konsantrasyonunun artmasıyla her iki test organizmasına karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığını; ancak *A. niger* ve *P. camemberti* küflerine karşı aljinat filmlerinin, zein filmlerine kıyasla daha geniş inhibisyon zonları oluşturduğu tespit edilmiştir. Zein filmlerine ait gerilme dirençleri, kopma anında uzama yüzdesi ve elastik modülü değerlerinin aljinat filmlerinden daha zayıf olduğu tespit edilmiştir. En yüksek gerilme direnci ve elastik modülü 40 mg natamisin içeren aljinat filmlerde, en yüksek kopma anındaki uzama yüzdesi ise 2 mg natamisin içeren aljinat filmlerde gözlemlenmiştir. Aljinat filmlerin nem tutma kapasiteleri zein filmlerine göre daha yüksektir ve en yüksek nem tutma kapasitesi 20 mg natamisin içeren aljinat filmlerde gözlemlenmiştir. SEM analizi sonucunda aljinat film örneklerinin zein filmlere kıyasla daha düzenli bir yapıya sahip olduğu ve düşük konsantrasyonda natamisinin aljinat filmleri içerisinde daha homojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir. 45 günlük depolama süreci sonunda kaşar peynirlerindeki küf yükleri incelendiğinde, yüksek konsantrasyonlarda natamisin bulunduran zein filmlerinin aljinat filmlere kıyasla her iki test organizmasına karşı daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiş ve bu nedenle kaşar peyniri ambalajlamasında daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında ekonomik, çevre dostu, doğal ve sağlıklı bir ambalaj elde edilebileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Aljinat, Antimikrobiyal, Kaşar peyniri, Küf, Natamisin, Zein.

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ALGINATE AND ZEIN FILMS CONTAINING NATAMYCIN AND INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS ON THE SHELF LIFE OF KASHAR CHEESE

Gökçe SARITAŞ

University of Ordu

Institute for Graduate Studies in Science and Technology

Department of Food Engineering, 2017

MSc. Thesis, 83p.

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hasan TÜRE

The aim of this study was to develop polysaccharide (alginate) and protein (zein) based biofilms containing natamycin, a natural antimicrobial, in order to limit or prevent the common molding issue in kashar cheeses. Using disk diffusion method, the antifungal effects of alginate and zein based edible films containing natamycin were determined over the selected model microorganisms; *Aspergillus niger* (*A. niger*) and *Penicillium camemberti* (*P. camemberti*). The mechanical properties, water holding capacities, cross sectional and surface morphologies were screened using a scanning electron microscope (SEM). Finally, the effects of films on the shelf life of kashar cheeses inoculated with *A. niger* and *P. camemberti* were investigated through their storage under refrigerator conditions for 45 days. The results indicated that as the natamycin concentration increased the antifungal activity increased against both microorganisms, however, alginate films were found to create wider inhibition zones than the zein films against both *A. niger* and *P. camemberti*. The tensile strength, the percent elongation at break and the elastic modulus values of the zein films were found to be weaker than the alginate films. The highest tensile strength and elastic modulus were observed in alginate films containing 40 mg natamycin while the highest elongation percentage at break was determined in alginate films containing 2 mg natamycin. The moisture retention capacities of the alginate films were higher than those of the zein films and the highest moisture retention capacity was observed in alginate films containing 20 mg natamycin. The SEM micrographs showed that the alginate film specimens had a more regular/organized structure compared to the zein films and a more homogeneous distribution of natamycin in alginate films at lower concentrations. At high natamycin concentrations, zein films were found to show better antimicrobial activity against both test fungi compared to the alginate films at the end of the 45 days of storage. Hence, zein films were regarded as a better option for cheese packaging. It has been shown that economic, environmental friendly, natural and healthy packaging can be obtained in the light of findings obtained in this study.

Keywords: Alginate, Antimicrobial, Kashar cheese, Mold, Natamycin, Zein.

TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın temelini atan ve kendisiyle çalışmaktan mutlu olduğum, tez çalışmamın her aşamasında bilgileriyle beni yönlendiren ve bana her konuda destek olan sevgili danışman hocam, Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRE'ye en içten teşekkür ve saygılarımı sunuyorum.

Çalışmalarında sundukları imkanlarından ve yardımlarından dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Bekir Gökçen MAZI'ya,

Yüksek Lisans tezi jüri üyeleri; Sayın Yrd. Doç. Dr. Işıl BARUTÇU MAZI'ya ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Kemal ŞEN'e yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda buldukları için teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca tüm aşamasında tezimin daha iyi hale gelmesini sağlayan, bilgileriyle bana her türlü desteği olan, varlığından ötürü sevgili hocam, Araş Gör. Ömer Faruk ÇELİK'e

Ordu Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü araştırma görevlilerine teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Son olarak; bu zorlu ve uzun süreçte beni sürekli motive eden hayatımın geri kalan sürecinde bana yol arkadaşı olacak Aytaç KÜÇÜK'e, hayatım boyunca tarifi olmayan fedakarlıkta bulunan ve ideallerimi gerçekleştirmemde her zaman yanımda olan canım annem Ayşe SARITAŞ'a, canım babam Hasan SARITAŞ'a ve abim Gökhan SARITAŞ'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum. Bu çalışmamı onlara armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
ÇİZELGELER LİSTESİ	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Aktif Ambalajlama.....	4
2.2. Yenilebilir Ambalajlama ve Özellikleri.....	5
2.3. Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	7
2.3.1. Yenilebilir Polisakkarit Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	8
2.3.1.1. Aljinat Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	10
2.3.2. Yenilebilir Lipit Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar	11
2.3.3. Yenilebilir Protein Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	12
2.3.3.1. Zein Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	15
2.3.4. Kompozit Yenilebilir Filmler.....	16
2.4. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Katkı Maddeleri.....	17
2.4.1. Plastikleştiriciler.....	17
2.4.2. Solventler.....	18
2.4.3. Emülsifiye Edici Maddeler ve Sürfaktanlar.....	18
2.4.4. Antioksidan Maddeler	18
2.4.5. Antimikrobiyal Maddeler	20
2.4.5.1. Kimyasal Antimikrobiyal Maddeler.....	20
2.4.5.2. Doğal Antimikrobiyal Maddeler.....	21

-	Natamisin.....	22
2.5.	Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıdalarda Uygulama Yöntemleri.....	24
2.5.1.	Daldırma Yöntemi.....	25
2.5.2.	Püskürtme Yöntemi.....	25
2.5.3.	Dökme Yöntemi.....	25
2.5.4.	Damlatma Yöntemi.....	25
2.5.5.	Köpükleme Yöntemi.....	26
2.6.	Yenilebilir Ambalajlamanın Avantajları ve Dezavantajları.....	26
2.7.	Antimikrobiyal Madde İçeren Ambalajlama Yöntemleri.....	27
2.8.	Antimikrobiyal Ambalajlamaların Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	28
2.8.1.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu Testi (MİK).....	29
2.8.2.	Sallanan Erlen Testi.....	29
2.8.3.	Agar Difüzyon Testi.....	29
2.9.	Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıda Uygulamaları.....	30
2.9.1.	Aljinat Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalarla İlgili Çalışmalar.....	32
2.9.2.	Zein Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalarla İlgili Çalışmalar.....	34
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1.	Materyal	36
3.2.	Yöntem	36
3.2.1.	Mikroorganizmaların Mikrobiyal Büyüme Koşulları ve Kültürleri	36
3.2.2.	Küf Sporlarının Hazırlanması	36
3.2.3.	Biyopolimer Esaslı Filmlerin Hazırlanması	37
3.2.3.1.	Zein Film.....	37
3.2.3.2.	Aljinat Film.....	38
3.2.4.	Natamisin İçeren Antimikrobiyal Filmlerin Hazırlanması.....	38
3.2.5.	Natamisin İçeren Filmlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi.....	39
3.2.6.	Film Kalınlığı	39
3.2.7.	Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	39

3.2.8.	Toplam Nem Miktarının Belirlenmesi.....	40
3.2.9.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi.....	40
3.2.10.	Natamisin İçeren Filmlerin Gıda Uygulamaları.....	40
3.2.10.1.	Örneklerin Hazırlanması ve İnokülüm.....	41
3.2.10.2.	Mikrobiyolojik Analiz.....	41
3.2.11.	İstatiksel Değerlendirme.....	41
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	42
4.1.	Natamisin İçeren Zein ve Aljinat Yenilebilir Filmlerinin Antimikrobiyal Özellikleri.....	42
4.2.	Antimikrobiyal Filmlerin Fiziksel ve Mekanik Özellikler.....	47
4.2.1.	Filmlerin Kalınlıklarının Ölçülmesi.....	47
4.2.2.	Filmlerin Mekanik Özellikleri.....	48
4.2.3.	Toplam Nem Miktarının Ölçülmesi.....	50
4.3.	Filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojisi.....	52
4.4.	Farklı Konsantrasyonlarda Natamisin İçeren Zein Filmin Kaşar Peyniri Üzerine Uygulaması.....	54
4.5.	Farklı Konsantrasyonlarda Natamisin İçeren Aljinat Filmin Kaşar Peyniri Üzerine Uygulaması	59
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	65
6.	KAYNAKLAR.....	69
	ÖZGEÇMİŞ.....	82

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Zein filmlerin hazırlanışı.....	37
Şekil 3.2.	Aljinat filmlerin hazırlanışı.....	38
Şekil 4.1.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin <i>A. niger</i> ve <i>P.camemberti</i> mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	43
Şekil 4.2.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin <i>A. niger</i> ve <i>P.camemberti</i> mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	45
Şekil 4.3.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein filmlerinin SEM mikroskobunda görüntülenen yüzey ve kesit yapıları.....	53
Şekil 4.4.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>A. niger</i> populasyonu üzerine etkileri.....	56
Şekil 4.5.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>P. camemberti</i> populasyonu üzerine etkileri.....	58
Şekil 4.6.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>A. niger</i> populasyonu üzerine etkileri.....	61
Şekil 4.7.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>P. camemberti</i> populasyonu üzerine etkileri.....	63
Şekil 4.8.	Natamisin içermeyen aljinat kontrol filmlerinin <i>P. camemberti</i> inoküle edilmiş kaşar peyniri üzerine depolama boyunca etkisi.....	63

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1.	Yenilebilir film ve kaplamalara eklenen kimyasal antimikrobiyaller	21
Çizelge 2.2.	Yenilebilir film ve kaplamalara eklenen doğal antimikrobiyaller	22
Çizelge 3.1.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmlerin hazırlanışı.....	39
Çizelge 4.1.	<i>A. niger</i> ve <i>P. camemberti</i> mikroorganizmalarına karşı farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerin oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	42
Çizelge 4.2.	<i>A. niger</i> ve <i>P. camemberti</i> mikroorganizmalarına karşı farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerin oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	44
Çizelge 4.3.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein filmlerin kalınlık ölçümleri ve mekanik özellikleri.....	48
Çizelge 4.4.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin ilave edilen zein ve aljinat filmlerin yapısında bulunan toplam nem miktarları (%)......	49
Çizelge 4.5.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>A. niger</i> populasyonu (log kob/g) üzerine etkileri.....	55
Çizelge 4.6.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>P. camemberti</i> populasyonu (log kob/g) üzerine etkileri	57
Çizelge 4.7.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>A. niger</i> populasyonu (log kob/g) üzerine etkileri.....	60
Çizelge 4.8.	Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki <i>P. camemberti</i> populasyonu (log kob/g) üzerine etkiler.....	62

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADI	: Günlük Alınması Gereken Miktar
ASTM	: American Standart Test Methods
BHA	: Bütilendirilmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütilendirilmiş Hidroksitolüen
cm	: Santimetre
CMC	: Karboksi Metil Selüloz
CO ₂	: Karbondioksit
DRBC	: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
EB	: Uzama Yüzdesi
EC	: European Community
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EM	: Elastik Modülü
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
g	: gram
GRAS	: Genel Olarak Güvenilir/Zararsız Kabul Edilen
HPC	: Hidroksipropil Selüloz
HPMC	: Hidroksipropil Metil Selüloz
kob	: Koloni Oluşturan Birim
MC	: Metil Selüloz
Mg	: Miligram
NA	: Natamisin
nm	: Nanometre
O ₂	: Oksijen
Pa	: Kısmi Pasmaç

PDA	: Potato Dextrose Agar
pH	: Power of Hydrogen
ppm	: Milyonda Bir Birim
PVA	: Polivinil Asetat
rpm	: Dakikada Dönüş Sayısı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
sn	: Saniye
TBHQ	: Tersiyer Bütil Hidroksi Kinon
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TS	: Gerilim Direnci
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole
WG	: Buğday Gluteni
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
WPI	: Peynir Altı Suyu Protein İzolatı

1. GİRİŞ

Dünya nüfusundaki artışın tersine doğal kaynakların gün geçtikçe azalması, teknolojideki ilerlemeler ve hızlı yaşam şartları insanları beslenme ve gıda konusunda farklı arayışlara yöneltmiştir. Hazırlanması kolay, tüketime hazır, daha az işlem görmüş, doğal ve organik gıdalara olan talep artmıştır. Günümüzde bir taraftan bitkilerin genetik modifikasyonlar yoluyla zararlılara ve iklim koşullarına karşı direncini, diğer taraftan ise gıdaların raf ömrünü ve besin değerini artırmak için yeni işleme ve muhafaza yöntemleri geliştirilmektedir. Böylece verimi/üretimi artırma ve mevcut kaynakları korumanın yanında üretilen ürünlerin kalite kayıplarını önleyerek uzun süreli muhafazaları amaçlanmaktadır. Bu yöntemlerden biri de aktif ambalajlamadır. Aktif ambalajlama, ürünü dış faktörlerden korumada bariyer olarak kullanılan ambalaj materyaline ekstra özellikler kazandırılması olarak tanımlanmaktadır. Aktif ambalajlamanın uygulamalarından biri de antioksidanlar, antimikrobiyaller, vitaminler, renklendiriciler, tatlandırıcılar gibi farklı gıda katkı maddeleri içeren yenilebilir film ve kaplamaların gıdaların yüzeylerine uygulanmasıdır (Han, 2000).

Yenilebilir film ve kaplamalar; bir gıdanın yüzeyi üzerinde oluşturulmuş ince tabakalı, gıdayla birlikte yenilebilen, sentetik olmayıp doğal kaynaklardan elde edilen çevre dostu malzemelerdir. Yenilebilir film/kaplama malzemelerinin kullanımı gıda ürünleri için gereken paketleme malzemesini basitleştirme ve azaltmayı mümkün kıldığı gibi, plastiklerle yapılan gıda ambalajlamasının ciddi sorunları olan kanserojen riski ve çevre kirliliğini azaltma potansiyeline sahiptir. Bu ihtiyaçlar doğrultusunda özellikle 2000'li yıllarda yenilebilir film ve kaplamalardaki gelişmeler oldukça hız kazanmıştır. Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında temelde hidrokolloidler (protein ve polisakkarit) ve lipitler kullanılırken, bunların kombinasyonlarından elde edilen kompozit filmlerden de yararlanmak mümkündür (Dursun ve Erkan, 2009).

İyi kalitede bir yenilebilir filmde; duyu özellikler (şeffaf, tatsız ve kokusuz) yanında filmin sahip olduğu bariyer özellikleri (nem, oksijen geçirgenlikleri), gıda ile film ve/veya atmosfer ile film arasında gerçekleşebilecek fiziksel ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı kararlı yapıda olması, sağlık açısından güvenilir, çevreyle dost ve

düşük maliyetli olması önemlidir. Bu nedenlerden dolayı yenilebilir film ve kaplamalarda genellikle nişasta, selüloz ve türevleri, gamlar (guar, keçiyoynuzu gamı, karragenan, pektinler ve diğer türevleri) ve kitin/kitosanın, aljinatın içinde yer aldığı polisakkarit esaslı ürünlerden yararlanılmaktadır (Sarıküş, 2006).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda sıklıkla kullanılan yenilebilir film ve kaplamaların başında kahverengi deniz yosunlarından elde edilen polisakkarit bazlı aljin, aljinik asit ve aljinatlar gelmektedir (Rhim, 2004; Norajit ve ark., 2010). Aljinatlardan elde edilen film ve kaplamalar, düşük su içeriğine rağmen esnek ve güçlü bir film yapısına sahiptir. Ambalaj materyali olarak kullanıldığında gıdanın nem kaybını önlemekte ve lipid oksidasyonu ile artan acılaşmayı azaltmaktadır. (Moe ve ark., 1995; Fabra ve ark., 2008a; Fabra ve ark., 2008b). Ayrıca doğal olarak elde edilmesi aljinata hem çevre dostu olarak hem de ekonomik yönden değer kazandırmaktadır. Protein bazlı film ve kaplamalarda hayvansal olarak kazein, peynir altı suyu, kollajen ve jelatin; bitkisel olarak ise zein (mısır), soya ve gluten daha fazla tercih edilmektedir. Yapılan araştırmalarda bitkisel olup gıda materyali olarak toleransı yüksek olan zein filmi çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Zein filmi iyi bir nem bariyeri özelliği sergilemektedir. Birçok çalışmada esnekliğini geliştirmek için zein filmine plastikleştirici maddeler (organik asit, gliserol, şekerler vb.) eklenmesi yoluyla filmde meydana gelen kopmaların önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Zein, tatların yayılmasında ya da maskelenmesinde kontrol amacıyla da kullanılmıştır (Gennadios ve ark., 1994). Sert kabuklu ürünlerde, ürün üzerindeki antioksidanları sabitleştirerek oksitadif acılaşma, bayatlama ve nemlenmeyi önlemede olumlu etki yapmıştır (Gennadios ve Weller, 1990). Farklı özellikteki yenilebilir film ve kaplamaların pek çok farklı gıdaya etkin bir şekilde uygulandığı yapılan çalışmalarla gösterilmiş olup antimikrobiyal madde ilaveli yenilebilir filmlerin de gıdalardaki mikrobiyal yükü azaltarak gıda güvenliğini sağlama, kalite kayıplarını azaltma ve raf ömrünü uzatma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Quintavalla ve Vicini, 2002).

Süt ürünlerinde küf ve mayaları engellemek amacıyla genellikle benzoik asit ve tuzları, dehidro asetik asit, hegzametilen tetramin, CO₂, hidrojen peroksit, nitratlar, p- hidroksibenzoik asit esterleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte kimyasal yapıdaki bu antimikrobiyaller gıdayla birlikte tüketildiğinden gıdalarda kullanım miktarları

sınırlandırılmıştır. Ayrıca, çevreye verdikleri zarar da düşünüldüğünde son yıllarda doğal antimikrobiyallerin kullanımındaki artışın nedeni daha iyi anlaşılmaktadır. Süt ürünlerinde doğal antimikrobiyallerden olan natamisin (E-235) kullanımı oldukça yaygındır. *Streptomyces natalensis*'den elde edilen natamisin "Genel olarak güvenilir/zararsız kabul edilen" (GRAS) doğal bir bakteriyosin olup düşük dozlarda bile küf ve mayalara karşı oldukça etkilidir (Struyk ve ark., 1957-58). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından izin verilen günlük kullanım miktarı 0,3 mg/kg'dır. Son yıllarda özellikle peynirde küf gelişimini önlemek amacıyla natamisin kullanımı oldukça yaygınlaşmaktadır (Elayedath ve Barringer, 2002).

Kaşar peyniri ülkemizde beyaz peynirden sonra en fazla üretilen ve tüketiciler tarafından oldukça fazla tercih edilen bir süt ürünüdür. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2014 yılında toplam 593.200 ton peynir ve lor üretilmiştir ve bunun 167.675 tonunu kaşar peyniri oluşturmuştur (Anonim, 2016). Üretimin sonrasında özellikle uygun olmayan olgunlaşma ve depolama koşullarından dolayı yüzeyde küflenme problemine kaşar peynirinde oldukça sık rastlanmaktadır. Küflenme sonucunda önemli ekonomik kayıplar yanında ve küflü peynirlerin tüketimi halinde ciddi sağlık sorunları da ortaya çıkabilmektedir (Topal, 1987).

Bu çalışmada, süt ürünleri işletmelerinde ve evlerde sıklıkla karşılaşılan kaşar peynirinde küflenme problemini sınırlandırma/engelleme amaçlı olarak doğal bir antimikrobiyal olan natamisin ilave edilerek polisakkarit (aljinat) ve protein (zein) bazlı biyofilmler geliştirilmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren filmlerin antifungal etkileri model mikroorganizma olarak seçilen *Aspergillus niger* ve *Penicillium camemberti* kullanılarak agar disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde filmlerin mekanik (gerilme kuvveti, elastikiyet modülü, kopma noktası) ve nem tutma kapasiteleri belirlenerek gıda ambalajlamasına uygunlukları değerlendirilmiştir. Bu bölümde ayrıca, filmlerin kesit yapısı ve yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Çalışmanın son bölümünde ise filmlerin kaşar peynirinin raf ömrüne etkisi *Aspergillus niger* ve *Penicillium camemberti* küfleri model mikroorganizmalar kullanılarak buzdolabı sıcaklığında 45 gün süre ile test edilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Aktif Ambalajlama

Teknolojik gelişmelerdeki ivmeyle birlikte yaşam da hız kazanmış ve bu durum insanların yeme alışkanlıklarını da etkilemiştir. Tüketiciler son yıllarda beslenme ihtiyaçlarını hazır gıdalardan karşılama eğiliminde olup yemek pişirme ve hazırlama için zaman kaybetmek istememektedirler. Hazır gıdalara ilişkin artan bu talepler neticesinde araştırmacılar, gıda ambalajlarını bu eğilimlere göre şekillendirme ve ambalaj fonksiyonlarını geliştirme doğrultusunda çalışmalara yönelmişlerdir (Kerry ve ark., 2006). Geleneksel ambalajlama yöntemlerinde gıdanın bozulmasına neden olan ısı, nem, ışık, oksijen, basınç, enzimler, mikroorganizmalar ve böcekler inert konumdadır. Bu nedenle, bu tip ambalajlarda gıda ile ambalaj arasındaki etkileşim oldukça sınırlı olup dış etmenlerden korumanın ötesine geçememektedir (Restuccia ve ark., 2010). Hızla gelişen teknoloji, tüketicinin pratik gıda tüketimi anlayışı ve geleneksel ambalajlardaki bahsedilen sınırlamalar aktif ambalaj yöntemlerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Brody, 2005).

Aktif ambalajlar, gıdayı sadece dış etmenlerden korumakla kalmayıp gıda ile ambalaj arasındaki etkileşimi sağlayarak raf ömrünü artıran, duyuşal, fiziksel ve mikrobiyolojik özelliklerini iyileştiren bir muhafaza yöntemidir. Aktif ambalajlama, 1935/2004/EC sayılı Avrupa Birliği yönetmeliğinde; gıdanın raf ömrünü artırmak ve kalitesini yükseltmek amacıyla ambalajda kullanılan materyaller olarak tanımlanmıştır. Bu materyaller, küçük paketler halinde veya ambalaj film ve kaplamaya doğrudan ilave edilerek kullanılabilir. Küçük paketler halinde kullanılması tüketicinin yanlışlıkla veya bilgi eksikliğinden dolayı bu malzemeleri tüketebilmesi açısından risk oluşturabilmektedir. Bu nedenle materyallerin, ambalaj film ve kaplamalara doğrudan ilave edilerek kullanılmasının daha avantajlı olduğu düşünülmektedir. Bu ilave özellikler sayesinde ambalajlanmış ürüne daha uzun süre dayanım, daha iyi koruma koşulları ve daha yüksek kalite gibi özellikler kazandırılmaktadır. Bunlar arasında; oksijen ve etilen tutucu, karbondioksiti tutan veya salan, nem tutucu veya düzenleyen, antimikrobiyal aktiviteye sahip ambalajlar ile, antioksidan salan, aroma ve koku maddelerini absorbe eden veya salan biyolojik olarak çözünen ambalajlar bulunmaktadır (Floros ve ark., 1997).

2.2. Yenilebilir Ambalajlama ve Özellikleri

Dünyada artan nüfusla beraber gıda tüketiminin artması neticesinde bir taraftan ürünün kalitesinin korunması diğer taraftan ise çevreye olan zararı azaltmak amacıyla biyolojik olarak bozunuma uğrayan, gıda ile birlikte tüketilebilen, yenilebilir film ve kaplamalar üzerine yapılan çalışmalar yaygınlaşmaktadır.

Yenilebilir film ve kaplamalar; bir gıdanın yüzeyi üzerinde oluşturulmuş ince tabakalı, gıdayla birlikte yenilebilen sentetik olmayıp doğal kaynaklardan elde edilen çevre dostu materyallerdir (Işık ve ark., 2013). Yenilebilir film ve kaplama maddelerin kullanımı gıda ürünleri için paketlenme materyalini basitleştirme ve azaltmayı sağladığı gibi, plastiklerle yapılan gıda materyalinin doğayı kirletme ve insan sağlığı açısından kanserojen olma riskini ortadan kaldırmaktadır (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997). Yapılan çalışmalarda farklı özellikteki yenilebilir film ve kaplamaların birçok farklı gıdaya etkin bir şekilde uygulandığı gösterilmiştir (Işık ve ark., 2013).

Gıda ürünlerinde yenilebilir film ve kaplama kullanımı çok eski yıllara dayanmaktadır. Çin'de 12. ve 13. yüzyıllarda narenciye meyvelerin su kaybını engellemek amacıyla kullanılan vaksların (balmumu) ilk yenilebilir film ve kaplamalardan olduğu belirtilmektedir (Yener, 2007). Japonya'da 15. yüzyılda kaynamış soya sütünden elde edilerek bazı gıdaların görünüşünü ve muhafazasını geliştirmek için Yuba isminde ilk film üretilmiştir (Çağrı, 2002). 16. yüzyılda Avrupa'da et yüzeyleri, nem kaybını azaltmak ve oluşan fiziksel özellikleri iyileştirmek için yağ ile kaplanmıştır. 19. yüzyıllarda yağın jelatin kaplaması yapılmıştır (Kester ve Fennema, 1986). 19. yüzyılda sert kabuklu kuruyemişlerin muhafazası sırasındaki ransidite ve oksidasyonun önlenmesi için yenilebilir koruyucu bir kaplama olarak ilk kez sükröz kullanılmıştır (Çağrı, 2002). 1930'dan beri kullanılan yağ ve vakslardan yapılan emülsiyonlar, yenilebilir film ve kaplamaların önemli uygulamalarındandır. Bu emülsiyonlar sayesinde, meyvelerin fiziksel özellikleri ve görünüşleri korunmakta, fungusitlerin taşınması önlenmekte, olgunlaşmanın kontrolü sağlanmakta ve nem kaybı azaltılmaktadır (Debeaufort ve ark., 1998). Özellikle 2000'li yıllarda yenilebilir film ve kaplamalara yönelik araştırmalar oldukça hız kazanmıştır.

Yenilebilir film ve kaplamalar; gıdanın tüketimi sırasında olumsuz bir etki yaratmaması için kokusuz, saydam, renksiz, berrak ve gıda maddesiyle uyum içerisinde olmalıdır (Kandemir, 2006) Filmler genellikle dış etmenlere karşı dayanıklı ve esnek olmalıdırlar (Dainellia ve ark., 2008).

Kester ve Fennema, (1986), yaptığı çalışmasında yenilebilir film ve kaplamaların fonksiyonel özelliklerini şu şekilde belirlemişlerdir:

- Nem geçişini yavaşlatması veya nem bariyeri olma,
- Gaz (oksijen, karbondioksit, uçucu aroma bileşenleri ve su buharı) transferine izin vermeli veya yavaşlatmalı,
- Yağ transferinin yavaşlatılması veya çözünürlüğü,
- Çözücü aktarımının yavaşlatılması,
- Gıdanın mekaniksel işleme özelliklerinin artırılması,
- Tüketici kabulü için gerekli olan aroma, lezzet, besinsel ve organoleptik özellikleri dengede tutan bileşenlerin yapısal bütünlüğünü oluşturarak kayıpların önlenmesi,
- Kontaminasyon, haşere istilası, mikroorganizmaların çoğalması ve diğer dış etmenlere karşı korurken biyokimyasal ve mikrobiyal yüzey kararlılığını da sağlamalı,
- Çeşni, koku, renklendirici, besleyici öğeler ve vitaminler gibi arzu edilen gıda katkı maddelerini taşıyıcı özellik göstermelidir.

Özellikle yenilebilir film ve kaplamalar; yasal talepler, güvenlik ve gıdaya uygun ambalaj fonksiyonunu karşılamalıdır. Ambalaj materyali toksik ve alerjik olmamalı ve aynı zamanda kolay sindirilebilir bileşenleri içermelidir. Son ve çok önemli olarak yenilebilir film ve kaplamalar kolayca üretilebilmeli ve ekonomik açıdan uygulanabilir olmalıdır (Baker ve ark., 1994; Pavlath ve Orts, 2009).

İyi kalitede yenilebilir film ve kaplama materyali üretimi için bazı koşulları sağlaması gerekmektedir. Öncelikle; ambalaj materyalinde kullanılan hammaddenin herkes tarafından güvenilirliği kabul edilmiş (GRAS) olmalı, ürün solunumuna yavaş ve kontrollü olarak izin verilmedir. Uygulanan modifiye atmosfer ile ürün

bileşimindeki gaz içeriği uyumlu olmalıdır ve böylece olgunlaşma prosesini düzenleyerek raf ömrünü uzatmalıdır. Ayrıca, yapısal bütünlük sağlamalı ve mekanik özelliklerini geliştirmelidir. Ambalaj materyallerinin içerisine ilave edilen gıda katkı maddeleriyle birleştirici görev yapmalı bununla beraber mikrobiyel yükü ve bozulmayı raf ömrü boyunca engellemeli veya azaltmalıdır (Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdalara uygulanırken önemli görevlerinden biri de nem göçüdür. Çünkü her bir gıda için kritik su aktivitesi bulunmaktadır. Gıdanın su aktivitesindeki değişimler gıda ve gıdanın içerisindeki ortamla ilişkilidir. Gıdalardaki nem tutma kapasiteleri, tazeliği, mikrobiyolojik gelişimi kontrol altında tutmak ve iyi bir görünüm sağlamak için önemlidir (Krochta ve De Mulder Johnston, 1997).

2.3. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Yenilebilir film ve kaplamaların formülasyonunu oluşturan doğal kaynaklı polimerler; Sarıkuş, (2006), tarafından aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır. Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında ana madde olarak hidrokolloidler (protein ve polisakkarit), lipidler ve kompozitlerden (hidrokolloid+lipid) yararlanılmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamalar, biyolojik kaynaklı polimer yapılarına göre polisakkaritler, yağlar ve proteinler olarak 3 kısımda sınıflandırılabilir:

A- Polisakkaritler

- Nişasta (patates, buğday ve diğer türevleri)
- Selüloz (pamuk, odun ve diğer türevleri)
- Gamlar (guar, keçiboynuzu gamı, karragenan, pektinler ve diğer türevleri)
- Kitin/Kitosan
- Aljinat

B- Yağlar

- Çapraz bağlı trigliseridler, Yağ asitleri
- Vakslar/Mumlar
- Hayvansal ve bitkisel yağlar

C- Proteinler

- Hayvansal (kazein, peynir altı suyu, kollajen, jelatin vb.)
- Bitkisel (zein, soya, gluten vb.)

2.3.1. Yenilebilir Polisakkarit Bazlı Film ve Kaplamalar

Yenilebilir polisakkarit bazlı film ve kaplamalar; aljinat, kitin/kitosan, pektin, agar, karregan, selüloz türevleri, nişasta ve hidrolizatları, dekstran gibi maddelerden oluşmaktadır.

Polisakkaritler suda çözünebilen ve molekül ağırlığı yüksek olan hidrokolloidlerdir. Birçok polisakkaritin hidrofilik yapısından dolayı filmlerde nem tutma kapasitesi yüzeyde gerçekleşir. Bundan dolayı çok iyi fiziksel nem geçişini engelleyemezler (Ali ve ark., 1997; Anonim, 2001). Polisakkarit film ve kaplamaların önemli avantajı; yapısal kararlılıkları ve oksijen transferini azaltmalarındadır. Polisakkarit bazlı film ve kaplamaların parlaklık ve karakteristik çözünürlüklerine sahip olduğu yapılan araştırmalarda görülmüştür (Nieto, 2009). Bu film ve kaplamalar karbondioksit ve oksijen geçirgenliği nedeniyle anaerobik ortam oluşturmadan istenilen modifiye atmosfer koşullarını oluşturarak gıdanın raf ömrünü uzatabilmektedir.

Bazı polisakkarit film ve kaplamalar, lipid ve diğer gıda bileşenleriyle beraber oksidasyona karşı ortak koruma da sağlamaktadır (Baldwin ve ark., 1995; Banker, 1966; Gontard ve ark., 1996). Polisakkarit bazlı film ve kaplamalar, iyi bir nem bariyeri olmamasına rağmen, bu film ve kaplamalar, gıdalardan nem kaybını geciktiren ajanlar görevindedir (Bourtoom, 2008; Dursun ve Erkan, 2009).

Kitosan bazı eklem bacaklıların kabuklarında, bakteri ve mantarların hücre duvarlarında bulunan kitinin (β -(1-4)-poli-N-asetil-D glukozamin) asetilendirilmesi yoluyla elde edilen bir polimerdir (Duman ve Şenel, 2004). Toksik ve alerjik olmamasının yanında biyobozunur ve ekonomiktir. Kitosanın gıda ambalajlamasında en önemli kullanım şekli film olarak, özellikle sebze ve meyvelerin raf ömrünü ve kalitesini artırması şeklindedir. Kitosan bazlı film ve kaplamalar iyi bir oksijen bariyeri olması yanında çevresiyle arasında nem transferini ve sıcaklığı kontrol altında tutmaktadır. Kitosan film ve kaplamalar, et ve su ürünlerinin güvenliğini ve raf ömrünü korumada başarılı bir materyal olarak kullanılmaktadır (Crackel ve ark.,

1988; Tsai ve ark., 2002; Sathivel, 2005; Gomez-Esteca ve ark., 2007; Kim ve ark., 2007; Yılmaz ve ark., 2007).

Karagenan; kırmızı deniz yosunlarının (Rhodophyceae) bazı türlerinden su ekstraksiyonuyla elde edilen bir polimerdir. Gıda teknolojisinde kullanılan karagenan bazlı film ve kaplamalar; kappa-(κ), iota-(ι) ve lambda-(λ) polimerlerinden üretilmektedir. Karagenan, büyük veya küçük molekül yapısı gösterir. Fareler üzerinde yapılan araştırmalarda küçük molekülü karagenan farelerin bağırsak fonksiyonlarını olumsuz etkilediğinden gıda sanayisinde kullanılan karagenanın büyük molekülü olması tercih edilmektedir (Çakmakçı ve Çelik, 2004). Karagenan, bazı polisakkaritlerin birleşimi olmakla beraber gıda teknolojisinde jelleştirme, kıvam artırma ve gıdaların vizkozitelerini iyileştirmede kullanılır. Gıda uygulamalarında kullanılan karagenan film ve kaplamalar ise tavuk ürünleri ile balıkların raf ömrünü ve kalitesini artırmak için kullanılmaktadır (Pearce ve Lavers, 1949; Meyer ve ark., 1959; Nisperos-Carriedo, 1994; Baldwin ve ark., 1995; Çakmakçı ve Çelik, 2004).

Pektinler, bitki hücrelerinin orta lamellerinden bulunan polisakkaritlerdir. Pektinlerin metil ester içeriği ile farklılaşarak çözünürlük ve jelleşme özellikleri değişmektedir. Pektin bazlı film ve kaplamaların düşük nemli gıdalarda kullanıldığı fakat çok iyi bir nem bariyeri olmadığı belirlenmiştir. Biftek parçaları kalsiyum pektinat jel ile kaplandığında büzülme azalttığı ve bakteriyel gelişimi yavaşlattığı görülmüştür (Gennadios, 2002). Fındıklarda kullanılan düşük metoksilli pektin kaplamalar ise yapışkanlığı azaltıp görünüşü iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır (Baldwin ve ark., 1995).

Film ve kaplamaların hazırlanmasında çok yaygın olarak kullanılan ham materyal nişasta ile selüloz ve derivatlarıdır. Selüloz derivatları; CMC (E466, karboksi metil selüloz), MC (E461, metil selüloz), HPMC (E464, hidroksi propil metil selüloz) ya da HPC (E463, hidroksi propil selüloz) olarak kullanılmaktadır (Skurtys ve ark., 2010). Selüloz derivatları, polimer zincir sayesinde yenilebilir film ve kaplamaları suda çözünen, lipidlere dirençli ve esnek yapmak için uygulanmaktadır (Baldwin ve ark., 1995). Metilselüloz (MC), selülozun metilklorid ile tepkimeye girdikten sonra alkali ile reaksiyonu sonucu oluşan selüloz derivatıdır (Dursun ve Erkan, 2009). MC

ve HPMC soğuk suda çözünerek etlerin kaplamalarında pişirme sırasındaki besinsel kaybı minimuma indirmekte, dondurulmuş cips ve soğanların kızartmalarında yağ alımını düşürmekte, tavuk ürünleri ve su ürünlerinde glazing (ince buz ile kaplama) olarak kullanıldığında nem kaybını azaltmaktadır. CMC ise muz, elma ve portakal gibi meyvelerde oksijen ve karbondioksit geçişine izin vermeyerek bariyer görevi yapmaktadır (Saldamlı, 1985; Kester ve Fennema,1986; Gennadios, 2002; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997).

Dekstran; D-glukopiranosil birimlerinin glikozit bağlarının farklı dizilişleri ve miktarlarıyla oluşan mikrobiyal gamlardır. Genel olarak *Leuconostoc mesenteroides* ve *Leuconostoc dextranum* sükröz fermentasyonu ile dekstran biyosentezinde görevli mikroorganizmalardır. Dekstranlar, depolama sırasında koruyucu kaplama olarak sıvı solüsyon veya dispersiyon şeklinde parça etlere, sosis, pastırma gibi kırmızı et ürünlerine ve soyulmamış karidese, balıklara uygulanmaktadır (Gennadios ve ark., 1997).

2.3.1.1. Aljinat Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Araştırmalarda, kahverengi deniz yosunlarının alkali ile reaksiyona girmesiyle elde edilen aljinatlar, gıda endüstrisinde ve endüstriyel alanda birçok uygulamalarda kullanılan hidrokolloidlerdendir. Aljinatlar, *Phaeophyceae* sınıfından ekstrakte (izole) edilen linear D-mannuronik ve L-guluronik asit monomerlerinin aljinik asit tuzudur (Sanderson, 1981; Lu ve ark., 2009). *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyerborea*, *Laminaria digitata* ve *Ascorphyllum nodosum* türlerinden elde edilmektedir. ABD, İngiltere, Fransa, İspanya, Norveç, Kanada ve Japonya gibi ülkelerde aljinat üretimi yapılmaktadır (Gombotz ve ark., 1998).

Aljinatlar suda çözünen polisakkaritlerdir. Formülasyonunda; R-D-mannuronate (M) ve a-L-guluronate (G) asit birimlerinden oluşup (1-4)-bağlantılı farklı pozisyonlarda ve zincirin farklı yerlerinde bulunurlar. M ve G birimlerinin kimyasal birleşimi ve dizilişleri yosunun ne kadar olgunlaştığına ve biyolojik kaynağına göre değişmektedir (King, 1983). Aljinat bazlı yenilebilir film ve kaplamalar uzun zamanlardan beri birçok gıda ürünlerinin ambalajlanmasında kullanılmaya devam etmektedir. Gıda ürünlerinde nem kaybını önlemekten ziyade lipid oksidasyonu ile ortaya çıkan acılaşmayı önleyici özelliği ön plana çıkmaktadır. Böylece meyve

sebzelerde kararmayı, hayvansal ürünlerde ise acılaşmayı engellemektedir (Yeşiltaş, 2012). Aljinatlar; su ürünlerinde ve et ürünlerinde yaygın şekilde kullanılan materyallerden birisidir. Ayrıca dondurma ve peynirlerde stabilizatör, sütlü puding ve jel halindeki sulu tatlılarda jelleştirici olarak ve meyveli içecek ve diğer sulu meşrubatlarda süspansiyon oluşturarak koyulaştırıcı, birada köpük oluşturucu ve mayonezde ise emülgatör rolünde kullanılmaktadır (Erickson ve Hung, 1997; Gennadios ve ark., 1997; Gombotz ve Wee, 1998; Gennadios, 2002; Datta ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki aljinat düşük su seviyesine rağmen esnek ve güçlü bir film yapısındadır. Birçok gıda ürününde aljinat kullanımıyla raf ömrünün artırılması ve kalite kayıplarının azaltılmasına yönelik araştırmalar yapılmakta ve sürekli yeni yöntemler geliştirilmektedir. Aljinat esaslı filmlerin herhangi bir alerjenik etkisine rastlanmayıp doğal olarak elde edilmesi aljinatı hem çevre dostu hem de ekonomik olarak avantajlı kılmaktadır (Yeşiltaş, 2012).

2.3.2. Yenilebilir Lipit Bazlı Film ve Kaplamalar

Yenilebilir film ve kaplamaların ikinci kısmında yağ asitleri ve monogliseritler, doğal mumlar ve çeşitli yağlı bileşikler, reçineler ve emülsiyon kaplama olarak kullanılan lipidler bulunmaktadır (Işık ve ark., 2013)

Lipidler genelde hidrofobik özellikleri nedeniyle iyi bir nem bariyeri olması yanında gıda ürünlerinin parlaklığını da sağlamaktadır. Ancak, genellikle film ve kaplamalarda esnek olmadığından üretimlerde yüksek sıcaklık kullanılmakta ve bundan dolayı iyi mekaniksel özellikler sergileyememektedir (Gontard ve ark., 1996). Lipidler mikroskobik porları, yüksek çözünme ve difüzyon özelliğiyle ürünün solunumunu azaltarak, gıdanın depolama süresinin uzamasını da sağlamaktadırlar (Sothornvit ve Krochta, 2000). Mum ve yağ kökenli film ve kaplamaların içerisinde parafin mum, candelilla mum, balmumu, carnauba mum, polietilen mum ve mineral yağlar bulunmaktadır. Şekerin yüzeyde kristalizasyonu sonucu istenmeyen tekstür oluşumuna neden olan nem kaybını engellemek için kuru meyvelere de mum veya yağ uygulanabilmektedir.

Yenilebilir mumlar; nem transferine karşı diğer lipid filmlerden veya lipid olmayan filmlerden daha dirençlidir. Mum kaplamaların dirençli olmasının nedenleri hem hidrofobik karakterlerinden hem de moleküler yapılarından dolayıdır (Callegarin ve ark., 1997).

Yağ asitleri ve monogliseritler; emülsifiye edici madde olarak diğer kaplama materyalleriyle beraber kullanılmaktadırlar. Kaplamalarda öncelikle emülsifiyerler ve dağıtıcı maddeler olarak kullanılırlar (Koyuncu ve ark., 2002). Lipidler genelde filmlerin mekaniksel özelliklerinde etkili değildir, fakat asetogliseridler, yağ asitleri, monogliseridler, fosfolipidler plastikleştirici olarak kaplamaların bileşimde yaygın bir biçimde kullanılmakta ve esnekliği geliştirmektedir (Callegarin ve ark., 1997). Bu kaplamalar depolama sürecinde dehidrasyonu egellemek amacıyla tavuk etlerinde ve kırmızı parça etlerde kullanılmaktadır (Kester ve Fennema, 1986).

Emülsiyon film ve kaplamalar, su ya da bazı hidrofilik çözeltilerde yağ veya mumun dağılmasıyla oluşur. Çok iyi nem bariyer özelliklerine sahiptirler; fakat parlak bir renk ve mumsu bir tat sergilemektedirler (Callegarin ve ark., 1997; Mc Hugh, 2000). Kazein ve jelatinin sıvı solüsyonlarına asetillenmiş monogliserid, stearik asit, palmitik asit, balmumu ve karnauba mumunun etanolik solüsyonlarının ilave edilmesiyle emülsifiye film ve kaplamalar oluşturulmuştur (Mc Hugh, 2000).

Reçineler, ağaç ve çalıkların kendine özgü bitki hücrelerinin yaralanmaya bir tepki olarak ürettikleri asit karakterdeki reçinelerdir. Meyve ve sebzelerin renginin korunmasında, su transferinin azalmasında ve bazı yapısal bozuklukların önlenmesinde reçinelerden hazırlanan kaplamalar etkili olmuştur. Ayrıca bu tip kaplamaların sert çekirdekli meyvelerde, nar, domates ve ananasta kullanıldığı da belirlenmiştir (Koyuncu ve ark., 2002).

2.3.3. Yenilebilir Protein Bazlı Film ve Kaplamalar

Yenilebilir protein film ve kaplamalar, bitkisel kökenli proteinler (mısır zein, soya protein, buğday gluten vb.) ve hayvansal kökenli proteinler (kazein, peynir altı suyu, kollajen vb.) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Dursun ve Erkan, 2009).

Protein film ve kaplamalar; polisakkarit bazlı film ve kaplamalara göre oksijen, karbondioksit ve lipidlere karşı bariyer olma ve mekaniksel özellikleri bakımından

daha iyidir. Ancak, polisakkarit filmlere benzer olarak, doğal yapısından kaynaklanan hidrofilik özelliklerinden dolayı, protein filmler, genellikle düşük nem bariyeri özelliğine sahiptirler (Padgett ve ark., 2000). Proteinlerin izoelektrik noktasının amino ve karboksil grupları arasındaki etkileşimlere bağlı olarak geçirgenlik değişebilir. Film çözeltisi dökülürken pH, film özelliklerinde (renk, yapı, gerilme direnci gibi) farklılıklara neden olduğu gözlenmiştir (Gennadios ve ark., 1993a).

Protein kaynaklı film ve kaplamaların en önemli avantajları fiziksel kararlılıklarının yüksek olması ve bundan dolayı ürüne istenilen şeklin verilmesini sağlamasıdır (Sucuk kılıfları gibi) (Gennadios ve ark., 1993b). Protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar, ayrıca kullanıldığı gıdayı besin değeri açısından da zenginleştirmektedir (Dursun ve Erkan, 2009).

Kollajenler; hayvanlarda deri ve konnektif doku bileşenlerinde bol miktarda bulunan protein kaynaklı polimerlerdir. Kollajenler; film ve kaplama olarak ticari anlamda yaygın olarak kullanılırlar. Kollojenler suda çözünmediği için çok iyi su buharı transferinin olmamasına rağmen iyi bir oksijen bariyer özelliğine sahiptir. Özellikle kollajen kılıflar; sosis kaplamada doğal bağırsak gibi aynı görevi üstlenmekte ve daha çok kullanılmaktadır. Sosis ve et ürünlerinin kaplanmasında kullanılan kollajen kılıflar, çok kalın üretilmediği sürece ürünle birlikte yenilebilir ya da tüketilmeden önce üründen uzaklaştırılabilirler (Baker ve ark., 1994). Bu tür film ve kaplamalar ürün işlenirken sağlam kalabilen ve gerilme miktarı yüksek olan esnek bir yapıya sahiptirler. Görünüş olarak şeffaf ve sağlıklıdırlar. Kapladıkları gıdanın net ağırlığını da arttıırırlar (Kutas, 1987).

Buğday gluteni; buğday ununun suda çözünmeyen proteinleridir. Gluten; gliadin ve glutenin polipeptidlerinin birleşiminden oluşmaktadır. Yüksek molekül ağırlığı, apolar karakteri ve yapısal çeşitliliği önemli özelliklerindedir. Yüksek nem geçirgenliğine sahip olup, oksijen ve karbondioksit geçirgenliği düşüktür (Muilen, 1971; Schilling ve Burchill, 1972; Turbak, 1972). Bu film ve kaplamalar; gıda esaslı katkı maddeleri kullanıldığı ve doğal olmayan maddeler kullanılmadığı zaman yenilebilirler (Temiz ve Yeşilsu, 2006). Fakat bazı insanların glutene karşı duyarlılığından dolayı herkes tarafından kabul görmüş hammaddeler kısmına

giremezler. Gluten kaplamalar tuz ve tat vericilerin çerezler üzerine kaplanmasını sağlamakta ve fırıncılık ürünlerinde flavor ve renk etkenlerinin kapsülasyonunda da kullanılmaktadır (Muilen, 1971; Schilling ve Burchill, 1972; Turbak, 1972; Gennadios ve Weller, 1990; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997).

Soya proteini ham materyal olarak gıda endüstrisinde çok yaygın kullanılmaktadır. Özellikle film üretimleri Uzakdoğu ülkelerinde üretilmektedir. Soya protein konsantresi ve soya protein izolatları kuru ağırlık olarak % 70–90 oranında proteinden oluşmaktadır. Soya proteini izolatları, yağı alınmış soya keklerinin seyreltik alkali ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilmektedir. Ekstraksiyon sonucu protein, pH'nın 4.5 altına düşürülmesi ile çöktürülür ve daha sonra santrifüj yardımıyla ayrılıp kurutulur (Gennadios ve ark., 1993a). Film oluşumu; protein polimerizasyonundan sorumlu olan disülfid bağlarının ısı uygulamasıyla artmaktadır (Temiz ve Yeşilsu, 2006).

Süt proteinleri düzenli yapısından dolayı geçirgenliğin kontrolü açısından, yenilebilir filmlerin üretimi için çok uygundur. Süt proteini; % 80 kazein ve toplam süt proteinin % 20'sini oluşturan peynir altı suyundan oluşur (Mc Hugh ve Krochta, 1994b; Chen, 1995; Karakaya ve ark., 2001).

Kazeinler, suda çözünür yapısına sahip olduğundan fosfoproteinlerdir. Kazeinden elde edilen filmler şeffaf, kokusuz ve esnektir (Krochta ve ark., 1994). Meyve ve sebzelerin korunmasında kazein film ve kaplamaların yapısına ilave edilen yağ ile nem geçirgenliğine karşı direnci artırılmaktadır. Kazeinlerin asitte koagüle olanları pH 6.7'de sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum hidroksit kullanılarak çözülebilirler. Yağlar ile birleştiğinde taze meyveleri, kuru meyve sebzeleri ve dondurulmuş balıkları nem geçişine ve oksidasyona karşı koruma işlevindedirler (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997). Kazein ve sodyum kazeinat, yağ (pamuk, mısır, soya, keten tohumu veya ayçiçeği yağı) ve plastifiyan bir madde içeren kaplamalar; çikolatalı kek, çikolata ve fındık gibi ürünlerde raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Mc Hugh ve ark., 1994; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997; Acar ve Alper, 1996).

Peynir altı suyu, peynir üretimi esnasında çok miktarda açığa çıkmakta olup son zamanlarda yapılan araştırmalarla değerlendirilmeye başlanan önemli bir süt

proteinidir. Peynir altı suyu protein filmi oksijen geçirgenliğini engellemede iyi bir avantaja sahip olmasına rağmen, nem bariyeri özelliği hidrofilik yapısı nedeniyle yeterince dirençli değildir. Peynir altı suyu proteinlerinden üretilen filmler, berrak, kokusuz ve yüksek elastikiyet özelliklerine sahiptir (Shellhammer ve Krochta, 1997; Anker, 1996). Peynir altı suyu proteinli kaplamalar; dondurulmuş balıklarda antioksidan özellik sağlar ve pişirilmiş gıdalarda, şekerleme, çikolata ve bisküvi ürünlerinde kullanılırlar. Peynir altı suyu proteinleri ve peynir altı suyu proteinleri-asetile edilmiş monogliserit karışımı kaplamalar kahvaltılık gevreklerde nem geçirgenliğini ve kuru üzümün yapışkanlığını azaltma amaçlı olarak kullanılmaktadır (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997).

2.3.3.1. Zein Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Zein oldukça parlak, sert ve yağ bariyer özelliği olan film ve kaplamaların hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan bir biyopolimerdir (Gennadios ve Weller, 1990). Yapısındaki aminoasit bileşimi nedeniyle zein hidrofobik yapıda olduğundan su emilimi, yüksek su aktivitesinde yüksek, düşük su aktivitesinde ise düşük olmaktadır. Birçok çalışmada zein filminin kırılğan yapısından dolayı esnekliğini geliştirmek için plastikleştirici maddeler (organik asit, gliserol, şekerler vb.) eklenerek filmde meydana gelen kopmaların önüne geçilmiştir. Yapılan araştırmalarda; gliserolle plastikleştirilmiş filmlerin yüksek su aktivitesinde, plastikleştirilmemiş filmlere kıyasla beş kat daha fazla su absorpsiyon kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Plastikleştirilmiş filmlerin daha yüksek nem tutma kapasiteleri kullanılan plastikleştiricilerin (gliserolün) hidrofilik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Polietilen glikol veya laktik asit ile plastikleştirilmiş filmler gliserolle plastikleştirilmiş filmlerden daha düşük su absorpsiyonuna sahiptir (Temiz ve Yeşilsu, 2006).

Zein film kaplamalar fındık, şeker, şekerleme ürünleri başta olmak üzere birçok gıdalarda kullanılmıştır. Zeinin gıda değeri asetil olmayan gliseritler ve özel ağartıcı maddeler katılarak arttırılmıştır. Küçük meyve parçaları, kuru yemişler ve dondurularak kurutulmuş bazı gıdalar zein ile kaplanmıştır (Yıldırım ve Barutçu-Mazı, 2016). Zein ilaç endüstrisinde kapsüllerin kaplanmasında koruma amaçlı ve tatların yayılması ya da engellenmesinde kontrol amacıyla da kullanılmaktadır

(Gennadios ve ark., 1994). Ayrıca sosis kılıflarında kollajenlere alternatif bir polimer ve kuru gıdalar için ise suda eriyen poşetlerin üretiminde bitki kaynaklı biyopolimer olarak uygulanmıştır (Georgevits, 1967; Turbak, 1972). Domatesler zeinle kaplandığında, parlaklığını ve nem geçirgenliğini azaltmakta, renk değişimini de geciktirmektedir. Zeinler peynirler üzerinde uygulandığında, peynirlerin yüzeyine koruyucu olarak ilave edilen sorbik asidi korumaktadır. Böylece, bir anlamda koruyucunun koruyucusu hem de mikroorganizma etkinliğini engelleyen bir film olmaktadır (Akbaba, 2006).

2.3.4. Kompozit Yenilebilir Filmler

Yenilebilir film ve kaplamalar, polisakkarit, protein ve/veya lipitlerin bir karışımından meydana gelen heterojen yapıya da sahip olabilmektedir. Kompozit film ve kaplamalar, her bir film özelliklerinin, farklı karakteristiklerini kullanmaya imkan sağlayan bir yaklaşım olarak düşünülmüştür. Kompozit filmlerin üretilmesindeki ana hedef, spesifik uygulamanın ve gıdanın gereksinimlerine göre, geçirgenlik veya mekanik özelliklerin geliştirilmesidir.

Bu kompozit filmler, oluşan filmin bariyer özelliklerine göre ya bir emülsiyon, süspansiyon veya karışmayan bileşiklerin dispersiyonu şeklinde, ya ardışık katmanlar şeklinde (çok katmanlı film veya kaplamalar) ya da bir genel çözücü içerisinde solüsyon formunda uygulanmaktadır. Kamper ve Fennema, (1984), metil selüloz ve selüloz filmlerin su buharı bariyeri yeteneğini geliştirmek için, yağ asitlerinden oluşan emülsiyon filmleri önermişlerdir. Son yıllarda pek çok araştırmacı; Kamper ve Fenneman, (1984)'ın çalışmasına dayalı kompozit filmlerin geliştirilmesi üzerine yoğun araştırmalar yapmaktadır. Yapılan çalışmalarda polisakkaritlerin, meyveleri oksijenden ve esmerleşme reaksiyonundan koruduğu fakat nem kaybından dolayı zamanla meyvenin buruştuğu saptanmıştır. Yağ, suyu uzak tutmaktadır, fakat yağ ile katı ve stabil bir film hazırlanamamaktadır. Bu amaçla proteinler kullanılmaktadır. Proteinler, su kaybına karşı gıdayı korumamasına rağmen, film bütünlüğünün muhafazası için önemli bir ana bileşendir (Kester ve Fennema, 1986; Pennisi, 1992). Bir başka uygulamada, polisakkarit bazlı film ve kaplamalar üründe daha fazla ağırlık kaybına neden olurken, düşük oksijen geçirgenliğine sahip olan lipidleri içeren kaplamalar oksijensiz solunuma neden olmaktadır. Bu iki kaplama materyali

beraber kullanılarak sukroz yağ asiti esterleri gibi heterojen kaplamalar geliştirilmiştir (Koyuncu ve ark., 2002). Kompozit film ve kaplamalar yapılan değişikliklerle ve katkılarla raf ömrünün belirlenmesinde ve gıda içeriğinin geliştirilmesinde avantaj sağlamaktadır (Lopez-Rubio ve ark., 2006).

2.4. Yenilebilir Film ve Kaplamalarda Kullanılan Katkı Maddeleri

Yenilebilir film ve kaplamalarda, formülasyon oluşumunda temel bileşenlere ilaveten yardımcı katkı maddeleri de ilave edilmelidir. Kullanılan yardımcı katkı maddeleri film ve kaplamanın özelliklerine ve gıdanın depolanma sürecine göre seçilmelidir. Bunlar plastikleştiriciler, solventler emülsifiye edici maddeler, surfaktanlar, antioksidan ve antimikrobiyal maddelerdir (Baldwin, 2007).

2.4.1. Plastikleştiriciler

Yenilebilir film ve kaplamaların mekanik özelliklerini geliştirmek için formülasyona sorbitol, gliserol, mannitol, sukroz ve polietilen glikol gibi plastikleştiriciler ilave edilebilmektedir. Bu katkı maddeleri genellikle düşük molekül ağırlığına sahip olup yüksek kaynama noktasında uçucu olmayan polimer ile son derece uyumlu olan küçük moleküllerdir. Protein ve polisakkarit kaynaklı yenilebilir film ve kaplamaların mekanik özelliklerini geliştirmek için bir çok araştırmacı plastikleştiricilerin kullanılmasını önermiştir (Donhowe ve Fennema, 1993; McHugh ve Krochta, 1994a; Chen ve ark., 1994; Parris ve ark., 1995). Özellikle kullanılan plastikleştirici maddenin çeşidinin protein filmlerin hidrofilik özelliklerine etkisi önemlidir (Gontard ve ark., 1994; Charai ve ark., 1996; Galiotta ve ark., 1998). Böylece film yapısında istenmeyen kopmaları engellemektedir. (Sarıoğlu, 2005). Plastikleştirici maddeler; gıda ambalaj uygulamasında film ve kaplamaların esnekliğini, yırtılmaya karşı direncini artırırken kırılmayı azaltıcı yönde etki gösterirler (Lieberman ve Guilbert, 1973).

2.4.1.1. Gliserol

Gliserin ya da 1, 2, 3 propanetriol olarak da adlandırılan gliserol renksiz, kokusuz, hidroskopik, tatlı, vizkoz bir sıvıdır. Gliserol bir şeker alkolüdür ve yapısında 3 hidrofilik alkolik hidroksil grubu (-OH) bulunmaktadır. Bu gruplar sayesinde gliserol suda çözünür (O'Neill ve ark., 2001). Gliserol gıdalarda ve içeceklerde nemlendirici,

çözücü ve tatlandırıcı olarak kullanılır. Ayrıca gıdanın mekanik özelliklerini arttırarak korunmasına da yardımcı olmaktadır (Sarıküş, 2006).

2.4.2. Solventler

Tüketimleri güvenilir olduğundan dolayı yenilebilir film ve kaplamalarda solvent olarak saf su, asetik asit ve etanol seçilir. Yoshino ve arkadaşları, (2002), yaptıkları bir çalışmada solvent olarak sulu aseton ve sulu etanol kullanarak zein filmler elde etmişlerdir. Solvent olarak etanol kullanıldığında elde edilen filmler aseton ile elde edilene göre daha esnek olduğu görülmüş, ancak neme ve yüksek nemli ortamlara daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Böylece solvent seçiminin son filmin özelliklerini etkilediği görülmektedir (Dangaran ve ark., 2009).

2.4.3. Emülsifiye Edici Maddeler ve Surfaktanlar

Emülsifiyerler, yüzey aktif ajanlar olarak yüzeydeki su aktivitesini azaltarak raf ömrünü artırır. Surfaktantlar, kaplamada yüzey yapışkanlığını gidermek için kullanılırlar (Sarıküş, 2006).

2.4.4. Antioksidan Maddeler

Antioksidanlar; yenilebilir film ve kaplamalarda stabiliteyi arttırmak, gıdalarda oksidasyondan dolayı oluşan kötü tat ve kokuyu engellemek, gıdaları renk ve bozulmalara karşı korumak ve ürünün besleyicilik değerini korumak amacıyla kullanılırlar (Moore ve ark., 2003).

Gıda antioksidanları; organik asitler (sitrik asit, tartarik asit) ve bunların esterleri ile fenolik bileşikler (BHA, BHT, TBHQ) olmak üzere iki guruba ayrılır. Yapılan çalışmalar sentetik antioksidanların kullanılmasının endişe verici olduğunu bildirmektedir. BHA (Bütillendirilmiş Hidroksianisol) ve BHT (Bütillendirilmiş Hidroksitoluen) gibi gıdalarda kullanılan doğal olmayan antioksidanların potansiyel kanserojen etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu sebeple organik asit ve esterleri daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Karpińska ve ark., 2001).

Antioksidanlar, fındık ve et ürünlerinde kokuşmayı yavaşlatmak ve meyve sebzelerde rengi korumak amacıyla kaplamalarda kullanılmaktadır. Yenilebilir

kaplamalar yemeklik mantarda enzimatik kahverengileşmeyi azaltmakta, kaplamalara antioksidan ilavesiyle (% 1 askorbik asit) daha iyi bir koruma elde edilmektedir. Tarçın ve benzoik asit gibi bazı maddelerin askorbik asit ile birleşmesi gıdalarda esmerleşmeyi engellemede etkilidir (Baldwin, 1999; Karakaya ve ark., 2001). Özellikle et ve et ürünleri yüksek oranda doymamış yağ asidi içermesinden dolayı oksidasyona karşı oldukça hassastır (Tharanathan ve Kittur, 2003). No ve arkadaşları, (2007), tarafından yapılan bir çalışmada, kitosan yenilebilir film olarak kullanılmış ve kitosanın antioksidan özelliği ile gıdalarda lipid oksidasyonunu önlenmede etkili olduğu ve kitosanın antioksidan etkisinin moleküler ağırlığına bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir.

2.4.5. Antimikrobiyal Maddeler

Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların üremesini veya gelişimini engelleyen maddelerdir. Antimikrobiyal film ve kaplamaların üretiminde kimyasal ve doğal antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır (Gennadios ve ark., 1994).

2.4.5.1. Kimyasal Antimikrobiyal Maddeler

Propiyonik asit, sorbik asit, benzoik asit, tartarik asit gibi zayıf organik asitler, sodyum benzoat, potasyum sorbat, propiyonat gibi organik asit tuzları gıdalarda en yaygın olarak kullanılan kimyasal koruyucular olup Çizelge 2.1’de gösterilmiştir. Bunların bir kısmı fermente ürünlerde ve bitkilerde doğal olarak bulunmasına rağmen birçoğu kimyasal olarak sentezlenmektedir (Ayana, 2007).

Zayıf organik asitler yaygın olarak kullanılan klasik koruma ajanlarıdır. Bu asitler bakteriyel ve fungal hücrelerin büyümesini inhibe ederler. Zayıf organik asitler, pH bağımlı koruyuculardır ve koruyucu etkilerini ayrışmamış formlarında gösterirler. Düşük pH’lı ortamlarda ayrışmamış formda bulduklarından maksimum inhibitör etkisi gösterirler (Cha ve Chinnan, 2004).

Sorbik asit ve tuzları gıdaların muhafazasında kullanılan koruyucu maddelerdendir. Diğer koruyuculara göre birçok avantajı olan sorbik asit ve tuzları gıda uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle sorbatlar şeklinde nitelendirilen tuzlarının ve bunlar içinde özellikle potasyum tuzunun suda çok yüksek çözünürlük oranına sahip olması nedeniyle gıda maddelerine daha çok tercih

edilmektedir. Sorbik asit ve tuzları, mikroorganizmaların spor ya da hücre oluşumu üzerinde önleyici ya da yavaşlatıcı özelliğinden dolayı antimikrobiyal bir koruyucu olarak bilinmektedir (Sarıoğlu, 2005).

EDTA (Etilen diamin tetraasetik asit) şelat yapıcı fonksiyonuyla gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliği artırmada önem taşımaktadır. Nisin ile EDTA birlikte antimikrobiyal madde olarak kullanıldığında, EDTA gram negatif bakterilerin hücre duvarını zedeleyerek nisin aktivitesine karşı daha dayanıksız bir hale getirmiş ve böylece nisinin antimikrobiyal aktivitesinde artış gözlenmiştir (Padgett ve ark., 1998).

Fungusitler yenilebilir film ve kaplamada; turunçgil meyveleri üzerinde özellikle muma dayalı emülsiyonların uygulamasında çalışılmıştır. Mum emülsiyonlarının uygulanmasında fungusit kullanımı küf gelişimini azaltmıştır. Benomyl ve imazalil turunçgillerde kullanıldığı bilinen fungusitlerdir. Bu fungusitler solvent şeklinde uygulanır, fakat bu şekilde mum emülsiyonlarına karıştırılarak uygulanması fungusitin küf gelişimini önleme kabiliyetini azaltmaktadır. Çünkü fungusit mum içinde kalmakta ve görevini tam olarak yapamamaktadır. Çekirdekli meyvelerde, çilek, domates ve elmada fungusit kullanıldığı da tespit edilmiştir (Baldwin, 1999; Karakaya ve ark., 2001).

Çizelge 2.1. Yenilebilir film ve kaplamalara eklenen kimyasal antimikrobiyaller

Organik asit tuzları	Zayıf organik asitler	Fungusitler	Çelat Yapıcılar	Diğer
Potasyum sorbat	Asetik asit	Benomyl	EDTA	Etanol
Kalsiyum propiyonat	Sorbik asit	Kükürtdioksit		
Sodyum benzoat	Laktik asit Sitrik asit Benzoik asit Tartarik asit	İmazalil		

2.4.5.2. Doğal Antimikrobiyal Maddeler

Kimyasal koruyucuların kullanımına getirilen sınırlamalar, doğal antimikrobiyal maddelerin kullanımı üzerine gerçekleştirilen araştırmaları artırmıştır (Ayana, 2007). Doğal antimikrobiyal maddelere örnek olarak enzim, bakteriyosin, esansiyel yağlar, baharat yağları ve lipitler vb. örnek olarak Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Tek bir peptit proteininden meydana gelen lizozim enzimi, gram (+) ve (-) mikroorganizmaların hücre duvarlarının ana bileşeni olan peptidoglukanda bulunan N-asetilglukozamin ve N-asetilmumarik asit arasındaki beta 1-4 glikodik bağlar üzerine enzimatik aktivite gösterir (Cha ve Chinnan, 2004).

Baharatlar ve otlar ise gıdalarda ve sofralarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmalar farklı bitki türlerinin ve özütlerinin antimikrobiyal özelliklerinin olduğunu göstermiştir. Sarımsak, soğan, tarçın, hardal, karabiber, kekik, ada çayı, biberiye, anason, tarçın, kırmızıbiber, kereviz, dereotu, mercan köşk gibi doğal olan ve sofralara her gün giren bu ürünler gıdaya lezzet katmanın yanı sıra antimikrobiyal etkinlikleri ile de dikkat çekmektedir (Nasar-Abbas ve Halkman, 2004).

Çizelge 2.2. Yenilebilir film ve kaplamalara eklenen doğal antimikrobiyaller

Bakteriyosinler	Enzimler	Baharat ve Uçucu Yağlar	Bitki Ekstraktları (Esansiyel Yağlar)	
Nisin	Lizozim	Karabiber	Tarçın	Üzüm çekirdeği
Pediosin	Laktaperoksidaz	Kekik	Dereotu	Zeytin yaprağı özütü
Laktisin	Glukozoksidaz	Zencefil	Rezene	Limon otu yağı
Natamisin	Kitinaz	Kimyon	Biberiye	Bambu tozu
		Karanfil	Adaçayı	Himokitol
		Kişniş	Anason	Yeşil çay özü

Bir bakteriyosin olan nisin antimikrobiyal madde olarak 1960'lerden beri gıdalarda kullanılmaktadır. Nisin, Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından güvenilir (GRAS) kabul edilmiş ve çok eski yıllardan beri gıdalar için bakteriyosin olarak kullanılmıştır. Nisin antimikrobiyal özelliği nedeniyle yenilebilir film üretiminde bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır (Dawson ve ark., 2002). Nisin bir asit bakterisi olan *Lactococcus lactis* tarafından üretilmektedir.

- **Natamisin**

Biyolojik yöntemlerle maya ve küf gelişmesinin engellenmesinde yaygın olarak doğal bir antimikrobiyal olan natamisin kullanılmaktadır (Üçüncü, 1980; Öztekin, 1983; Altuğ, 2001). Natamisin, *Streptomyces natalensis* (Güney Afrika, Natal'dan alınan toprak numunelerinden elde edilen mikroorganizma) kültürünün aerobik fermentasyonu sonucu oluşan bir polien makrolit antibiyotiktir. Fermentasyon birkaç günde tamamlanmakta ve natamisin ekstraksiyon veya miselyum ekstraksiyonuyla saf olarak elde edilmektedir (Şahan ve ark., 2004).

Molekül ağırlığı 665.73 g/mol olan natamisin kapalı formülü $C_{33}H_{47}NO_{13}$ olup renksiz, kokusuz ve tatsızdır. Oda sıcaklığında bir litre saf suda yaklaşık 50 mg'ı çözünebilmektedir. Suda az çözünmesinden dolayı gıdaların yüzeyinde uygulanarak kullanımını yaygındır. Asitlik (pH değeri), sıcaklık, ışık, oksidanlar ve ağır metaller yapısını etkilemektedir (Şahan ve ark., 2004).

Natamisin etki şekli; hücre zarında sterollerle özellikle ergosterol ile birleşerek küf hücrelerinin zarlarında delik açıp hücre içinin dışarı akmasına neden olarak hücrenin geçirgenlik mekanizmasını tahrip eder. Natamisin, gıdalarda oluşan küf ve mayalara karşı çok az miktarlarda kullanıldığında bile oldukça etkilidir. Natamisin E kodu E235'tir ve günlük maksimum izin verilen miktarı (ADI değeri) 0.3 mg/kg'dır (Zusatzstoffe, 2002). Ülkemizde 25.08.2002'de yayınlanan 24857 sayılı Türk Gıda Kodeksinin "Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri" Tebliğinde peynir yüzeyinde (5 mm'lik derinlikte bulunmayacak) en fazla 1 mg/dm² natamisin bulunabileceği bildirilmiştir (Anonim, 2002).

Ülkemizde ve dünyada gıdalarda güvenliğin sağlanması üzerine gerçekleştirilen bilimsel araştırmalarda artış söz konusudur. Özellikle süt ve süt ürünleri, zengin

besin içeriği ve nötre yakın pH değeriyle mikroorganizma gelişimi için oldukça uygun olup gıda güvenliği açısından riskli gıdalar arasında yer almaktadır. Süt endüstrisinde en önemli problemlerden birisi de taze kaşar peynirlerinde raf ömrü süresinde görülebilen maya ve küflenmelerdir (Vercelino-Alves ve ark., 1996). Natamisin, Avrupa Topluluğu Bilimsel Komitesi'nin gıda katkı maddeleri ile ilgili yönetmeliğinde, sert, yarı-sert, yarı yumuşak peynirlerin yüzeyinde kullanılan bir koruyucu olarak belirtilmiştir. Diğer koruyucu maddelere oranla daha az miktarda dahi etki gösterebilmesi, peynirin içine nüfuz etmeyerek organoleptik özellikleri ve doğal mikroflorası üzerinde olumsuz etkide bulunmaması nedeniyle natamisin, yaklaşık 30 yıldır peynirlerde koruyucu madde olarak kullanılmaktadır (Russel ve Gould, 1985; Altuğ, 2001; Volpon ve Lancelin, 2002). Peynirlere daldırma veya spreyleme yöntemiyle uygulanabilen natamisin, peynirin lezzetinde ve doğal mikroflorasında değişikliğe neden olmamaktadır. Yapılan bir çalışmada kaşar peyniri depolama süresi sırasında natamisinin etkisi incelenmiştir ve sonuçta natamisinin peynirlerin olgunlaşmasının ikinci ayında küf gelişmesine etki ettiği fakat ikinci aydan sonra küf gelişimine etki etmediği tespit edilmiştir (Var ve ark., 2006). Hayvanlar üzerinde laboratuvarında yapılan araştırmalar sonucunda natamisinin zehirli ve alerjik bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, natamisin yağda ve suda çözünmediğinden vücuda alındığında % 90'ının bağırsaklar tarafından dışarı atıldığı saptanmıştır (Yılmaz ve Kurdal, 2005).

Natamisin, üretilen peynirin çeşidine ve her ülkenin yasalarına göre değişmekle birlikte peynir üretiminde aşağıdaki şekillerde kullanılmaktadır (Yılmaz ve Kurdal, 2005):

- Peynir üretimi sırasında özellikle taze ve eritme peynirlerde süte ve salamuraya katılmaktadır.
- Sulu natamisin çözeltisi şeklinde peynirlere püskürtülmekte ya da peynirler bu çözeltiliye daldırılarak uygulanmaktadır.
- Fungistatik paket materyali (PVA-Polivinil asetat) ya da yenilebilir film kaplamaları (WPI- Peynir altı suyu protein izolatu) natamisin ile kombine edilerek peynir ambalajı olarak kullanılmaktadır.

2.5. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıdalarda Uygulama Yöntemleri

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdalara değişik yöntemlerde uygulanabilir. Bu uygulamalar gıdanın zarar görmeyeceği, film ve kaplamaların özelliklerine uygun olarak seçilmelidir. Özellikle film ve kaplamaya esneklik sağlayan plastikleştirici ve diğer katkı maddelerinin seçimi, uygulanan yöntemler ve kaplama kalınlığı materyalin son özellikleri üzerine etkilidir (Işık ve ark., 2013).

Yenilebilir film ve kaplamalar su veya gaz transferinin engellemesinde, mikrobiyel bozulmayı durdurmak veya yavaşlatmak, gıda yüzeyinin kurumasını sınırlandırmak, mekanik özellikleri ile tat ve kokusunu kuvvetlendirmek amacıyla ilgili uygulama alanları bulunmaktadır (Kaya ve Kaya., 1999). Yenilebilir film ve kaplamalar gıdalara daldırma, püskürtme, köpükleme, damlatma ve dökme yöntemleri kullanılarak uygulanmaktadır. Ayrıca, püskürtme veya daldırma yöntemleri koruyucu maddeler, antioksidan içeren çözeltiler ve diğer sulu materyallerde de uygulanabilmektedir (Işık ve ark., 2013).

2.5.1. Daldırma Yöntemi

Bu yöntemde gıda maddesinin sırasıyla film çözeltisine daldırılması, süzülmesi daha sonra oda koşullarında bekletilerek veya çözücünün uzaklaştırıldığı bir kurutucu ile kuruması ve katılaşması film oluşumu için izlenen uygulamalardır (Üçüncü, 2000; Altan, 2003). Et, balık ve tavuk etlerine asetil gliseritlerin kaplanmasında daldırma yöntemi kullanılmaktadır. Ayrıca meyve ve sebzelere mumların uygulanması için de önerilmektedir (Caner ve Küçük, 2004; Sarıoğlu, 2005; Polat, 2007).

2.5.2. Püskürtme Yöntemi

Gıdanın belli bir kısmı kaplanacaksa ya da düzgün ve homojen bir tabaka şeklinde bir film elde edilecekse ürüne püskürtme yöntemi uygulanır. Bu yöntem yüksek basınç püskürtme uygulayıcılar veya hava üfleme sistemlerin geliştirilmesiyle, meyve ve sebze kaplamada yaygın olarak kullanılan bir metottur (Krochta ve De Multer-Johston, 1997; Gökoğlu, 2002; Koyuncu ve Savran, 2002). Ayrıca bir tarafı sosla kaplanan pizza tabanları gibi koruyucu olarak tek bir tabakanın kaplanmasında püskürtme yöntemi kullanılmaktadır (Krochta ve ark., 1994; Polat, 2007).

2.5.3. Dökme Yöntemi

Bu yöntem hazırlanan film çözeltisinin uygun bir şekilde yüzeye dökülerek kurutulması ve daha sonra soğutulması ile gıdanın kaplanması yöntemidir. Püskürtme ve daldırma metodlarıyla beraber kullanılmakta olup direkt olarak uygulanışı endüstride görülmemektedir (Gökalp ve ark., 1995). Çünkü kaplamaların yüzeyine kaplama maddesi fazla kaplanırsa ürünün gaz geçişi çok az olmaktadır. Bu durum, meyve ve sebze gibi ürünlerde bozulmalara neden olabilmektedir (Krishna ve ark., 2012).

2.5.4. Damlatma Yöntemi

Bu metot, kaplama maddesinin ürüne yukarıdan damlatma şeklinde uygulanmaktadır. Daha sonra ürünün homojen bir şekilde kaplanması için, dönen fırça yatakları üzerine gönderilir ve kaplama, fırçaların üzerindeki fanlar ile kurutulur. Kaplama kalınlığı fırçalarla yayılarak kontrol edilebildiği gibi, kaplamalar kalıp halinde de oluşturulabilmektedir. Gıdanın muhafazası boyunca problemlere (çatlama, kırılma, yapışma vs.) neden olmamak için, kaplama kalınlığına dikkat edilmelidir (Koyuncu ve Savran, 2002).

2.5.5. Köpükleme Yöntemi

Emülsiyon kaplama olarak köpükleme yönteminde ise ürün, köpük uygulayıcı veya uygulama tankına sıkıştırılmış hava ile kaplanmaktadır. Silindirik yapıda hareket eden ürünlere, köpük uygulanarak, fırçalar yardımıyla emülsiyonu ürünün yüzeyine dağıtılarak uygulanmaktadır. Bu tip emülsiyon, su az içerdiğinden oldukça hızlı kurumasına rağmen, yetersiz kaplama nedeniyle problemler oluşmaktadır. Bu nedenle, çok fazla tercih edilen bir yöntem değildir (Üçüncü, 2000; Altan, 2003).

2.6. Yenilebilir Ambalajlamanın Avantajları ve Dezavantajları

Avantajları

Yenilebilir film ve kaplamaların avantajları şu şekilde özetlenebilir:

- Ambalajlanmış ürün ile birlikte tüketilebilmektedir.

- Tüketilmeler bile, yenilebilir maddelerden üretildiklerinden, doğada polimerik materyallerden doğada polimerik materyallerden daha hızlı parçalanarak biyobozunur özellikte ve ucuz materyallerdir.
- İçine eklenen çeşitli katkı maddeleriyle (renk maddeleri, tatlandırıcı maddeler) desteklenerek, uygulandıkları gıdaların duyu özelliklerini geliştirmektedirler.
- Tatlandırıcılar ve diğer katkı maddelerin mikrokapsülasyonunda da kullanılmaktadır, böylece bu maddelerin gıdaya geçişleri kontrol edilebilmektedir.
- Gıdaların beslenme değerlerini de desteklemektedir. Özellikle proteinlerden yapılan filmler bu konuda önem taşır.
- Bezelye, fasulye, fındık ve çilek gibi, ayrı ayrı ambalajlanamayan ürünlerin, küçük parçalar halinde ayrı olarak ambalajlanmasında kullanılmaktadırlar.
- Antimikrobiyal ve antioksidan maddelere taşıyıcı görevi üstlenmektedirler. Gıda yüzeyine uygulanarak, yüzeydeki koruyucu maddelerin gıdanın iç kısımlarına geçiş hızını kontrol etmek amacıyla da kullanılmaktadırlar.
- Yenilebilir filmler yenilemeyen filmler ile birlikte çok katlı ambalaj materyalleri olarak da kullanılabilirler. Bu durumda yenilebilir filmler gıda ile direkt temas eden iç tabakada bulunmaktadırlar (Gennadios ve Weller, 1990; Acar ve Alper, 1996).
- Gıdadan nem, gaz (O₂, CO₂) ve sıvıların geçişini engelleyerek bozulmalarını önler.
- Gıdaları mekanik darbelere karşı korurlar.
- Pişme sırasında dağılmayı önlerler ve gıdadan pişme ya da depolama esnasında uçucu bileşiklerin kaybını önleyerek besin değerinin muhafazasına katkıda bulunurlar (Küçüköner ve ark., 2003).

Dezavantajları

- Birçok tüketicinin yeni bir teknoloji olarak çekimser kalmaları ya da tanımıyor olması,
- Yenilebilir özellikte olmalarından dolayı insan sağlığını korumak için bazı ambalaj materyalleri ikinci bir ambalaj materyaline gerek duymaları,

- BHA, BHT, TBHQ gibi sentetik antioksidan maddelerin ilavelerinde kanserojen endişesi (Baldwin, 1994),
- Petrol türevi malzemelere göre daha az fiziksel ve kimyasal direnç göstermeleri, madde difüzyonunu daha az engellemeleri bundan dolayı uygulanan gıdaların çeşitliliğinin sınırlanmış olması dezavantajlarıdır.

2.7. Antimikrobiyal Madde İçeren Ambalajlama Yöntemleri

Aktif ambajlamanın en önemlisi ve en çok kullanılan antimikrobiyal ambalajlama sistemleridir. Antimikrobiyal ambalajlar; antimikrobiyal maddelerin ilave edilmesiyle ambalaj materyalinde ve gıdada oluşan mikroorganizmaların gelişimlerini sınırlayan ya da tamamen durdurulmasını sağlayabilen ambalaj malzemeleridir (Üçüncü, 2007).

Antimikrobiyal ambalajlama sistemlerinde en yaygın olarak antimikrobiyal film ve kaplamalar kullanılmaktadır. Antimikrobiyal film ve kaplamalar, gıda ve ambalaj yüzeyinde etkileşim halinde bulunmakta olup gıdada bulunan mikroorganizmaların üreme hızını düşürerek gıda güvenliğini sağlamayı, gıdanın raf ömrünü ve kalitesini arttırmayı hedeflemiştir (Cha ve Chinnan, 2004).

Antimikrobiyal film ve kaplamalar hazırlanırken kimyasal ve doğal antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Kimyasal antimikrobiyal maddeler, gerek gıda ile beraber tüketilmelerinden gerekse çevre dostu olmamalarından kullanımlarına birtakım kısıtlamalar getirilmiştir. Doğal antimikrobiyal maddeler ise, kimyasal antimikrobiyal maddelerde olduğu gibi sınırlı miktarda değil, antimikrobiyal etkiyi sağladıkları sınır düzeyi ve üzerinde kullanıldıklarında etkili bir antimikrobiyel aktiviteye sahip olurlar (Trotter ve ark., 2000). Kimyasal antimikrobiyal ajanların bahsedilen dezavantajlarından dolayı son yıllarda doğal antimikrobiyal ambalajlama yöntemleri kullanılması üzerine araştırmalar artmıştır.

Antimikrobiyal film ve kaplamalar farklı koruma mekanizmalarına sahiptirler. Antimikrobiyal film ile ambalajlanmış gıda; antimikrobiyal madde ile yavaş bir şekilde etkileşime geçmektedir. Böylece filmin ve gıdanın yüzeyinde yüksek derişimde antimikrobiyal aktivite korunarak mikroorganizmalar üzerinde uzun süreli etki göstermesi sağlanabilmektedir (Coma ve ark., 2002; Çağrı ve ark., 2002).

Antimikrobiyal kaplanan gıda ambalajında; oksijen yetersizliği ve antimikrobiyal maddelerinin gıda yüzeyine doğrudan etkileşimi nedeniyle mikrobiyal gelişme gözlenmez. Ancak, kaplamada antimikrobiyal aktive çok hızlı gerçekleşerek sadece gıda yüzeyinde kaldığı için mikroorganizmalara karşı uzun süreli bir etki göstermemektedir. Bundan dolayı etkin antimikrobiyal aktive için kaplamalardaki antimikrobiyal maddelerin difüzyon hızının filmlerdekine göre daha düşük olması arzu edilmektedir (Gennadios ve ark., 1994).

2.8. Antimikrobiyal Ambalajlamaların Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Antimikrobiyal maddelerin kimyasal özelliği, derişimi, uygulama sıcaklığı, uygulama süresi, ortam pH'sı ile mikroorganizmaların yaşı, cinsi antimikrobiyal maddelerin etkinliği üzerine etkili olabilmektedir (Temiz, 2000). Yüksek derişimde antimikrobiyal madde kullanımının insanda toksik etki oluşturması, uygulandığı yüzeye zarar vermesi, yüzeyde kalıntı sorunu yaratması gibi sakıncaları olabildiği için antimikrobiyal ambalajlama etkinliğinin test edilmesi gerekmektedir. Test edilmesinde kullanılan yöntemlerin en önemlileri; minimum inhibisyon konsantrasyonu testi (MİK), agar difüzyon testi ve sallanan erlen testidir (Ayana, 2007).

2.8.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu Testi (MİK)

MİK testinde polimerin antimikrobiyal aktivitesi ile antimikrobiyal maddelerin tek başlarına etkileri karşılaştırılır. Metot, farklı miktarlarda antimikrobiyal madde içeren polimerlerin ve antimikrobiyal maddelerin, hedef mikroorganizmanın büyüme ortamı ile inkübasyona bırakılması ve mikrobiyal büyüme gözlemleninceye kadar inkübasyonda bekletilmesi ilkesine dayanır. MİK testi ile mikroorganizmaların inhibisyonu için gerekli en düşük antimikrobiyal madde derişimi belirlenir (Appendini ve ark., 2002). MİK değeri mikroorganizma çeşidi ve sayısı, besiyeri bileşimi ve pH'sı, inkübasyon süresi ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenir. Farklı antimikrobiyal maddelerin etkinliklerinin ya da farklı mikroorganizmaların aynı antimikrobiyal maddeye karşı duyarlılıklarının karşılaştırılmalarında MİK testinden yararlanılmaktadır (Temiz, 2000).

2.8.2. Sallanan Erlen Testi

Sallanan erlen testi antimikrobiyal maddelerin kinetiği üzerine ayrıntılı bilgi vermektedir. Tampon, büyüme ortamı veya gıda gibi sıvı ortama hedef mikroorganizma ve antimikrobiyal içeren polimer yerleştirilir ve karıştırılan ortamda inkübasyona bırakılır. Bu yöntemle mikroorganizmaların büyüme hızındaki azalma ölçülür. Ayrıca tampon içerisinde yapılan testlerde polimerlerin antimikrobiyal aktiviteleri hakkında da bilgi edinilmektedir (Appendini ve ark., 2002).

2.8.3. Agar Difüzyon Testi

Agar difüzyon yöntemi, test edilecek mikroorganizmayı içeren katı besiyerine antimikrobiyal filmler yerleştirildikten sonra besiyeri üzerinde mikrobiyal büyüme gözlemleninceye kadar inkübasyona bırakılması ilkesine dayanır. Bu yöntemden yararlanılarak test edilecek mikroorganizmanın antimikrobiyal maddelere duyarlılığı veya herhangi bir ortamdaki antimikrobiyal maddenin varlığı belirlenebilmektedir. İnkübasyon süresince, filmdeki antimikrobiyal madde besiyerine difüzlenerak film çevresinde, mikroorganizma gelişiminin gözlenmediği bir inhibisyon zonu oluşturur. Oluşan bu inhibisyon zonu mikroorganizma gelişiminin engellendiğini ortaya koyar. Film etrafında oluşan zon çapı ölçülerek antimikrobiyal madde etkinliği nicel olarak ifade edilebilir (Temiz, 2000).

2.9. Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıda Uygulamaları

Gıda endüstrisinde üretim sürecinde oluşan aksaklıklar, kötü sanitasyon ve hijyen, birçok zararlı mikroorganizmanın bu gıdalarda gelişmesine ve bu gıdaların tüketilmesi sonucunda insanlarda gıda kökenli hastalıkların oluşmasına neden olabilir. Muhafaza süresi bitmeden gıdalarda oluşan bu sorunlar hem üreticiyi hem de tüketiciyi birçok sebeplerden dolayı etkilemiştir. Bu sorunları azaltma yollarından biri de antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmlerin veya kaplamaların gıdalara uygulanma çalışmalarıdır (Ayana ve Turhan, 2009). Son yıllarda yapılan çalışmalarla antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplamalar üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır.

Beverly ve arkadaşları, (2008), yaptıkları çalışmada asetik asit ve laktik asit içinde % 0.5 ve 1.0 (a/h) oranında düşük (470 kDa) ve yüksek molekül ağırlıklı (1106 kDa)

kitosan içeren kaplama solüsyonları hazırlamışlardır. *Listeria monocytogenes* ile inoküle edilmiş tüketime hazır biftekleri kaplama çözeltileri ile kaplayarak 4°C’de 28 gün süre ile depolamışlardır. Depolamanın 14. gününde, kitosan ile kaplanmış tüm örneklerde *L. monocytogenes* sayısında 1.40-1.65 logaritmik azalma görülmüştür. Laktik asit çözeltisinde çözdürülmüş düşük molekül ağırlıklı kitosan (% 0.5, a/h) ile kaplanmış hazır biftek örneklerinde *L. monocytogenes* sayısında en fazla azalma görülmüştür.

Ayrancı ve Tunç, (1997), taze fasulye ve çilek örneklerini, metil selüloz, propilen glikol, stearik asit, palmitik asit ve laurik asitle hazırlanan filmlerle kaplamışlardır. Sonuç olarak örneklerde su kaybının önlendiğini ve ürünün albenisinin arttığını açıklamışlardır.

Caner, (2005), yaptığı bir çalışmada yumurta örneklerini 3 farklı konsantrasyon içeren peynir altı suyu proteini ile kaplayarak konsantrasyonun artışına paralel olarak yumurtanın ağırlık kaybı, pH ve renk özellikleri değerlendirilmiş ve oda koşullarında örneklerin raf ömrünün 1 aya kadar uzatılabileceğini tespit etmiştir.

Hondrodimou ve ark., (2011), siyah zeytin fermantasyonunda 100 mg/L natamisin kullanımının Yunanistan’da yapılan geleneksel anaerobik fermantasyon sistemi sırasında tuzlu su yüzeyinde meydana gelen fungal miselyum gelişiminden kaynaklı küf bozulmasını önlediğini belirlemiş, küf gelişimini kontrol etmeye yarayan ve doğal laktik asit bakterilerinin yoğunluğunu artırarak lezzeti arttıran bir işlem sisteminin önemli bir bileşeni olabileceğini saptamıştır.

Sarioğlu ve Öner, (2006), yaptığı çalışmada yenilebilir filmle kaplamanın kaşar peynirlerinin kalitesi üzerine etkilerini ve kaşar peynirleri iki gruba (1. grup sorbitol içeren sodyum kazeinatlı filmle kaplanırken, 2. grup kontrol grubu) ayırarak 90 günlük olgunlaşma periyodu boyunca örneklerde ağırlıkta yüzdeler 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 etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Ayana ve Turhan, (2009), tarafından kaşar peynirindeki *Staphylococcus aureus* gelişimini engellemek için % 1.5 (a/h) oranında zeytin yaprağı özütü içeren metilselüloz bazlı filmler hazırlanarak dilimlenmiş kaşar peyniri örneklerine kaplanmıştır. Örnekler buzdolabında 4 ± 0.3 °C'de 14 gün süre boyunca muhafaza edilmiştir. Zeytin yaprağı özütünün antimikrobiyel etkisi belirlenerek, *S. aureus* ile inoküle edilmiş ve % 1.5 (a/h) zeytin yaprağı özütü içeren metilselüloz esaslı film ile kaplanan kaşar peyniri dilimlerinde *S. aureus* sayısı % 24.5 oranında azalmıştır.

Özdemir ve Demirci, (2006), kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaştırma süresindeki mikrobiyolojik değişimlerinin araştırıldığı çalışmalarında, küflenmeyi önlemek amacıyla farklı şekillerde (daldırma, spreyleme, katı halde serpmeye) potasyum sorbat içeren film uygulamışlar ve maya-küf sayısının kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca potasyum sorbatın katı halde uygulanmasının, daldırma ve püskürtmeye göre maya-küf sayısını azaltmada daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Oliveria ve arkadaşları, (2007), % 2 ve 4 (a/h) oranında natamisin içeren selüloz bazlı filmleri gorgonzola peynirine uygulamıştır. Filmlerin *P. roqueforti* antimikrobiyel etkinliğini incelemişlerdir. Kontrol olarak kullanılan % 0.2 (a/h) natamisin içeren solüsyonu peynir örneğine püskürtülerek uygulanmıştır. Çalışma sonucunda natamisin içeren selüloz filmleri, peynir örneklerine kaplanmış ve kontrol grubundan daha az küflendiği tespit edilmiştir. Ayrıca natamisin içeren selüloz film, yüzeye uygulanan püskürtme yöntemiyle daha uzun süre antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir.

Karragenan ve agaroz filmle kaplanan orta nemli peynir analoglarında kaplanmamış örneklere kıyasla 12 günlük depolama süresi boyunca yüzeydeki pH azalmasına bağlı olarak daha az *S. aureus* geliştiği saptanmıştır (Cuq ve ark., 1995).

2.9.1. Aljinat Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalarla İlgili Çalışmalar

Field ve arkadaşları, (1986), tarafından yapılan çalışmada glikoz oksidaz enzimi ilaveli aljinat kaplamaların dondurulmuş ve taze *Pseudopleuronectes americanus* türü yassı balık filetosunda ve bütün balıkta kullanmışlardır. Bu çalışmada glikoz

oksidaz içeren aljinat kaplamanın duyuşal özelliğin korunmasında ve bozulma kokusunun engellenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Siragusa ve Dickinson, (1992), organik asit ilave edilmiş aljiinat ile kaplanan sığır eti karkaslarında *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 gelişiminde sırasıyla 1.80, 2.1 ve 0.74 log azalma gerçekleştiğini göstermişlerdir. Bir diğer araştırmada sığır etinde laktik asidi aljinat kaplamayla beraber kullanılarak *L. Monocytogenes*'in inhibisyonunu sağlamaya çalışmışlardır. Depolama sürecinde (7 gün) aljinat kaplamaların potansiyel koruyucu olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Zhang ve arkadaşları, (1998), Mozzarella peynirini kitosan, sodyum aljinat ve soya proteini izolatlarını kullanarak kaplamışlar ve depolama boyunca sodyum aljinatın peynir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerini daha iyi geliştirdiğini bulmuşlardır.

Gennadios ve arkadaşları, (1997), ringa balığında -18°C'de buzdolabında muhafaza boyunca aljinat kaplamalarla muamele edilen ve polietilen torbalara konulmuş balık örneklerinin polietilen torbalardaki kaplanmayan kontrollerden biraz daha fazla nem içeriğine ve daha az lipid oksidasyonuna (daha düşük TBA değeri) sahip olduğunu belirtmiştir.

Dong ve arkadaşları, (2006), yaptığı çalışmasında ilaç sektöründe kaplama olarak kullanılması için aljinat ve jelatin karışımı filmlerde ambalajlamada mekaniksel özelliklerin belirlenmesinde en önemli faktör olan elastikiyetin ve gerilme kuvvetinin 20°C ve % 65 bağıl nemde başarılı sonuçlar verdiğini saptamışlardır.

Pranoto ve arkadaşları, (2005), yaptığı çalışmalarında doğal bir antibakteriyel görevi üstlenen sarımsak yağının aljinat bazlı yenilebilir film içerisine ilave etmişlerdir. Çalışmalar sonucu sarımsak yağı içeren aljinat filminin *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *Bacillus cereus*'un canlı hücre sayısında 4 saatlik süre sonunda sırasıyla 2.28, 1.24, 4.31 ve 5.61 log azalma olduğu tespit edilmiştir.

Wang ve arkadaşları, (2007), yaptıkları çalışmada karboksimetil selüloz (CMC), jelatin, peynir altı suyu proteini izolatu, patates nişastası, sodyum kazeinat ve sodyum aljinat ile hazırlanan yenilebilir filmlerle yapılan çalışmada sodyum aljinatın en düşük su buharı geçirgenliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada

sodyum aljinat filmin uzama yüzdesi ve gerilme gücü en yüksek olan yenilebilir film olduğu belirtilmiştir.

Rojas-Grau ve arkadaşları, (2007), aljinat ve jelatin kaplı elmalarda kaplamaların su buharı direncini ayçiçeği yağı kullanarak artırmışlardır (Aljinatta 15.7'den 19.2'ye, jelatinde ise 14.6'dan 27.6s/cm'ye çıkmıştır). Ayçiçek yağı eklenmesi aljinat kaplamaya göre jelatin kaplamada daha iyi bir etki göstermiştir.

Marcos ve arkadaşları, (2007), yaptıkları çalışmada sığır jambonunda *L. monocytogenes*'i inhibe etmek amacıyla belli konsantrasyonlarda Enterosin içeren aljinat filmlerle kaplama yapmışlardır. Soğuk muhafazada (6 °C) kontrol grubunun mikrobiyolojik yükünün 8 gün sonunda 10^4 'den 10^7 kob/g'a yükseldiği görülmüş ve % 5 aljinat kaplamalı jambon gruplarında *L. monocytogenes*'in inhibisyonunun sağlandığı tespit edilmiştir.

Olivas ve arkadaşları, (2007), tarafından "Gala" elmaları aljinat, asetilleştirilmiş aljinatlı monoglisericid linoleik asit ve aljinat-yağ-linoleik asit gibi farklı kaplama içerikleri uygulanarak 5°C'de % 85 bağıl nemde muhafaza edilmiştir. Düzenli olarak ağırlık kaybı, renk, tekstür, mikrobiyal yük ve asidite kontrol edilmiştir. Bütün kaplama çeşitleri ile "Gala" elmalarında kahverengileşmeyi önleyici etki sağlanmıştır.

Norajit ve arkadaşları, (2010), yaptıkları çalışmada 0.5 g/ml ginseng ekstraktı içeren % 2'lik aljinat ihtiva eden biyoçözünür filmin antioksidan özelliklerini ve film yapısındaki değişiklikleri araştırmışlardır. Ginseng ekstraktı filme iyi adapte olmuş ve antioksidan aktivitesi olumlu sonuçlanmıştır. Ginseng katkısı filmin nem içeriğinde belirgin bir değişikliğe neden olmamıştır. Ayrıca ginseng katkısıyla filmin gerilme direnciyle elastikiyetinde azalma olurken uzama yüzdesinde artış meydana gelmiştir.

2.9.2. Zein Bazlı Yenilebilir Film ve Kaplamalarla İlgili Çalışmalar

Yenilebilir protein bazlı filmlerden olan mısır zeini, buğday gluteni ve buğday gluteni/soya proteini izolatı filmlerinin 4 farklı sıcaklıktaki oksijen geçirgenlikleri incelenmiş ve sıcaklık arttıkça geçirgenlik değerinin azaldığı, en yüksek geçirgenliğin mısır zeini filminde en az geçirgenlik değerinin ise buğday gluteni/soya proteini izolatından elde edilen filmde olduğu görülmüştür (Gennadios, 1993a).

Yağsız nişastalı ürünlerin farklı yenilebilir filmlerle kaplanmasının nem tutma ve yağ alımındaki azalmaya etkilerinin incelendiği bir çalışmada 47 mm çapındaki ezilmiş patates topları gıda modeli olarak kullanılmıştır. Örnekler; mısır zeini, HPMC (Hidroksipropil Metil Selüloz) ya da MC (Metil Selüloz) ile kaplanmıştır. Kaplanmamış örnekler kontrol örnekleri olarak seçilmiş ve kontrol örneklerine kıyasla sırasıyla mısır zeini, HPMC ve MC ile kaplanan örneklerde nem kaybında % 14.9, % 21.9, % 31.1'lik azalma gözlenmiştir. Yine buna benzer olarak sırasıyla mısır zeini, HPMC, MC filmleri ile kaplanan örneklerde yağ alımında % 59, % 61.4, % 83.6'lık bir azalma gözlenmiştir. Nem kaybında ve yağ alımındaki azalma açısından en iyi bariyer özelliği yenilebilir MC filmin gösterdiği saptanmıştır (Mallikarjunan ve ark., 1997).

Zein filmle modifiye atmosfer ortamının yaratılmasının taze brokoli yapraklarına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; taze brokoli yaprakları cam bir kavanoza konmuş ve üstü yenilebilir mısır zeini filmi ile kapatılmış, ambalajın içinde modifiye atmosfer ortamı yaratılarak brokoli örnekleri soğutucuda 6 gün süreyle depolanmıştır. 6. günün sonunda film materyalinin ambalajın içinde modifiye atmosfer ortamının gelişmesini sağladığı ve brokoli yapraklarının ilk günkü tazeliğini ve rengini koruduğu gözlenmiştir (Rakotonirainy ve ark., 2001).

Wong ve arkadaşları, (1996), yaptıkları bir çalışmada zein bazlı filmle kaplanan tavuk yumurtalarında depolama süresi boyunca yumurta albumini, soya proteini izolatu, buğday gluteni ve mineral yağ çözeltileriyle muamele edilen yumurtalara kıyasla daha az su kaybı gerçekleştiğini ve Haugh birim değerlerinin (iç kalite kriteri) başlangıçtaki değerini koruduğunu saptamışlardır. Ayrıca kaplamanın, koruyucu bir bariyer oluşturmak suretiyle yumurta kabuklarının kırılma dayanımını geliştirdiği belirlenmiştir.

Padget ve arkadaşları, (1998), nisin ve lizozimin gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini inceledikleri bir çalışmada, antimikrobiyal olarak nisin ya da lizozim ilave edilmiş mısır zeini ve soya proteininden yapılan filmlerde, zein film içindeki lizozim konsantrasyonu arttıkça *Lactobacillus plantarum* inokule edilmiş ortamda filmin hedef mikroorganizmayı içeren agar üzerinde inkübasyon süresi

sonunda oluşturduğu inhibisyon alanı büyümüştür. Ayrıca, filme EDTA ilave edilmesiyle *E. coli*'ye karşı inhide edici etkinin arttığı saptanmıştır.

Zein film içindeki lizozim aktivitesindeki değişim ile antimikrobiyal zein filmlerin *Bacillus subtilis*, *L. plantarum* ayrıca disodyum EDTA ilavesi ile *E. coli* zerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiş ve zein filmin gıdaların muhafazasında kullanılabileceği Mecitoğlu ve ark., (2006), tarafından yapılan bir çalışmada saptanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Zein ve aljinat; Sigma-Aldrich (Almanya) tarafından temin edilmiştir. Etanol (% 99.5) Riedel-de Haen (Germany) tarafından tedarik edilmiştir. Gliserol (% 99.5) filmlerin kırılmasını ortadan kaldırmak ve elastikiyet özelliğini artırmak için kullanılmıştır ve Sigma-Aldrich'den (Germany) temin edilmiştir. Antimikrobiyel ajan olarak adlandırılan, Delvecoid® natamisin (% 50-54 natamisin, % 50-46 Laktoz) (NA) kullanılmıştır ve DSM Food Specialties (Hollanda)'den tedarik edilmiştir. Potato dextrose agar (PDA) ve dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) Merck, (Almanya)'dan satın alınmıştır. *Penicillium camemberti* kamambert peynirinden, *Aspergillus niger* ise Ankara Üniversitesi kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Filmlere uygulanması için kullanılan kaşar peyniri süpermarketten (Ordu, Türkiye)'den temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmaların Mikrobiyal Büyüme Koşulları ve Kültürleri

Aspergillus niger ve *Penicillium camemberti* büyümesi için potato dextrose agar (PDA) ve küf sayımı için ise dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC) ortam kullanılmıştır. *A. niger* ve *P. camemberti* PDA besiyerinde 30°C inkübasyona bırakılarak bir hafta boyunca inkübe edilmiştir. Alt kültürleri haftalık hazırlanarak tüm çalışma boyunca % 20 gliserol içeren ortamda -80°C'de muhafaza edilmiştir.

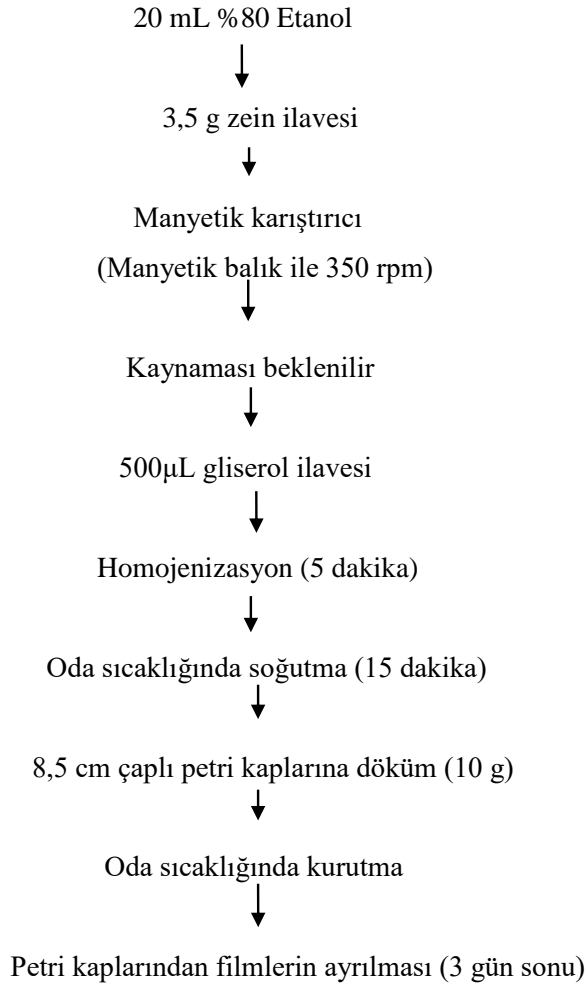
3.2.2. Küf Sporlarının Hazırlanması

A.niger ve *P. camemberti* küf sporları % 0.1 steril tuzlu su kullanılarak steril ortamda toplanılmıştır ve her iki küf solüsyonu 1×10^4 spor/ml olacak şekilde % 0.1 steril tuzlu su kullanılarak ayarlanmıştır. Sporların sayımı için DRBC agar kullanılmıştır (Türe ve ark., 2011).

3.2.3. Biyopolimer Esaslı Filmlerin Hazırlanması

3.2.3.1. Zein Film

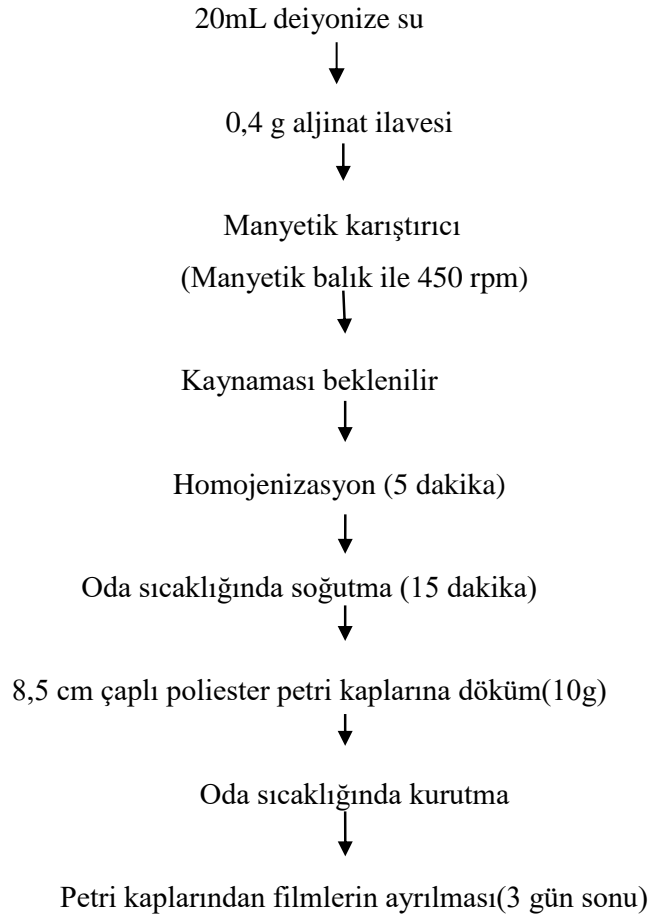
20 mL % 80 etanol içerisine 3.5 g zein ilave edilerek ve manyetik karıştırıcı kullanılarak homojenize edilmiştir. Sıcaklık $80\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de kaynamaya başladıktan sonra 500 μL gliserol yavaş yavaş film solüsyonuna ilave edilmiştir. Film solüsyonlarının (fs) pH'sı yaklaşık olarak 4.66 ± 2 ölçülerek 8.5 cm çaplı poliester petri kaplarına oda sıcaklığında 10 g yayılarak yaklaşık 3 gün oda sıcaklığında kurutulmuştur (Ünalın ve ark., 2013). Zein filmlerin hazırlanışı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Zein filmlerin hazırlanışı

3.2.3.2. Aljinat Film

20 mL deiyonize su içerisine 0.4 g aljinat ilave edilerek ve manyetik karıştırıcı kullanılarak sıcaklık $80\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de homojenize edilmiştir. Aljinat film solüsyonları, pH'sı 6.26 ± 2 ölçülerek zein filmlerinin hazırlanmasında olduğu gibi, 8.5 cm çaplı poliester petri kaplarına oda sıcaklığında 10 g yayılarak yaklaşık 3 gün oda sıcaklığında kuruması beklenilmiştir (Pranoto ve ark., 2004). Aljinat filmlerin hazırlanışı Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Aljinat filmlerin hazırlanışı

3.2.4. Natamisin İçeren Antimikrobiyal Filmlerin Hazırlanması

Natamisin içeren aljinat ve zein filmler hazırlanırken uygun konsantrasyonlardaki natamisin, film solüsyonları hazırlanıp oda sıcaklığında soğutulduktan sonraki basamakta ilave edilip yaklaşık 15 dk. manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra petri kaplarına dökülüp kurumaya bırakılmıştır.

Antimikrobiyal filmlerin hazırlanmasında kullanılacak natamisin miktarları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmlerin hazırlanışı

		Zein	Aljinat	
% 80 EtOH (mL)		20	dH₂O (mL)	20
Zein (g)		3.5	Aljinat (g)	0.4
Gliserol (mL)		0.5		
Natamisin	%	ppm	%	ppm
	0.010	100	0.010	100
	0.020	200	0.020	200
	0.050	500	0.050	500
	0.100	1000	0.100	1000
	0.200	2000	0.200	2000
	0.400	4000	0.400	4000

3.2.5. Natamisin İçeren Filmlerin Antimikrobiyel Özelliklerinin Belirlenmesi

Biyofilmlerin antimikrobiyel özellikleri, agar disk-difüzyon metoduna göre belirlenmiştir. Filmler bir makasla 1cm x 1cm kare olacak şekilde kesilmiştir. Filmler UV ışığı altında steril edildikten sonra mikroorganizmalar PDA besiyerine yayma yöntemiyle ekildikten sonra kesilen filmler, ekimi yapılmış agar üzerine steril pens yardımı ile yerleştirilmiştir. İnkübasyon sonucunda disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür.

3.2.6. Film Kalınlığı

Filmlerin yaklaşık kalınlığının hesaplanmasında dijital elektronik mikron ölçer kullanılmıştır. Film kalınlığının her biri (mm) 10 rastgele ölçümün ortalaması şeklinde ifade edilmiş ve oda sıcaklığında ölçülmüştür.

3.2.7. Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin mekanik özellikleri, Tekstür Profil Analiz cihazı (model TA-XT.plus, Stable Micro System, England) tarafından ASTM Method D882 göre test edilmiştir. Tekstür analizi için hazırlanan örnekler kare petriler (120x120 m²) içerisinde kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra 48 saat boyunca filmleri uygun hale

getirilmek için % 60±2 kısmi nemlilikte oda sıcaklığında bekletilmiştir (ASTM 1991). Kısmi nemlilik desikatör içerisinde doymuş magnezyum nitrat çözeltisi ile ayarlanmıştır. Ölçümler yapılmadan önce her bir filmin beş farklı yerden dijital kumpas ile kalınlığı ölçülmüştür. Filmler analize 10 mm ene ve 50 mm uzunluğa sahip olacak şekilde kesilip tekstür cihazına gerdirilerek tutturulmuştur. Kullanılan test parametreleri şu şekildedir; ön test hızı: 1 mm/sn, test hızı: 1 mm/sn, test sonrası hız: 10 mm/sn, mesafe: 15 mm, tetikleme tipi: otomatik -5g olarak seçilmiştir. Kuvvet ve uzama değerleri kaydedilerek ve gerilme direnci değeri (TS), kopma anında uzama yüzdesi (EB) ve elastik modülü (EM) stress-strain grafiğinden hesaplanmıştır. TS kesit alanı (kalınlık x genişlik) filmin maksimum kopma yüküne bölünerek ve EB örneklerin ilk uzunluk ölçüsünü filmin uzamasına bölünerek 100 ile çarpılarak hesaplanmıştır. EM stress-strain grafiğinin ilk lineer bölgedeki eğiminden hesaplanmıştır. Her bir film türü için en az 6 film test edilmiştir.

3.2.8. Toplam Nem Miktarının Belirlenmesi

Oda koşullarında filmlerin bünyesinde tutulan nem miktarı Rhim ve ark., (1998)'e göre belirlenmiştir. Filmler cam petrilere (± 0.0001 g) tartılmış ve daha sonra etüvde $105 \pm 5^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 24 saat kurutulmuştur. Toplam nem miktarı kurutma sonrası ağırlık kaybı olarak yaş ağırlık üzerinden yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.2.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Filmlerin kesit yapısı ve yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (Hitachi SU1510, Tokyo, Japonya) KV'da incelenmiştir. Örnekler numune tutucu tabla üzerine çift taraflı bantla ile sabitlenmiştir. Filmlerin yüzey ve kesidi elektron mikroskobu (SEM) ile taranmıştır.

3.2.10. Natamisin İçeren Filmlerin Gıda Uygulaması

3.2.10.1. Örneklerin hazırlanması ve inokülüm

Kaşar peyniri örnekleri yerel bir süpermarketten temin edildikten sonra buz torbaları içeren izole edilmiş kutularda laboratuvara hemen getirilmiştir. Kaşar peynirleri 1 cm kalınlığında 2 cm çapında olacak şekilde (yaklaşık 20 g) steril kap kullanılarak kesilmiştir. Daha sonra kesilen kaşar peynirleri 10 dk bir yüzü ve 10 dk diğer yüzü

olacak şekilde UV (254 nm) ışığı altında bırakılmıştır. Dilimlenmiş kaşar peynirleri 3 dakika süre boyunca 10^4 spor/ml küf solüsyonu içerisine daldırılmıştır. Daha sonra her bir yüzey çeker ocak altında 10 dakika kurutulmuştur. Kuruyan kaşar peynirleri yaklaşık 4.5 cm yuvarlak film parçaları arasında yerleştirilmiştir. Daha sonra örnekler steril petri kaplarının içerisinde kilitli poşetlere yerleştirilerek buzdolabında depolanmıştır.

3.2.10.2. Mikrobiyolojik Analiz

Buzdolabında depolanan kaşar peyniri örnekleri 0., 15., 30., 45. günlerin sonunda mikrobiyolojik analiz için alınmıştır. Filmler peynirlerden steril pens ile ayrıldıktan sonra kaşar peyniri örnekleri, içerisinde yaklaşık 180 ml % 0.1 tuzlu su içeren steril torbalara konulup homojenize edilmiştir (Stomacher/Interscience Bagmixer 400, Paris, Fransa). Uygun dilüsyonlar yapıldıktan sonra örnekler DRBC agara ekilmiş ve 30 °C inkübasyona bırakılıp sayımları yapılmıştır.

3.2.11. İstatiksel Değerlendirme

Analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Analizlerden elde edilen veriler varyans analizi (ANOVA) ile incelenerek ve grup ortalamaları arasında önemli bir fark olduğunda Tukey Test metodu ile hangi grup ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu ($p \leq 0.05$) tespit edilmiştir (JMP, USA).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada; öncelikle farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmleri hazırlanarak her film örneğinin *A. niger* ve *P. camemberti* üzerindeki antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. İkinci kısımda, gıda ambalajlamasına uygunluğunun belirlenmesi için hazırlanan antimikrobiyal filmlerin; mekanik özellikleri, kesit yapıları ve yüzey morfolojileri ve nem tutma kapasiteleri gibi bazı fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Araştırmanın son kısmında ise uygun natamisin konsantrasyonları seçilerek hazırlanan filmler *A. niger* ve *P. camemberti* inoküle edilmiş kaşar peyniri üzerine uygulanmıştır. Buzdolabı koşullarında, 45 günlük depolama süresince yapılan ekimlerle natamisin ve film çeşitlerinin küf popülasyonu üzerine etkileri araştırılmış ve elde edilen bulgular değerlendirilerek tartışılmıştır.

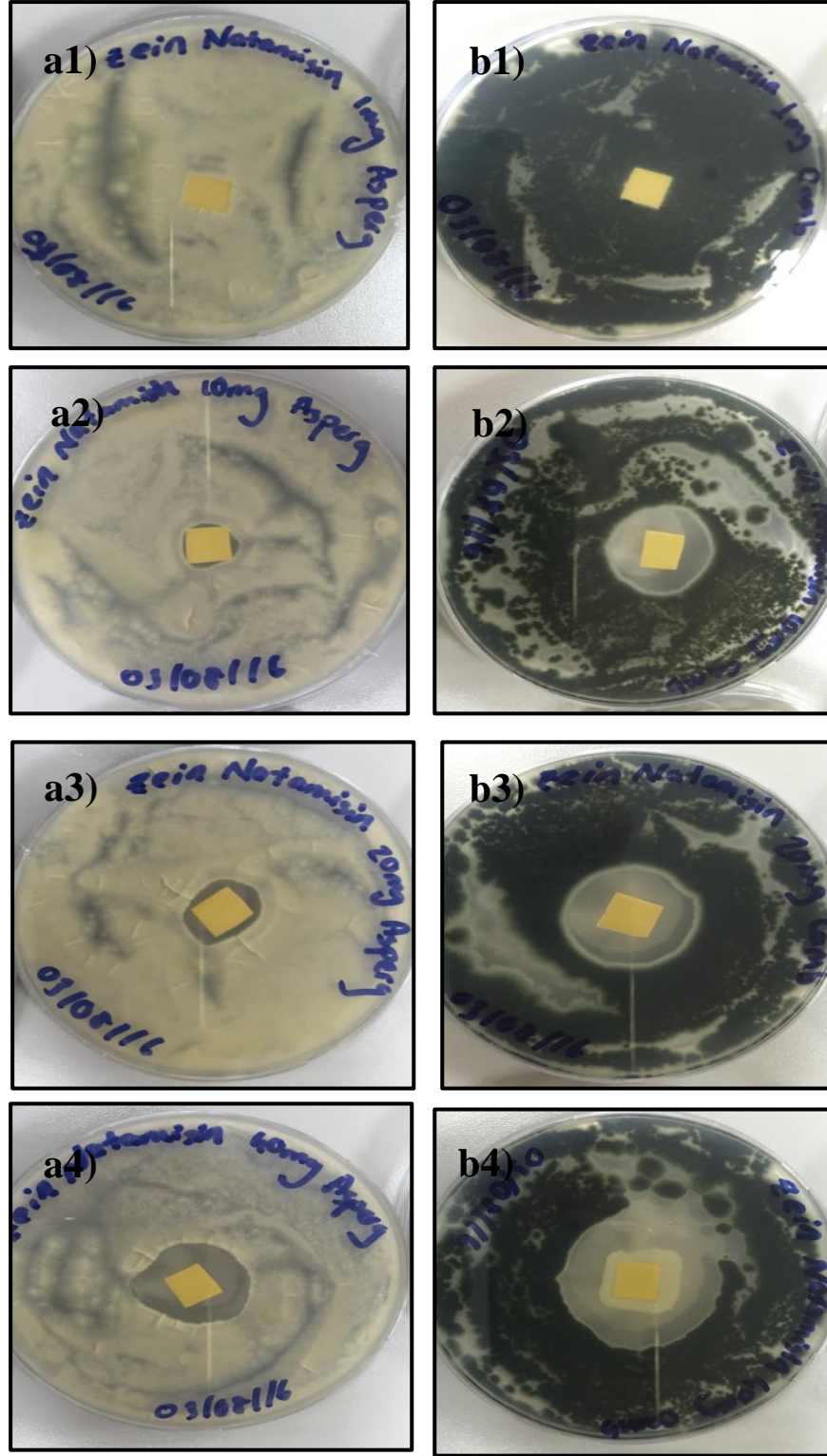
4.1. Natamisin İçeren Zein ve Aljinat Yenilebilir Filmlerinin Antimikrobiyal Özellikleri

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmlerinin antimikrobiyal özellikleri; Bölüm 2.8.3'te belirtilen agar disk-difüzyon metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite için; artan natamisin miktarları (0- 4000 ppm) ilave edilerek hazırlanan zein ve aljinat filmlerinin inkübasyon sonrasında, *A. niger* ve *P. camemberti* test mikroorganizmalarına karşı Potato Dextrose Agar (PDA)'da oluşturdukları inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Zein ve aljinat filmleri paralel çalışılarak inhibisyon zon çapları ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Çizelge 4.1. *A. niger* ve *P. camemberti* mikroorganizmalarına karşı farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerin oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Natamisin (ppm)	İnhibisyon Zon Çapı (cm)	
	<i>P. camemberti</i>	<i>A. niger</i>
0	+	+
100	+	+
200	+	+
500	+	+
1000	2.30 \pm 0.28 ^a	1.15 \pm 0.21 ^a
2000	2.80 \pm 0.26 ^a ^b	1.65 \pm 0.20 ^{ab}
4000	3.37 \pm 0.19 ^b	2.20 \pm 0.14 ^b

+ zon yok, farklı NA miktarlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen inhibisyon alanları arasında istatistiksel bir farklılık yoktur ($P>0.05$).



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin *A.niger* (a) ve *P.camemberti* (b) mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları; 1) 100 ppm natamisin 2) 1000 ppm natamisin 3) 2000 ppm natamisin 4) 4000 ppm natamisin içeren zein filmler.

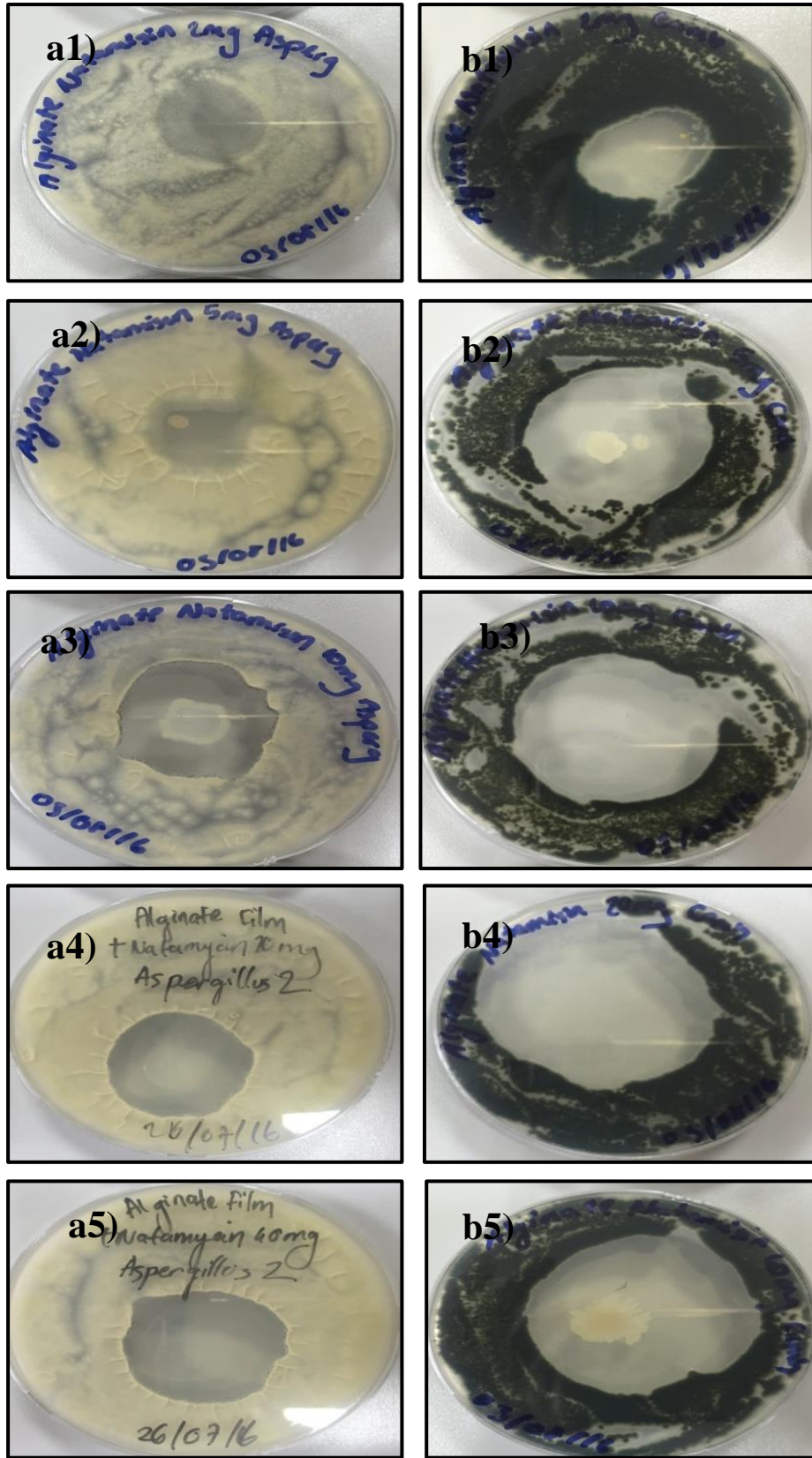
Agar disk-difüzyon testi sonucunda; kontrol grubu (natamisin içermeyen) ve 100-500 ppm natamisin içeren zein filmlerinin, test mikroorganizmalarına karşı inhibisyon zonu oluşturamadıkları gözlenmiştir. Antimikrobiyal etkinin gözlemlenebilmesi için gerekli minimum natamisin konsantrasyonu 1000 ppm olarak belirlenmiştir. Bu dozun üzerindeki miktarlarda, artan natamisin miktarıyla birlikte zein filmlerinin oluşturdukları inhibisyon zon çaplarının da arttığı ve en geniş zon çapının 4000 ppm natamisin bulunduran zein filmlerine ait olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Zein filmlerinin test mikroorganizmaları üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında; kontrol grubu ve 100-500 ppm natamisin konsantrasyon içeren filmlerin her iki küf türü üzerine herhangi bir inhibitör etkisinin olmadığı görülmektedir. Artan natamisin konsantrasyonlarına karşı *P. camemberti*'nin, *A. niger*'e kıyasla daha hassas olduğu ve oluşan inhibisyon zonu çaplarının daha büyük olduğu söylenebilmektedir.

Zein filmleri bileşiminde 1000 ile 4000 ppm natamisin yer aldığı sırasıyla *P. camemberti* ve *A. niger* için 1.50-3.98 cm ve 1.15-2.20 cm çaplarında inhibisyon zonlarının oluştuğu belirlenmiştir. Natamisinin düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki gösterememesinin nedenleri arasında; plastikleştirici olarak kullanılan gliserolün, yapıyı yeterince gevşetmemesinden dolayı agarın yapısında bulunan suyun ağ yapısı içerisine giremeyip natamisinin zein filminden agara difüze olmasına yardımcı olamaması ve zein filmlerinin genel hidrofobik yapısı sayılabilir.

Çizelge 4.2. *A.niger* ve *P.camemberti* mikroorganizmalarına karşı farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerin oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Natamisin (ppm)	İnhibisyon Zon Çapı (cm)	
	<i>P. camemberti</i>	<i>A. niger</i>
0	+	+
100	+	+
200	3.48±1.38 ^a	2.63±0.23 ^a
500	4.01±0.88 ^a	2.99±0.41 ^a
1000	4.69±0.26 ^a	3.38±0.31 ^a
2000	4.80±0.22 ^a	4.32±1.11 ^a
4000	4.97±0.04 ^a	4.40±1.10 ^{4a}

+ zon yok, farklı NA miktarlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen inhibisyon alanları arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05).



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin *A.niger* (a) ve *P.camemberti* (b) mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları; 1) 200 ppm natamisin 2) 500 ppm natamisin 3)1000 ppm natamisin 4) 2000 ppm natamisin 5) 4000 natamisin içeren aljinat filmler

Mecitoğlu-Güçbilmez, (2014), yaptığı çalışmada, kekik esansiyel yağı içeren zein filmlerinden elde edilen filmlerin antimikrobiyal test uygulandığında test edilen küflere, test edilen mayalardan daha fazla etki ettiğini ve en hassas organizmanın *A.fumigatus* olduğunu belirlemiştir.

Kontrol (natamisin içermeyen) grubu ve 100 ppm natamisin içeren aljinat filmleri test organizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterememiştir. Her iki test mikroorganizmasına karşı minimum inhibisyon zon çapı, 200 ppm natamisin içeren aljinat filmlerde belirlenirken bunu 500, 1000 ve 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmleri izlemiş ve natamisin konsantrasyonu arttıca inhibisyon çaplarının büyüdüğü tespit edilmiştir. Maksimum inhibisyon zon çapı ise en yüksek konsantrasyon olan 4000 ppm natamisini bulduran aljinat filmlerinde belirlenmiştir. Test mikroorganizmaları karşılaştırıldığında ise natamisin içeren aljinat filmlerinin *A. niger*'e kıyasla *P. camemberti*'ye karşı daha etkili bir inhibisyon gerçekleştirmiştir. Benzer şekilde *P. camemberti*'ye kıyasla *A. niger*'in natamisine karşı daha dirençli olduğu da söylenebilmektedir (şekil 4.2).

Aljinat ve zein filmlerine antimikrobiyal ajan olarak ilave edilen natamisinin konsantrasyonu arttıca antimikrobiyal aktivite her iki test organizmasına karşı artmıştır. Fakat aljinat filmleri, zein filmlerine göre *A. niger*'e karşı daha fazla inhibisyon etkisi göstermiştir. Aljinat filmlerinin pH'sı 6.26 ± 2 olmasına rağmen zein filmlerinin pH'sı 4.66 ± 2 ollmştr. Kf gelişimi düşük pH'da optimum seviyelerde olduğundan antimikrobiyal aktivitede pH'nın etkisi görülmemiştir.

Silva ve arkadaşları, (2013), yaptıkları çalışmada; kontrol (natamisin içermeyen) ve 0.04-0.08 g natamisin içeren aljinat filmlerinin *Debaromyces hansenii*, *Penicillium commune* ve *Penicillium roqueforti* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar ve en büyük inhibisyon zon çapını en yüksek natamisin konsantrasyonunda belirlemişlerdir. Bu çalışmada belirlenen en yüksek antimikrobiyal aktivite *Penicillium roqueforti* mikroorganizmasına karşı olmuştur. Tre ve arkadaşları, (2008), yaptıkları çalışmada natamisinin *A. niger* ve *P. roqueforti* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Buğday gluteni ve metil selüloz biyofilmlerinin içerisine 0.007-0.033 g arasında ilave edilen natamisinin miktarı arttıca inhibisyon zon çapı uzunluğunun da arttığı görülmüştür.

Çalışma sonucunda natamisinin *A. niger*'e kıyasla *P. roqueforti*'ye karşı daha etkin bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

4.2. Antimikrobiyal Filmlerin Fiziksel ve Mekanik Özellikleri

4.2.1. Filmlerin Kalınlıklarının Ölçülmesi

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein yenilebilir filmlerinin yaklaşık kalınlıklarının hesaplanmasında dijital elektronik mikron ölçer kullanılmış ve sonuçlar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Her bir filmin kalınlığı 10 rastgele ölçümün ortalaması olarak ifade edilerek sonuçlar mekanik testler için kullanılmıştır.

Çizelge 4.3'te verilen kalınlık sonuçları incelendiğinde, farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin kalınlıklarının 0.02 ile 0.03 mm arasında değiştiği görülmektedir fakat istatistiksel bir fark yoktur. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin kalınlıkları 0.30 ile 0.51 mm arasında değişmektedir. En ince zein filmleri 200 ppm natamisin içerenler olurken en kalın zein filmleri ise 2000 ppm natamisin ilave edilen zein filmleri olmuştur. Sonuçlar genel olarak, zein filmlerinin aljinat filmlerine göre daha kalın olduğunu göstermiştir. Filmlerin kalınlıklarının, petrilere dökülen film çözeltisinin miktarı, filmlerin kurutulma şekli ve süresi ile içerisine ilave edilen antimikrobiyal maddenin konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği söylenebilir.

Benzer bir çalışmada Silva ve arkadaşları, (2013), 0-8 g konsantrasyonları arasında natamisin içeren aljinat filmlerinin kalınlıklarını ölçmüş ve natamisin konsantrasyonlarının artmasıyla filmlerin kalınlıklarının (47-65 µm) doğru orantılı olarak arttığını bildirmiştir. Mecitoğlu-Güçbilmez, (2014), yaptığı çalışmada, içeriğinde hiçbir madde bulunmayan zein filmin kalınlığının en fazla olduğu, kalınlık miktarlarının sırasıyla zein film> defne esansiyel yağ içeren> defne ve kekik esansiyel yağ içeren> potasyum sorbat içeren> portakal esansiyel yağ içeren> kekik esansiyel yağ içeren zein film olduğunu ve yenilebilir filmlerin kalınlıklarının 0.100-0.139 mm arasında olduğunu tespit etmiştir.

4.2.2. Filmlerin Mekanik Özellikleri

Gerilme direnci değeri (TS), kopma anında uzama yüzdesi (EB) ve elastik modülü (EM) ambalaj materyali için önemli özelliklerdir (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997). Gerilim direnci, uygulanan dış kuvvete karşı malzemenin gösterdiği tepki, uzama ise dış kuvvetlerin etkisiyle ambalajın geometrik durumundaki değişim yüzdesi olarak ifade edilir.

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein filmlerin kalınlık ölçümleri ve mekanik özellikleri

Film	NA (ppm)	Kalınlık (mm)	Mekanik Özellikler		
			TS (MPa)	EM (N/mm ²)	EB (%)
Aljinat	0	0.030±0.008 ^a	280.82±159.20 ^b	3333.40±2236.30 ^b	3.447±0.002 ^a
	100	0.030±0.008 ^a	355.07±189.10 ^b	4704.90±1251.30 ^{ab}	3.446±0.001 ^a
	200	0.023±0.005 ^a	610.04±275.10 ^{ab}	5926.90±2064.80 ^{ab}	3.449±0.002 ^a
	500	0.023±0.005 ^a	503.10±161.70 ^{ab}	6081.00±891.70 ^{ab}	3.446±0.001 ^a
	1000	0.020±0.002 ^a	629.60±55.40 ^{ab}	6581.00±20.70 ^{ab}	3.270±0.248 ^a
	2000	0.020±0.002 ^a	830.90±114.90 ^a	7633.50±646.20 ^a	3.446±0.001 ^a
	4000	0.020±0.010 ^a	469.00±201.30 ^{ab}	7278.20±554.60 ^a	3.446±0.001 ^a
	Zein	0	0.44±0.007 ^{abc}	1.00±0.17 ^b	335.60±152.72 ^d
100		0.42±0.024 ^{ab}	1.30±0.65 ^b	544.20±43.59 ^{abc}	1.14±0.623 ^c
200		0.30±0.015 ^c	3.70±1.26 ^a	674.20±9.58 ^a	2.77±0.814 ^{ab}
500		0.37±0.051 ^{bc}	1.60±0.70 ^b	639.96±83.45 ^a	0.96±0.362 ^c
1000		0.43±0.063 ^{ab}	1.40±0.76 ^b	565.84±102.95 ^{ab}	1.09±0.462 ^c
2000		0.51±0.035 ^a	0.40±0.16 ^b	349.69±53.40 ^{cd}	0.67±0.155 ^c
4000		0.44±0.054 ^{ab}	1.50±0.52 ^b	458.09±50.88 ^{bcd}	1.76±0.384 ^{bc}

Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen mekanik özellikleri arasında istatistiksel bir farklılık yoktur ($P>0.05$). (TS= Gerilim Direnci, EM= Elastik modülü, EB=uzama yüzdesi)

Polimer zincirleri arasındaki çekim kuvvetleri ne kadar fazlaysa malzeme o kadar sert ve dayanıklıdır (Erol, 2012). Elastik modülü ise Bölüm 3.2.7’de belirtildiği gibi doğrusal olan bölgenin eğimi, ambalajın sertliğinin bir ifadesi olarak adlandırılır. Aljinat ve zein filmlerinin mekanik özelliklerine ait bulgular standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.3’te gösterilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin mekanik özellikleri incelendiğinde; kopma anındaki en yüksek uzama yüzdesinin, 200 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde % 3.449 olduğu tespit edilmiştir. Farklı natamisin konsantrasyonlarına sahip aljinat filmlerin uzama yüzdeleri arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmemiş olup en düşük uzama yüzdesinin % 3.27 olarak 1000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre natamisin konsantrasyonu 0-2000 ppm arasında artarken aljinat filmlerinin gerilme dirençleri de artmış ve 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde en yüksek gerilim direncine ulaşılmıştır. En düşük gerilim direnci de natamisin içermeyen aljinat filmlerinde belirlenmiştir.

Elastik modülü değerleri de benzer şekilde 0-2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde artarak devam etmiş ve en yüksek elastikiyet değeri 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde görülmüştür. En yüksek natamisin konsantrasyonu olan 4000 ppm natamisin bulunduran filmlerde ise elastikiyet değerinde bir miktar azalma olduğu görülmektedir. Dong ve arkadaşları, (2006), yaptıkları çalışmada, ambalajlamada mekaniksel özelliklerin belirlenmesinde en önemli faktör olan elastikiyetin ve gerilme direncinin ilaç sektöründe kaplama olarak kullanılan aljinat ve jelatin kompozit filminde, 20°C ve % 65 bağıl nemde başarılı sonuçlar verdiğini saptamışlardır. Diğer bir çalışmada, % 0-1.5 arasında 4 farklı konsantrasyonda oregano esansiyel yağı içeren alginat filmlerin ise konsantrasyonu arttıkça, gerilme dirençlerinin azaldığı, uzama yüzdesinin ise % 2.2'den 3.7'ye kadar arttığı belirtilmiştir (Benvides ve ark., 2012).

Zein filmlerin mekanik özelliklerine bakıldığında; uzama yüzdesinin % 0.668-3.45 arasında geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir. En yüksek uzama yüzdesine kontrol (natamisin içermeyen) grubu zein filmlerinde rastlanırken en düşük uzama yüzdesi ise 2000 ppm natamisin içeren zein filmlerinde tespit edilmiştir. Gerilme dirençleri 0.4 ile 4.5 MPa arasında değişmektedir. En yüksek gerilme direnci 200 ppm natamisin içeren zein filmlerinde belirlenmiştir. Zein filmlerinin elastik modülleri incelendiğinde 335.6-674.2 N/mm² değerleri arasında değiştiği görülmekte olup en yüksek elastikiyetlik 200 ppm natamisin içeren zein filmlerinde, en düşük elastikiyetlik ise kontrol (natamisin içermeyen) grubunda belirlenmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde, zein filmlerin formülasyonuna plastikleştirici olarak gliserol ve antimikrobiyal madde olarak natamisin ilavesinin elastikiyeti artırdığı ve film yapısının gelişmesine olumlu katkı yaptığı düşünülebilir. Han, (2000), yaptığı çalışmada biyofilmlere ilave edilen antimikrobiyal maddelerin, filmin düzensiz yapılarının olduğu bölgelere yerleştiğini ve filmlerin mekanik özellikleri üzerine etki etmediğini savunmuştur. Biyofilmlerin mekanik özelliklerinin geliştirmesi için film içeriğine eklenen candelilla ve carnabau mumu katkılarının, gerilme kuvvetini artırırken % uzama değerlerini azalttığı tespit edilmiştir (Kim ve Ustunol, 2001; Chick ve Hernandez, 2002). Ku ve arkadaşları, (2008), yaptığı araştırmada farklı konsantrasyonlarda (0-1200 IU/ mL) nisin içeren zein filmlerinin gerilim dirençlerini ölçmüştür. Nisin konsantrasyonu arttıkça zein filmlerinin gerilim dirençlerinin de arttığı gözlemlenmiştir.

Aljinat ve zein filmlerinin mekanik özelliklerini karşılaştırıldığında aljinat filmlerinin yapısal özelliklerinin daha iyi olduğu görülmektedir. Zein filmleri, protein kaynaklı biyopolimerler olup zeinin karakteristik film yapısını ileri görüntüleme teknikleriyle ayrıntılı şekilde araştırıldığı bir çalışmada bu filmlerin, asimetric çubuklar şeklindeki zein moleküllerinin yan yana dizilerek simit halkası şeklinde kümelenmesi ve çok sayıda halkanın da yan yana gelerek bir yapı oluşturmasıyla meydana geldiğini belirlemişlerdir (Guo ve ark., 2007). Ayrıca, zein filmlerde rastlanan klasik kırılma ve elastikiyet sorunlarının zein moleküllerini bir arada tutan güçlü hidrofobik reaksiyonlardan kaynaklandığı belirtilmiştir. Plastikleştirici olarak gliserolün kullanılmasıyla zein filminin mekanik özellikleri iyileştirilmeye çalışılmıştır. Diğer taraftan, yapılan çalışmalarda da belirtildiği üzere aljinat filmler, hidrokolloid yapısından dolayı daha esnek ve güçlü bir film yapısına sahiptir (Yeşiltaş, 2012).

4.2.3. Toplam Nem Miktarının Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmlerin bünyesinde tutulan nem miktarı Bölüm 3.2.8'teki yöntemle göre belirlenmiştir. Filmlerin yapısında yer alan toplam nem miktarları Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda natamisin ilave edilen zein ve aljinat filmlerin yapısında bulunan toplam nem miktarları (%)

Natamisin (ppm)	Toplam Nem Miktarı (%)	
	Zein	Aljinat
0	7.55±0.070 ^d	15.69±0.438 ^a
100	9.90±0.282 ^{abc}	15.61±5.112 ^a
200	11.06±0.989 ^a	13.50±0.707 ^a
500	10.60±0.339 ^{ab}	17.50±2.121 ^a
1000	8.45±0.042 ^{cd}	20.67±1.873 ^a
2000	8.89±0.728 ^{bcd}	21.02±2.828 ^a
4000	8.81±0.282 ^{cd}	17.50±3.535 ^a

Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsül harflerle (a-d) gösterilen nem tutma kapasiteleri arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05)

Çizelge 4.4 incelendiğinde, zein filmlerinin toplam nem miktarı; % 7.55 ile % 11.06 değerleri arasında değiştiği görülmektedir. En düşük nem miktarı kontrol (natamisin içermeyen) grubunda tespit edilirken en yüksek nem miktarı 200 ppm natamisin içeren zein filmlerinde belirlenmiştir. Aljinat filmleri toplam nem miktarları % 13.50 ile % 21.02 değerleri arasındadır. En yüksek toplam nem miktarı 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde belirlenirken en düşük toplam nem miktarı ise 200 ppm natamisin içeren aljinat filmlerinde belirlenmiştir.

Genel olarak natamisin içeren aljinat filmlerinin, natamisin içeren zein filmlere kıyasla % nem içeriklerinin daha yüksek olduğu görülmektedir (P>0.05). Yapılan çalışmalarda aljinat filmlerinin hidrofilik özellikte olduğu için nem bariyer özelliklerinin zayıf; fakat hidrofilik maddelerden oluşan yenilebilir filmlerin su buharı geçirgenliklerinin yüksek olduğu savunulmuştur (Shahidi ve ark., 1999). Lieberman ve Gilbert, (1973), yaptıkları çalışmada % 50 bağıl nemde oda koşullarındaki zein ve aljinat filmlerinin su buharı geçirgenliklerini sırasıyla 12-24 g.mm/m².dkPa ve 42.2 g.mm/m².dkPa olarak tespit etmiştir. Hidrofobik yapısından dolayı zein filmlerin genelde su buharı geçirgenliğinin azaltılmasında kullanılabileceği düşünülmüştür. Yapılan araştırmalarda kullanılan plastikleştirici çeşidi ve konsantrasyonu ile test koşullarının filmin yapısal özelliklerini önemli derecede etkilediği belirtilmiştir (Krochta, 2002). Diğer bir araştırmada, plastikleştirici olarak gliserol kullanıldığında plastikleştirilmemiş zein filmlerinin beş kat daha fazla su aktivitesine sahip olduğu ve bunun gliserolün hidrofilik özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Dursun ve Erkan, 2009). Sonuç olarak, aljinat yapısının hidrofilik özelliğinden dolayı her ne kadar da zein filmlerinin

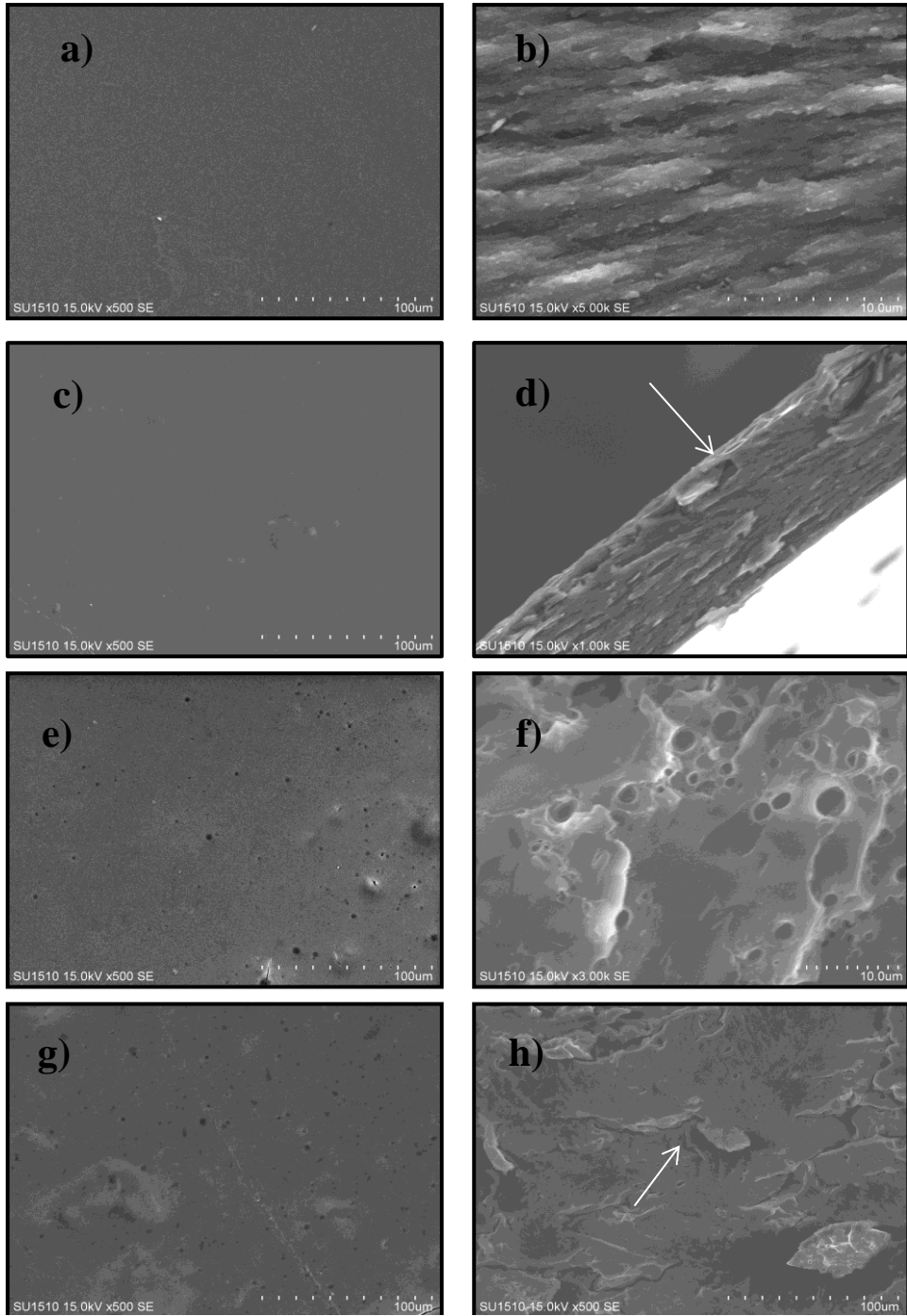
yapısına katılan gliserol; hidrofilik özellikte olsa da zein filmlerinin aljinat filmlerine göre kısmen nem kaybını azalttığı düşünülebilir.

4.3. Filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Morfolojisi

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein biyopolimerlerden elde edilen yenilebilir film örneklerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenen yüzey ve kesit yapıları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

Şekil 4.3'deki mikrograflara bakıldığında, en homojen yüzey yapısına sahip film örneklerinin natamisin içermeyen kontrol aljinat filmleri olduğunu söylemek mümkündür. Kontrol aljinat filmlerinin yüzeyinde hava kabarcığı veya küçük deliklere rastlanmamıştır. Fakat 4000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerin bazı bölgelerin pürüzlü olduğu görülmektedir (Şekil 4.3.d). Bu pürüzlülüğün yeterince çözülmeden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca 4000 ppm natamisin içeren aljinat film örneklerinin kesit yapıları incelendiğinde, natamisin kesit yapısında kristalize formda olduğu görülmüştür. Pires ve ark., (2008)'e ait çalışmada ise natamisin içeren selüloz filmlerindeki küçük antimikrobiyal kristallerin SEM mikroskobunda benzer bir şekilde gözlemlenmiştir.

Zein filmlerinin SEM mikroskobundaki mikrografları incelendiğinde, natamisin içeren ve içermeyen zein filmlerinin yüzey yapılarında hava kabarcıklarının ve deliklerin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3.f). Natamisin konsantrasyonu arttıkça film örneklerinin kesit yapısı daha düzenli ve sıkı olup natamisin varlığını gözlemlemek mümkün olabilmektedir (Şekil 4.3.h). Zein filmlerinde yapı özelliklerini geliştirmek için plastikleştirici olarak kullanılan gliserol ve miktar arttıkça kullanılan natamisin zein film yapısına uyumlu olduğu söylenebilir. Arcan ve Yemencioğlu, (2013)' na ait benzer bir çalışmada, kateşin içeren zein filmlerinin SEM mikroskobundaki mikrograflarında 3.00 mg/cm^2 kateşin içeren zein film örneklerinin kesit yapısının daha düzgün ve yüzey yapılarının daha homojen olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein filmlerinin SEM mikroskopunda görüntülenen yüzey ve kesit yapıları, a) kontrol (0 natamisin) içeren aljinat filmin yüzey yapısı, b) kontrol (0 natamisin) içeren aljinat filmin kesit yapısı, c) 4000 ppm natamisin içeren aljinat filmin yüzey yapısı, d) 4000 ppm içeren aljinat filmin kesit yapısı, e) kontrol (0 natamisin) içeren zein filmin yüzey yapısı, f) kontrol (0 natamisin) içeren zein filmin kesit yapısı, g) 4000 ppm natamisin içeren zein filmin yüzey yapısı, d) 4000 ppm içeren zein filmin kesit yapısı (Şekildeki ok, natamisin kristallerini göstermektedir.)

4.4. Farklı Konsantrasyon Natamisin İçeren Zein Filmin Kaşar Peyniri Üzerine Uygulaması

Zein filmleriyle ambalajlanan test patojenlerinin inoküle edildiği kaşar peyniri dilimleri 45 gün süresince buzdolabı koşullarında depolanmış ve depolamanın 0., 15., 30. ve 45. günlerinde mikrobiyolojik analizleri yapılarak natamisin katkılı zein filmlerin antifungal etkisi belirlenmiştir.

A. niger inoküle edilen kaşar peynirleri, Bölüm 3.2.10'de belirtildiği gibi farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmleriyle ambalajlanmış ve zein filmlerinin antimikrobiyal etkisi depolama boyunca ölçülmüştür. Bu örnekler ayrıca, işlem görmemiş ve UV'ye maruz bırakılmış kaşar peyniri ve *A. niger* bulaştırılmış kaşar peyniri örnekleriyle de karşılaştırılmıştır. Örnekler, 10°C'de depolanmış ve 0., 15., 30. ve 45. günlerde *A. niger* sayımı yapılmış olup sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir.

A. niger inoküle edilmiş kaşar peynirleri dilimlerinde (3), küf populasyonu depolama süresince artmış olup 45 gün sonundaki ortalama küf konsantrasyonu 6.46 log kob/g olarak saptanmıştır. Natamisin içermeyen zein kontrol filmleriyle kaplanan *A. niger* inoküle edilmiş kaşar peynirlerinde (4), küf populasyonunda 30. güne kadar azalma görülürken 45. gün sonunda % 37.75'lik bir artış gözlemlenmiştir. Natamisin içermeyen zein kontrol filmleri (5) test mikroorganizmalar ile inoküle edilmemiş kaşar dilimleri ile ambalajlandığında 15 gün boyunca antimikrobiyal etki gösterdiği; fakat depolama süresince zein filmlerinin tek başına antimikrobiyal etkiyi sağlayamadıkları söylenebilir.

Farklı konsantrasyonlarda ilave edilen natamisin, zein filmlerine ilk olarak 200 ppm (6) konsantrasyonunda eklenerek kaşar peyniri dilimleri ambalajlanmıştır. Depolama süresince 15. günde 3.12 kob/g kadar yükselip 30. gün sonunda ilk güne kıyasla % 31.54'lük bir azalma göstermiştir. Depolama süresi sonunda ise 2.67 kob/g'a ulaşmaktadır. Bu sonuçlara göre, 200 ppm natamisin içeren zein filmleriyle ambalajlanan kaşar peynir dilimleri çok az antimikrobiyal etki gösterebilmiştir. 500 ppm natamisin içeren zein film örnekleri (7) ve 1000 ppm natamisin içeren zein film örnekleri (8) 30. güne kadar logaritmik bir azalış eğrisi göstererek başlangıç seviyelerine göre sırasıyla % 30.51 ve % 20.07 azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *A. niger* popülasyonu (log kob/g) üzerine etkileri

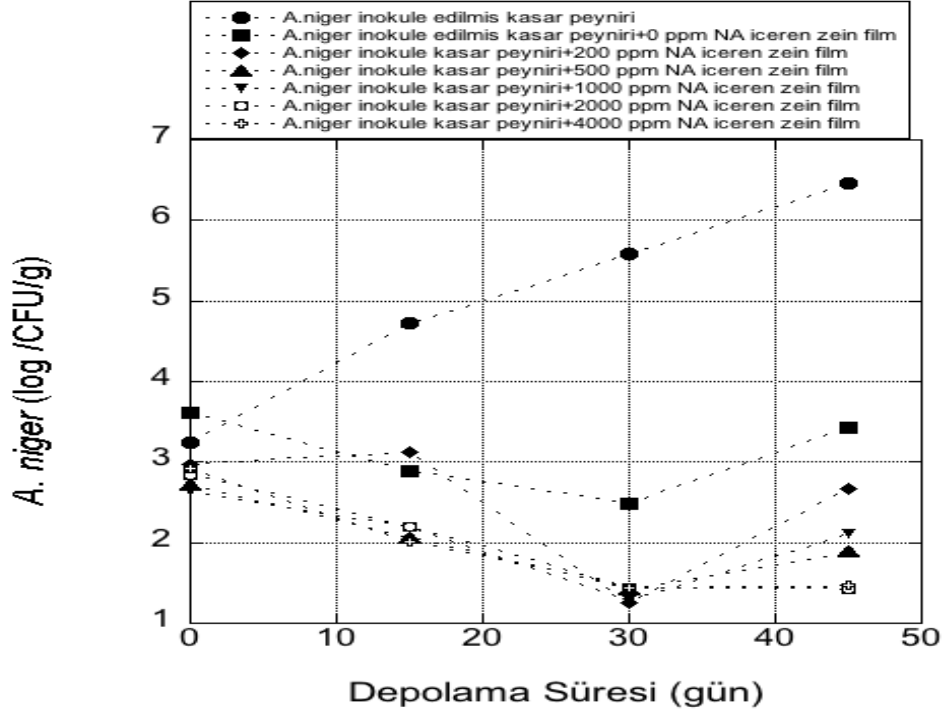
Uygulama*	0. gün	15. gün	30. gün	45. gün
1	0 ^b	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
2	0 ^b	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
3	3.24±0.280 ^a	4.73±0.345 ^a	5.59±0.162 ^a	6.46±0.310 ^a
4	3.62±0.090 ^a	2.89±0.669 ^{ab}	2.49±1.957 ^{ab}	3.43±0.058 ^{bc}
5	0 ^b	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
6	2.98±0.465 ^a	3.12±0.020 ^a	2.04±0.067 ^b	2.67±0.120 ^b
7	2.72±0.315 ^a	2.07±0.148 ^{ab}	1.41±0.007 ^b	1.89±0.107 ^{cde}
8	2.64±0.353 ^a	2.19±0.882 ^{ab}	1.29±0.412 ^b	2.11±0.212 ^{bcd}
9	2.84±0.389 ^a	2.19±0.407 ^{ab}	1.45±0.171 ^b	1.43±0.070 ^{de}
10	2.92±0.243 ^a	2.01±0.253 ^b	1.48±0.013 ^b	1.42±0.007 ^e

*Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-e) gösterilen *A.niger* popülasyonu (log kob/g) arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05).

1= herhangi bir işlem yapılmamış kaşar peyniri, 2= UV uygulanmış kaşar peyniri, 3= *A. niger* inoküle edilmiş kaşar peyniri, 4= UV uygulanmış kaşar peyniri + *A. niger* inoküle edilmiş + 0 ppm NA içeren zein film, 5= UV uygulanmamış kaşar peyniri + 0 ppm NA içeren zein film, 6= *A. niger* inoküle edilmiş +200 ppm NA içeren zein film, 7= *A. niger* inoküle edilmiş +500 ppm NA içeren zein film, 8= *A. niger* inoküle edilmiş + 1000 ppm NA içeren zein film, 9= *A. niger* inoküle edilmiş +2000 ppm NA içeren zein film, 10= *A. niger* inoküle edilmiş + 4000 ppm NA içeren zein film

Bu sonuçlara göre, 200 ppm natamisin içeren zein filmleriyle ambalajlanan kaşar peynir dilimleri çok az antimikrobiyal etki gösterebilmiştir. 500 ppm natamisin içeren zein film örnekleri (7) ve 1000 ppm natamisin içeren zein film örnekleri (8) 30. güne kadar logaritmik bir azalış eğrisi göstererek başlangıç seviyelerine göre sırasıyla % 30.51 ve % 20.07 azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.4). Bu durumda 500 ppm ve 1000 ppm natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresi boyunca çok iyi bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği söylenebilir. 2000 ppm (9) ve 4000 ppm natamisin içeren zein film örnekleri (10) ile kaplanan kaşar dilimlerindeki *A. niger* sayısı depolama süresince sürekli azalarak 45. gün sonunda başlangıç seviyelerine kıyasla sırasıyla % 49.64 ve % 51.36 azalma belirlenmiştir. Bu sonuç, *A. niger*'e karşı yeterli antimikrobiyal etkinin sağlanabilmesi için zein filmlerine en az 2000 ppm natamisin katkısının gerekli olduğunu göstermektedir.

Kaşar peyniri örneklerinde önemli sorun yaratan *P. camemberti* küfüne karşı natamisin katkılı zein filmlerin etkisi araştırılmıştır. *P. camemberti* inoküle edilen kaşar peyniri dilimleri zein filmleriyle ambalajlanarak depolama süresi boyunca mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *A. niger* popülasyonu üzerine etkileri

Ayrıca işlem görmemiş ve UV ile muamale edilmiş kaşar peyniri ve *P. camemberti* aşılınmış kaşar peyniri örnekleriyle karşılaştırılmıştır. Örnekler, 10°C’de depolanmış ve 0., 15., 30. ve 45. günlerde *P. camemberti* sayımı yapılmış olup sonuçlar Çizelge 4.6’da verilmiştir.

P. camemberti inoküle edilmiş kaşar peyniri dilimlerinde (3), 45 günlük depolama süresi boyunca artış olup küf sayısı 4.87 log kob/g değerine ulaşmıştır. Natamisin içermeyen kontrol zein filmleri (4) ile kaplanan örneklerde 30. gün sonunda azalma olup 2.06 log kob/g olarak belirlenmiştir. Son 15 günlük süreçte ise *P. camemberti* sayısında % 40 düzeyinde bir artış belirlenmiştir. Ayrıca, sade kaşar dilimleri natamisin içermeyen zein filmleri (5) ile ambalajlandığında 30. güne kadar mikroorganizma sayısında bir artış olmamış, 45 günlük depolama süresi sonunda ise mikroorganizma sayısında artış gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *P. camemberti* popülasyonu (log kob/g) üzerine etkileri

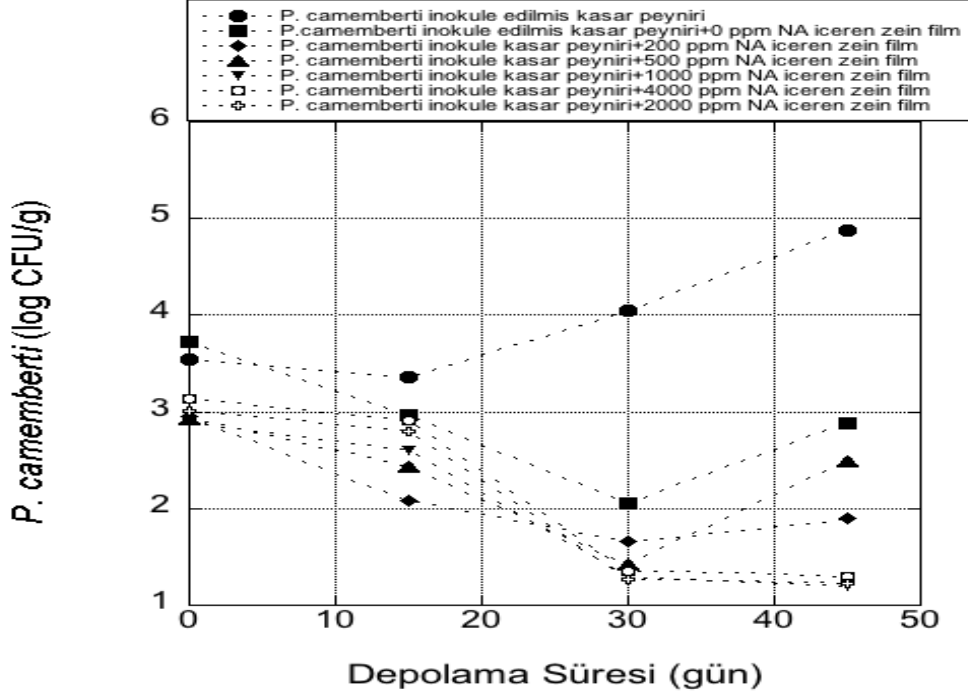
Uygulama*	0. gün	15. gün	30. gün	45. gün
1	0 ^b	0 ^b	büyüme fazla	büyüme fazla
2	0 ^b	0 ^b	büyüme fazla	büyüme fazla
3	3.54±0.66 ^a	3.36±0.08 ^a	4.05±0.08 ^a	4.87±0.06 ^a
4	3.72±0.21 ^a	2.96±0.43 ^a	2.06±0.13 ^{ab}	2.88±0.01 ^b
5	0 ^b	0	büyüme fazla	büyüme fazla
6	2.95±0.01 ^a	2.08±0.36 ^a	1.66±1.02 ^b	1.89±0.75 ^d
7	2.93±0.11 ^a	2.44±0.39 ^a	1.42±0.71 ^b	2.49±0.21 ^c
8	2.88±0.34 ^a	2.60±0.47 ^a	1.30±0.070 ^b	1.19±0.08 ^e
9	3.01±0.23 ^a	2.80±0.27 ^a	1.26±0.02 ^b	1.23±0.01 ^e
10	3.14± 0.82 ^a	2.91± 0.08 ^a	1.35± 0.01 ^b	1.29±0.07 ^e

* Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen *P. camemberti* popülasyonu (log kob/g) arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05).

1= herhangi bir işlem yapılmamış kaşar peyniri, 2= UV uygulanmış kaşar peyniri, 3= *P. camemberti* inoküle edilmiş kaşar peyniri, 4= UV uygulanmış kaşar peyniri + *P. camemberti* inoküle edilmiş + 0 ppm NA içeren zein film, 5= UV uygulanmamış kaşar peyniri + 0 ppm NA içeren zein film, 6= *P. camemberti* inoküle edilmiş +200 ppm NA içeren zein film, 7= *P. camemberti* inoküle edilmiş +500 ppm NA içeren zein film, 8= *P. camemberti* inoküle edilmiş + 1000 ppm NA içeren zein film, 9= *P. camemberti* inoküle edilmiş +2000 ppm NA içeren zein film, 10= *P. camemberti* inoküle edilmiş + 4000 ppm NA içeren zein film

P. camemberti inoküle edilmiş kaşar peyniri dilimleri 200 ppm natamisin içeren zein filmleriyle (6) ambalajlanmış ve 30. güne kadar sürekli azalarak başlangıç seviyesine kıyasla % 43.72'lik azalma gözlemlenmiştir. Ancak, 45. günde yapılan analiz sonucunda *P. camemberti* sayısında 30. güne kıyasla % 13.58 bir artış gözlemlenmiştir. Aynı şekilde 500 ppm natamisin katkılı zein filmlerle kaplanan kaşar örneklerinde (7) 30. güne kadar bir azalma gözlemlenirken depolama süresi sonunda *P. camemberti* sayısı artarak bir aya kıyasla % 75.35 artmıştır. Bu sonuçlara göre, 200 ppm ve 500 ppm natamisin içeren zein film örnekleri 1 aya kadar olan süreçte antifungal etki göstererek *P. camemberti* gelişimini baskılamış sonrasında ise yetersiz kalmıştır (Şekil 4.5). Kaşar peyniri dilimleri; 1000 ppm, 2000 ppm ve 4000 ppm natamisin içeren zein filmleri ile ambalajlandığında ise küf popülasyonunda 45

gün boyunca azalma gözlenmiş olup depolama sonundaki *P. camemberti* sayısı başlangıç seviyelerine göre sırasıyla % 58.68, % 59.13, % 58.91 azalmıştır.



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *P. camemberti* popülasyonu üzerine etkileri

Buradan anlaşıldığı üzere, natamisin miktarı 1000 ppm ve üzerine çıkarıldığında zein filmleri kaşar peyniri örnekleri üzerinde antifungal aktivite göstermiş ve depolama süresi boyunca kaşar peynirini *P. camemberti* küfüne karşı korumuştur.

Zein film içerisinden kaşar peynir örneklerine natamisinin geçişi ile ilgili olarak deneysel çalışmalar yapılmadığından, antimikrobiyal maddenin kaşar peynir örneklerine ne kadarının geçtiği ile ilgili kesin bir sonuca varılamamaktadır. Ancak bu biyoaktif maddenin filmde hepsinin salındığı kabul edilirse, 45 günlük depolama süresi boyunca natamisin miktarına göre *A. niger* küfüne kıyasla *P. camemberti* küfesi daha duyarlı olup, antimikrobiyal aktivite daha az miktarlarda sağlanmıştır. Bu çalışmaya bakılarak kaşar peynir dilim örneklerinin natamisin içeren zein filmlerle kaplamanın olumlu etkisi olduğu söylenebilir.

Baysal ve ark., (2009), yaptığı çalışmalarında +5°C ve +20°C'de 4 ay boyunca orta nemli kayısı ve orta nemli domates örnekleri askorbik asit ve sorbat içeren zein

filmler ile kaplamıştır. Herhangi bir kaplama işlemi uygulanmamış kontrol grubu (K) örneklerinde maya ve küf değerlerinde artış meydana gelirken, sorbat içeren zein filmle kaplanan (S), askorbik asit ve sorbat içeren zein (A) filmle kaplanan, sadece zein filmle kaplanan (Z) örneklerde herhangi bir değişim olmamıştır.

4.5. Farklı Konsantrasyon Natamisin İçeren Aljinat Filmin Kaşar Peyniri Üzerine Uygulaması

Yenilebilir aljinat filmleriyle ambalajlanan test patojenlerinin inoküle edildiği kaşar peyniri dilimleri 45 gün süresince buzdolabı koşullarında depolanmış ve depolamanın 0., 15., 30. ve 45. günlerinde mikrobiyolojik analizleri yapılarak natamisin katkılı aljinat filmlerin antifungal etkisi belirlenmiştir.

A. niger inoküle edilen kaşar peynirleri, Bölüm 3.2.10'da belirtildiği gibi farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmleriyle ambalajlanmış ve aljinat filmlerinin antimikrobiyal etkisi depolama boyunca ölçülmüştür. Ayrıca işlem görmemiş ve UV ile muamele edilmiş kaşar peyniri ve *A. niger* bulaştırılmış kaşar peyniri örnekleriyle karşılaştırılmıştır. Örnekler, 10°C'de depolanmış ve 0., 15., 30. ve 45. günlerde *A. niger* sayımı yapılmış olup sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir.

A. niger inoküle edilmiş kaşar peynirleri dilimlerinde (3), küf popülasyonu depolama süresince artmış olup başlangıçta 2.54 log kob/g olan *A. niger* sayısı 45 gün sonunda 5.48 log kob/g değerine ulaşmıştır. Natamisin içermeyen aljinat kontrol filmleriyle kaplanan *A. niger* inoküle edilmiş kaşar peynirlerinde (4), 15. gün sonunda *A. niger* sayısında % 15 azalma analiz edilmiştir. Ancak, 15. günden sonra küf sayısı artarak 45. günde 5.98 log kob/g değerine ulaşmıştır. Bu durum, natamisin içermeyen aljinat filmlerinin *A. niger* küfüne karşı tek başına çok iyi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığını göstermektedir. Herhangi bir işlem görmemiş kaşar dilimleri natamisin içermeyen aljinat kontrol filmleri (5) ile ambalajlandığında 30. güne kadar herhangi bir küfe rastlanmazken depolama süresi sonunda yoğun bir mikrobiyal gelişme gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara bakılarak tek başına her iki (4 ve 5) aljinat filminin depolama süresi sonuna kadar mikroorganizmalara karşı antifungal etkisinin çok az olduğunu söylenebilir.

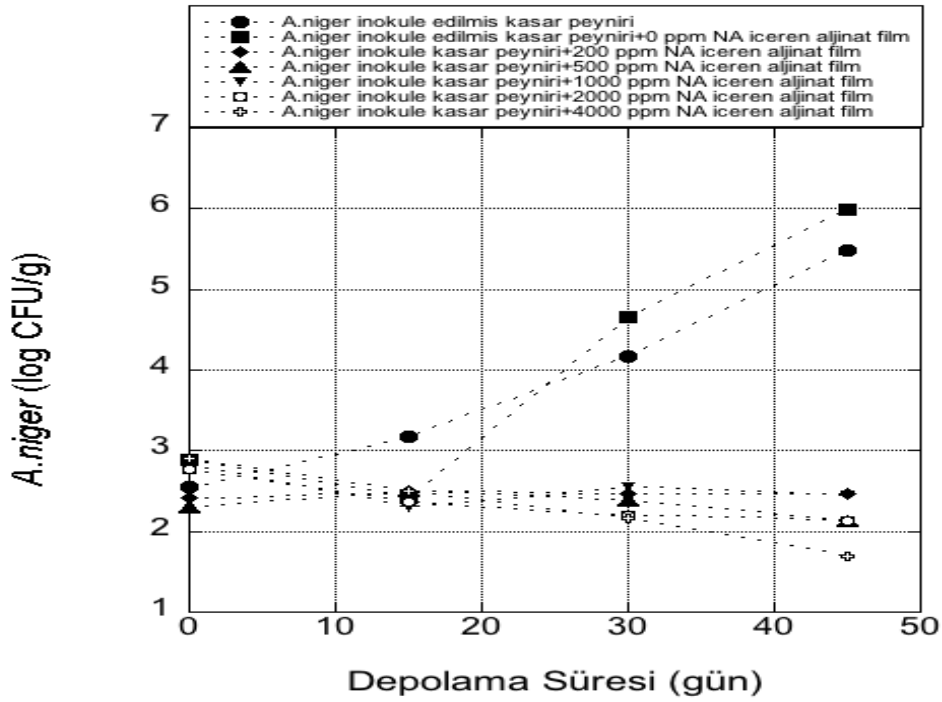
Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *A.niger* populasyonu (log kob/g) üzerine etkileri

Uygulama*	0. gün	15. gün	30. gün	45. gün
1	0 ^d	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
2	0 ^d	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
3	2.54±0.06 ^a	3.17±0.08 ^a	4.18±0.26 ^a	5.48±0.05 ^a
4	2.88±0.05 ^b	2.42±0.03 ^b	4.65±0.06 ^b	5.98±0.07 ^b
5	0 ^d	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
6	2.42±0.17 ^{bc}	2.49±0.02 ^b	2.47±0.10 ^c	2.46±0.10 ^c
7	2.31±0.01 ^c	2.50±0.02 ^b	2.40±0.30 ^c	2.14±0.05 ^{cd}
8	2.82±0.11 ^{bc}	2.30±0.07 ^b	2.54±0.21 ^c	2.45±0.01 ^c
9	2.78±0.05 ^{bc}	2.40±0.10 ^b	2.20±0.14 ^c	2.13±0.05 ^{cd}
10	2.90±0.04 ^b	2.49±0.02 ^b	2.17±0.10 ^c	1.69±0.03 ^d

*Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen *A.niger* populasyonu (log kob/g) arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05).

1= herhangi bir işlem yapılmamış kaşar peyniri, 2= UV uygulanmış kaşar peyniri, 3= *A. niger* inoküle edilmiş kaşar peyniri, 4= UV uygulanmış kaşar peyniri + *A. niger* inoküle edilmiş + 0 ppm NA içeren aljinat film, 5= UV uygulanmamış kaşar peyniri + 0 ppm NA içeren aljinat film, 6= *A. niger* inoküle edilmiş +200 ppm NA içeren aljinat film, 7= *A. niger* inoküle edilmiş +500 ppm NA içeren aljinat film, 8= *A. niger* inoküle edilmiş + 1000 ppm NA içeren aljinat film, 9= *A. niger* inoküle edilmiş +2000 ppm NA içeren aljinat film, 10= *A. niger* inoküle edilmiş + 4000 ppm NA içeren aljinat film

Çizelge 4.7 incelendiğinde, 200 ppm natamisin içeren aljinat film örnekleri (6) depolama süresi sonunda 2.46 log kob/g küf bulundurmakta olup % 1.7 mikrobiyal artış göstermektedir. Buradan, 200 ppm natamisin içeren aljinat filmleri kaşar peynir dilimlerinde bulunan *A. niger* küfüne karşı yeterli etkiye sahip olmadığı görülmektedir. 500 ppm natamisin içeren aljinat filmleri (7) ile kaplanan peynirlerde depolama süresince yapılan analizlerde, küf sayısı 15. güne kadar % 8.22 arttığı görülürken depolama sonuna kadar filmlerin *A. niger* sayısını 2.14 log kob/g ile sınırlayarak bir miktar azalma sağlamıştır (Şekil 4.6). 1000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerle (8) kaplanan kaşar dilimlerinde ise başlangıçta 2.82 log kob/g olan *A. niger* sayısı depolama sonunda 2.45 log kob/g olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *A. niger* popülasyonu üzerine etkileri

2000 ppm ve 4000 ppm natamisin ilave edilen aljinat filmleri ile kaplanan kaşar peynir dilimlerinde depolama süresi boyunca küf yükünde bir azalma gözlemlenmiştir. Depolama süresi sonunda sırasıyla *A. niger* düzeyi % 23.38 ve % 41.72 olarak belirlenmiştir. Bu sonuca bakıldığında, minimum 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerin *A. niger* üzerine antifungal etki gösterdiği ve kaşar peynir dilimlerindeki mikrobiyal bozulmayı geciktirdiği söylenebilmektedir. Natamisin konsantrasyonu arttıkça *A. niger*'e karşı antimikrobiyal etki artmaktadır.

P. camemberti inoküle edilen kaşar peyniri dilimleri aljinat filmleriyle ambalajlanarak depolama süresi boyunca mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Örnekler 0., 15., 30. ve 45. günlerde analiz edilmiş olup *P. camemberti* sayımına ait sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. *P. camemberti* inoküle edilmiş (3) kaşar peynir dilimlerinde başlangıçtaki küf konsantrasyonu 2.51 log kob/g iken depolama sonunda 6.02 log kob/g değerine yükselmiştir. Bu sonuç *P. camemberti*'nin kaşar peynirinde kolay büyüeyebilen bir küf olduğunu göstermektedir.

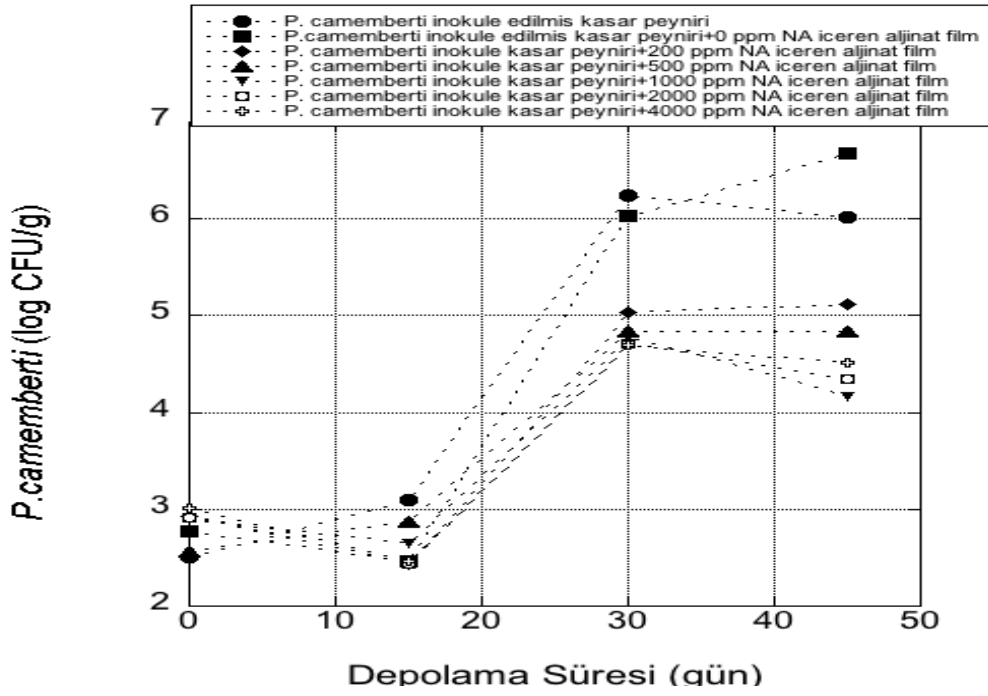
Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *P. camemberti* populasyonu (kob CFU/g) üzerine etkileri

Uygulama*	0. gün	15. gün	30. gün	45. gün
1	0 ^c	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
2	0 ^c	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
3	2.51±0.66 ^a	3.09±0.08 ^a	6.24±0.08 ^a	6.02±0.06 ^a
4	2.77±0.03 ^b	2.46±0.02 ^b	6.04±0.29 ^a	6.67±1.08 ^{ab}
5	0 ^c	0 ^c	büyüme fazla	büyüme fazla
6	2.93±0.03 ^b	2.44±0.23 ^b	5.04 ±0.08 ^b	5.11±0.22 ^{bc}
7	2.57±0.12 ^b	2.86±0.02 ^b	4.83±0.14 ^b	4.84±0.22 ^c
8	2.88±0.10 ^b	2.64±0.01 ^b	4.78±0.17 ^b	4.17±0.10 ^c
9	2.92±0.05 ^b	2.44±0.15 ^b	4.71±0.22 ^b	4.35±0.01 ^c
10	3.01±0.14 ^b	2.46±0.02 ^b	4.70±0.10 ^b	4.52±0.07 ^c

*Farklı NA konsantrasyonlarına sahip aynı üstsel harflerle (a-d) gösterilen *P. camemberti* populasyonu (log CFU/g) arasında istatistiksel bir farklılık yoktur (P>0.05).

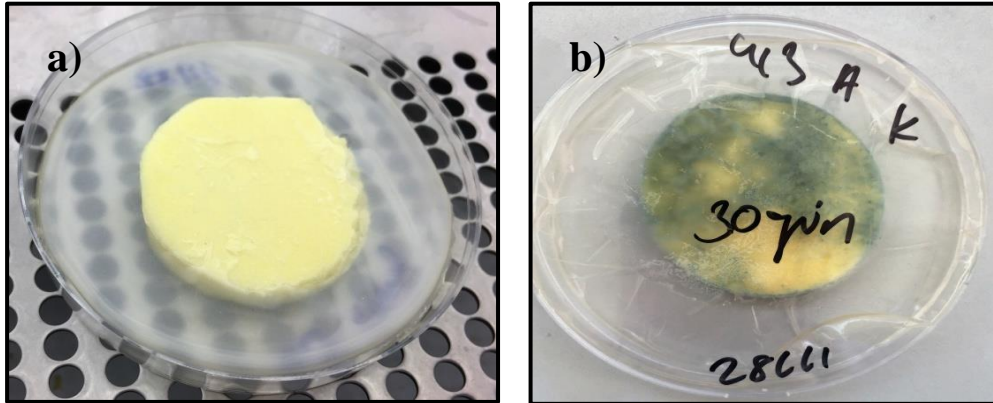
1= herhangi bir işlem yapılmamış kaşar peyniri, 2= UV uygulanmış kaşar peyniri, 3= *P. camemberti* inoküle edilmiş kaşar peyniri, 4= UV uygulanmış kaşar peyniri + *P. camemberti* inoküle edilmiş + 0 ppm NA içeren aljinat film, 5= UV uygulanmamış kaşar peyniri + 0 ppm NA içeren aljinat film, 6= *P. camemberti* inoküle edilmiş +200 ppm NA içeren aljinat film, 7= *P. camemberti* inoküle edilmiş +500 ppm NA içeren aljinat film, 8= *P. camemberti* inoküle edilmiş + 1000 ppm NA içeren aljinat film, 9= *P. camemberti* inoküle edilmiş +2000 ppm NA içeren aljinat film, 10= *P. camemberti* inoküle edilmiş + 4000 ppm NA içeren aljinat film

Natamisin içermeyen aljinat kontrol filmleriyle (4) ambalajlanan kaşar peynir dilimleri 15. günde % 11.2 mikrobiyal azalma gösterirken depolama süresi sonunda *P. camemberti* düzeyi 6.67 log CFU/g olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, aljinat filmlerinin tek başına *P. camemberti* küfüne karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığını göstermiştir. 200 ppm ve 500 ppm natamisin içeren aljinat filmleri ile kaplanan peynirlerdeki *P. camemberti* sayısı depolama boyunca artarak 45. günün sonunda sırasıyla % 74.40 ve % 88.32 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7). 1000 ppm, 2000 ppm ve 4000 ppm natamisin içeren aljinat filmleriyle kaplanan kaşar peynirlerinin 15. gündeki mikrobiyolojik analizi sonucunda *P. camemberti* düzeyleri sırasıyla % 8.33, % 16.43, % 18.27 değerlerine kadar azalmıştır. Fakat depolamanın ilerleyen sürecinde natamisin, *P. camemberti* küfüne karşı etkisini kaybetmiş ve böylece, küf sayısında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat filmlerinin depolama süresince kaşar peynirindeki *P.camemberti* popülasyonu üzerine etkileri

Ayrıca, önceki analizlerde *P. camemberti*'ye karşı besiyeri üzerinde elde edilen antimikrobiyal zon alanlarının gerçek besin ortamı olan kaşar peynirinde elde edilemediği belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Natamisin içermeyen aljinat kontrol filmlerinin *P.camemberti* inoküle edilmiş kaşar peyniri üzerine depolama boyunca etkisi; a) 0. gün, b) 30.gün

Türe ve ark., (2011), yaptığı çalışmada 2- 20 mg konsantrasyonlarında hazırlanan natamisin içeren buğday gluteni (WG) ve metil selüloz (MC) filmlerin *A.niger* ve *P. roquefortii* inoküle edilmiş kaşar peyniri örneklerini buzdolubında 10°C'de 30 gün boyunca depolamıştır. Mikrobiyolojik çalışma sonucu natamisin içeren WG

filmlerinin *A.niger* inoküle edilmiş kaşar peyniri örneklerinin daha iyi antimikrobiyal etki sağladığını, fakat natamisin içeren WG ve MC filmlerin üzerinde *P. roquefortii* inoküle edilmiş kaşar peynir örneklerine antimikrobiyal etki etmediği tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada, NA içeren çift tabakalı kitosan ve polietilen wax filmlerin Hami kavununa inoküle edilmiş *Alternaria alternate* ve *Fusarium semitectum* olan iki patojen küflere 20 günlük depolama sürecinde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Cong ve ark., 2007).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gıda ambalajlamasında kullanılan sentetik polimerlere alternatif olabilecek, uygulaması kolay, verimi yüksek ve ekonomik öneme sahip antimikrobiyal filmlerin geliştirilmesi çabaları son yıllarda yapılan çok sayıdaki önemli çalışmalara konu olmaktadır. Bu kapsamda çok çeşitli antimikrobiyal maddeler ve biyopolimerden elde edilen yenilebilir filmler ambalajlama materyali olarak artan bir oranla kullanılmaktadır. Bu çalışmanın temel konusunu oluşturan aljinat ve zein biyopolimerlerinin gıda ambalajlama materyali olarak kullanımına ilişkin çalışmalar bulunmasına rağmen, natamisin içeren zein filmlerle ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Ayrıca, literatürde natamisin içeren aljinat filmlerinin hazırlandığı, karakterizasyonunun yapıldığı ve özellikle gıda uygulama olanaklarının araştırıldığı çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu özgün çalışma ile alternatif ve doğa dostu bir gıda ambalajı geliştirilmesi hedeflenmiş olup belirtilen boşluk doldurulmaya çalışılmıştır.

Araştırmanın ilk aşamasında, farklı konsantrasyonlarda natamisin ilave edilen aljinat ve zein bazlı filmler hazırlanmış ve *A. niger* ve *P. camemberti* üzerindeki antimikrobiyal özellikleri yapılan testler ile belirlenmiştir. Analiz sonucunda, aljinat ve zein filmlere antimikrobiyal ajan olarak ilave edilen natamisin konsantrasyonunun artmasıyla her iki test organizmasına karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığı gözlemlenmiştir. Ancak, *A. niger* ve *P. camemberti* küflerine karşı aljinat filmlerinin, zein filmlerine kıyasla daha geniş inhibisyon zonları oluşturduğu belirlenmiştir.

Araştırmanın ikinci aşamasında, hazırlanan zein ve aljinat filmlerin mekaniksel ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında zein filmlerine ait gerilme dirençleri (TS), kopma anında uzama yüzdesi (EB) ve elastik modülü (EM) değerlerinin aljinat filmlerinden daha zayıf olduğu tespit edilmiştir. En yüksek gerilme direnci ve elastik modülü 4000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerde, en yüksek kopma anındaki uzama yüzdesi ise 200 ppm natamisin içeren aljinat filmlerde görülmüştür. Gerilme direnci artarken uzama yüzdesinin azalması beklenen bir sonuç olmakla beraber natamisin katkılı aljinat filmlerindeki bu durumun aljinatın yapısında yer alan hidrofil gruplar ile natamisinin yapısındaki hidrofilik bileşenlerin etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Genel olarak bakıldığında, aljinat filmlerin nem tutma kapasiteleri zein filmlerine göre daha yüksektir ve en yüksek nem tutma kapasitesi 2000 ppm natamisin içeren aljinat filmlerde belirlenmiştir. Zein bazlı filmlerde ise en düşük nem tutma kapasitesinin natamisin içermeyen kontrol zein filmlerinde olduğu belirlenmiş ve bu durumun temelde zeinin doğal hidrofobik yapısından kaynaklandığı düşünülmüştür. Natamisin içermeyen kontrol zein filmlerin nem tutma değerlerinin natamisin içeren zein filmlere kıyasla daha az olması sonucunun, natamisin ile plastikleştirici rolünden dolayı zein filmlerine ilave edilen gliserolün hidrofilik yapıları nedeniyle birbiri içerisinde çözünerek nem tutma kapasitesini artırmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren aljinat ve zein polimerlerinden elde edilen yenilebilir film örneklerinin yüzey ve kesit yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Mikrograflara bakıldığında aljinat film örneklerinin zein filmlere kıyasla daha düzenli bir yapıya sahip olduğu ve düşük konsantrasyonda natamisinin aljinat filmleri içerisinde daha homojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek konsantrasyonda natamisin içeren aljinat filmlerde ise natamisinin kristalize olduğu SEM analizi ile ortaya konulmuştur. Natamisin içermeyen kontrol aljinat film örnekleri ise en düzenli ve homojen yapıya sahiptir. SEM analizi ile, ayrıca zein filmlerin porlar (delikler) içerdiğini ortaya koymuş ve natamisin içeren zein filmler ile kontrol zein filmlerin SEM görüntüleri arasında bir fark olmadığı gözlemlenmiştir.

Araştırmanın son kısmında, natamisin katkılı zein ve aljinat filmlerin küf sporları ile inoküle edilmiş kaşar peyniri örneklerinin raf ömrü üzerine etkisi incelenmiştir. *A. niger* ve *P. camemberti* küfleri inoküle edilmiş kaşar peyniri dilimleri, farklı konsantrasyonlarda natamisin içeren zein ve aljinat filmleriyle kaplanmış ve 45 günlük depolama süresi boyunca peynirlerdeki küf yüklerindeki değişimler takip edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, 2000 ppm ve 4000 ppm natamisin içeren zein ve aljinat filmlerinin her ikisinin de depolama süresi sonunda kaşar peynir dilimlerindeki *A. niger* sayısını azalttığı belirlenmiştir. Bu azalmanın; 2000 ppm ve 4000 ppm natamisin içeren zein film örneklerinde sırasıyla % 49.54 ve % 51.36; aljinat filmlerinde ise sırasıyla % 23.28 ve % 41.72 olduğu tespit edilmiştir. Natamisin konsantrasyonları 1000 ppm, 2000 ppm ve 4000 ppm olan zein filmleri

kaşar peynirindeki *P. camemberti* sayısında sırasıyla % 58.68, % 59.13 ve % 58.91 azalma sağlamıştır. Natamisin ilaveli aljinat filmlerinin, *P. camemberti* inoküle edilmiş kaşar peynir dilimleri üzerinde inhibisyon etkisinin ise depolama boyunca çok zayıf olduğu belirlenmiş ve depolama süresi sonunda herhangi bir antimikrobiyal etkiye rastlanmamıştır.

45 günlük depolama süreci sonunda kaşar peynirlerindeki mevcut küf yükleri incelendiğinde yüksek konsantrasyonlarda natamisin bulunduran zein filmlerinin aljinat filmlere kıyasla her iki test organizmasına karşı daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiş ve bu nedenle kaşar peyniri ambalajlamasında daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Aljinat filmler, antimikrobiyal testlerde ve mekanik özelliklerde zein filmlere kıyasla daha iyi olmasına rağmen peynir ortamında yüksek natamisin konsantrasyonlarında sadece *A. niger* küfüne karşı antimikrobiyal aktivite gösterebilmiştir. Kaşar peynir dilimleriyle temas eden aljinat filmler, hidrofilik özelliğinin yüksek olmasından dolayı depolama süresince çözünerek dış ambalaja yapışmıştır. Bu nedenle ambalajın tam olarak görevini yapamayarak mikroorganizmaların gelişmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada geliştirilen natamisin ilaveli aljinat ve zein filmlerinin endüstriyel boyutta kullanımına olanak sağlayacak gelecekte yapılacak çalışmalarla desteklenmesi hususu oldukça önemlidir. Antimikrobiyal ajan içeren zein ve aljinat filmlerin kaşar peynirindeki toplam canlı mikroorganizma sayısı üzerine etkisinin incelenmesi planlanan çalışmalar arasındadır. Kısa vadede filmlerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesine ve farklı gıda ürünlerine uygulanmasına yönelik çalışmaların gerçekleştirilmesi de hedeflenmektedir. Ayrıca, çalışma sonuçlarına bakıldığında öne çıkan 2000 ve 4000 ppm natamisin ilaveli zein filmlerinin duyuşal özelliklerini belirlemek ve aljinat filmlerinde natamisin etkinliğini engellediği düşünölen hidrofilik özelliklerini azaltmaya yönelik formölasyonların geliştirilmesi kapsamındaki araştırmalar bu çalışmanın devamı niteliğinde önerilebilir.

Bu çalışmanın literatürdeki boşluğın doldurulmasına yararlı olacağı ve çalışma sonuçlarının daha sonra yapılacak çalışmalara öncülük edeceğine inanılmaktadır. Teknolojik yeniliklerle beraber geliştirildiğinde antimikrobiyal yenilebilir filmlerin, peynir ve benzeri ürünlerdeki uygulamalarının kaliteyi ve gıda güvenliğini artıracak

ümit verici bir uygulama olacağı düşünülmektedir. Özellikle son yıllarda sentetik polimerlerin ve kimyasal gıda katkılarının yaygın kullanımı göz önünde bulundurulduğunda natamisin gibi doğal antimikrobiyal ajanların yine doğal olan ambalaj materyallerine eklenmesi, ürünün raf ömrünün arttırılmasına yarar sağlayarak hem insan sağlığının korunması hem de çevre kirliliğinin azaltılması açısından önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Acar, J., Alper, N.Ö. 1996. Yenilebilir film ve kaplamalar. Gıda Mühendisliği Dergisi, 1(4): 3-9.
- Akbaba, G. 2006. Yenilebilir ambalajlar. Bilim ve Teknik Dergisi, 30-32.
- Ali, Z.M., Lazan H., Guava, I. 1997. Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits. Editor: S.K.Mitra, Cab International, London; Uk, P. 145-166.
- Altan, A. 2003. Özel gıdalar teknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ofset Matbaası, Adana; S. 5-9.
- Altuğ, T. 2001. Gıda katkı maddeleri. Mata Basım, İzmir; S: 286.
- Anker, M. 1996. Edible and biodegradable films and coatings for food packaging. The Swedish Institute for Food and Biotechnology, Goteborg, Sweden.
- Anonim, 2001. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. Report of The Institute of Food Technologists for The Food and Drug Administration of The United States Department of Health and Human Services, Ift/Fda Contrat No:223-98-2333, Task Order No:3.
- Anonim, 2002. Türk gıda kodeksi renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2002/55, Ankara.
- Anonim, 2016. Türkiye İstatistik Kurumu (Tüik), Sanayi Ürünlerinin Yıllara Göre Üretim Bilgileri. www.Tuik.Gov.Tr/Preistatistiktablo.Do?İstab_Id=773, Ankara. (Erşim tarihi: 12.05.2017).
- Appendini, P., Hotchkiss, A. 2002. Jh. "Review of antimicrobial food packaging". Innovative Food Science & Emerging Technologies, 3: 113-126.
- Arcan, I., Yemencioğlu, A. 2013. Development of flexible zein-wax composite and zein-fatty acid blend films for controlled release of lysozyme. Food Research International, 51(1), 208-216.
- Astm. 1991. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D882. İn Annual Book of American Society for Testing Methods, Philadelphia, Pa. Astm: P 313-321.
- Ayana, B. 2007. Antimikrobiyel yenilebilir filmlerin üretimi ve özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 60s.
- Ayana, B., Turhan, K. 2009. Use of antimicrobial methylcellulose films to control staphylococcus aureus during storage of kasar cheese. Packag Technol Sci, (İN Press).

- Ayrancı, E., Tunç, S. 1997. Cellulose based edible and their effects on fresh beans and strawberries. *Z. Lebensmittel Untersuchung Und Forcshung*, 205, 470-473.
- Baker, R.A., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films for processed foods. Eds. J.M. Krochta, Baldwin, E., A., Nisperos-Carriedo, M.O. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic, Lancaster, 89-104.
- Baldwin, E.A. 1994. Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, peresent and future, In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quatlity*, Editor: Krochta J.M., Baldwin E.A. And Nisperos-Carriedo M.O., Techomic Publishing Company Inc., Lancaster, 25-64.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O., Baker, R.A. 1995. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 509–524.
- Baldwin, E.A. 1999, Surface teratments and edible coatings in food preservation. “*Handbook of Food Preservation*” Ed. M.S.Rahman, Marcel Dekker, Inc., New York. 577-609pp.
- Baldwin, E.A. 2007. Surface treatments and edible coatings in food preservation. Ed. Rahman, M., S. *Handbook of Food Preservation*, Crc Press, Boca Raton, Usa, 478498.
- Banker, G.S. 1966. Film coating theory and practice. *J. Pharm. Sci.*, 55, 81–89.
- Batu, A., Serim, F. 1998. Tarımsal kökenli yenilebilir gıda film ve kaplamaların özellikleri ve kullanım alanları. *Dünya Gıda (Ekim)*, 36-41.
- Baysal, T., Ersus, S., Apaydın, E. 2009. Yenilebilir mısır zeini filmi kaplamanın orta nemli domates kalitesi üzerine etkisi. *Gıda*, 34: 359-366.
- Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R., Reyes, J.E. 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110: 232–239.
- Beverly, R.L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W., No, H.K. 2008. Edible chitosan films on ready- to -eat roast beef for the control of listeria monocytogenes. *Food Microbiol*, 25: 534-537.
- Bourtoom, T. 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. *Int. Food Research Journal*, 15(3): 1-12.
- Brody, A.L. 2005. Active packaging becomes more active. *Food Technol.*, 59(12), 82- 84.

- Callegarin, F., Gallo, J.A.Q., Debeaufort, F., Voilley, A. 1997. Lipids and biopackaging. *Journal of The American Oil Chemists' Society*, 74: 1183-1192. Doi: 10.1007/S11746-997-0044-X.
- Caner C., Küçük M. 2004. Yenilebilir film ve kaplamalar: Gıdalara uygulanabilirliği. *Gıda Mühendisliği ve Gıda Sanayi Dergisi*, 2 (8): 30-35.
- Caner, C. 2005. Whey protein isolate coating and concentration effects on egg shelf life. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 85: 2143-2148. Doi: 10.1002/Jsfa.2225.
- Cha D.S., Chinnan M.S. 2004. Biopolymer-based antimicrobial packaging: A Review. *Food Sci Nutr*, 44: 223-237.
- Charai, M., Mosaddak, M., Faid, M. 1996. Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum Mojanoz* and *O. Compactum Benth.* *Journal of Esansial Oil Resrarch*, 8, 657–664.
- Chen, H., Banerjee, R., Wu, J.R. 1994. Strenghts of thin films derived from whey proteins. *Asae Proceedings, Asae, St. Joseph. Mi*, 93(3)Pp
- Chen, H. 1995. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *Journal Of Dairy Science*, 78, 2563–70.
- Chick, J., Hernandez, R.J. 2002. Physical, thermal and barrier characterization of casein-wax-based edible films. *Journal of Engineeringphysicalproperties*, 67(3), 1073–9.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., Deschamps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67: 1162-1169.
- Cong, F., Zhang, Y., Dong, W. 2007. Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of hami melon at ambient temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 46, 71–75.
- Cordoba, A., Cuellar N., Gonzalez, M., Meddna, J. 2008. The plasticizing effect of alginate on the thermoplastic starch/glycerin blends, carbohydrate polymers. 73, 409–416.
- Crackel, R.L., Gray, J.F., Booren, A.M., Pearson, A.M., Buckley, D.J. 1988. Effect of antioxidants on lipid stability in restructured beef steaks. *Journal of Food Science*, 53(2): 655-657. Doi: 10.1111/J.13652621.1988.Tb07780.X.
- Cuq, B., Gontard, N., Guilbert, S. 1995. Edible films and coatings as active layers. In Rooney, Eds, *Active Food Packaging*, 111142, Chapman & Hall, London, Uk.
- Çağrı, A. 2002. Antimicrobial whey protein isolate-based edible casings. Michigan State University, Department of Food Science and Human Nutrition, Doctor of Philosophy, 241 P.

- Çağrı, A., Ustunol, Z., Ryser, E.T. 2002. Inhibition of three pathogens on bologna and summer sausage using antimicrobial edible films. *Journal of Food Science*, 67(6): 2317-2324.
- Çakmakçı, S., Çelik, İ. 2004. Gıda katkı maddeleri. Beşinci Baskı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.
- Dainellia, D., Gontardb, N., Spyropoulosc, D., Beukend, E., Tobback, P. 2008. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science & Technology* 19: 103-112.
- Dangaran, K., Tomasula, P.M., Qi, P. 2009. Structure and function of protein-based edible films and coatings. Eds. Embuscado, M., E., Huber, K., C., *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Springer, New York, 25-56.
- Datta S., Janes M.E., Xue Q.G., Losso J., La Peyre J.F. 2008. Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella anatum* on the surface of smoked salmon coated with calcium alginate coating containing oyster lysozyme and nisin. *Journal of Food Science*, 73 (2), 67-71.
- Dawson, P.L., Carl, G.D., Acton, J.C., Han, I.Y. 2002. Effect of lauric acid and nisin-impregnated soy-based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Science*, 81, 721–6.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: A Review, *Critical Reviews İnfood Science*, 38(4): 299-313. Doi:0.1080/10408699891274219.
- Dong Z., Wang Q., Du Y. 2006. Alginate/Gelatin blend films and their properties for drugcontrolled release. *Journal of Membrane Science*, 280, 37–44.
- Donhowe, I.G., Fennema, O.R. 1993. The effects of solution composition and drying temperature on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Pro. Pres.*, 17, 231246pp.
- Draget, K.I., Smddsrod, O., Skjak-Braek, G. 2002. Alginates from algae, biopolymers; 6, 215-244.
- Duman, S.S., Şenel, S. 2004. Kitosan ve veteriner alandaki uygulamaları (chitosan and its applications in veterinary medicine). *Eczacılık Fak., Ankara Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10 (3-4): 62-72.
- Dursun, S., Erkan., N. 2009. Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. *J. of Fisheries Science.Com*, 3(4): 352-373.
- Elayedath, S., Barringer, S.A. 2002. Electrostatic powder coatinf of shredded cheese with antimycotic and anticaking agents. *İnnovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(4): 385-390.
- Erickson, M. C., Hung, Y. 1997. *Quality in frozen food*. Springer, Pp: 172.

- Erol, E. 2012. Doğal antimikrobiyel madde içeren biyobozunur filmlerin üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Mersin.
- Fabra, M.J., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A., Vodlley, A. 2008a. Aroma barrier properties of sodium caseinate-based films, biomacromolecules; 9, 1406-1410.
- Fabra, M. J., Talens, P., Chđralt, A. 2008b. Effect of alginate and l carrageenan on tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinatelipid based films, Carbohydrate Polymers, 74(3), 419–426.
- Field, C.E., Pivarnick, L.F., Barnett, S.M., Rand, A. 1986. Utilization of glucose oxidase for extending the shelf-life of fish. Journal of Food Sciences, 51, 66-70.
- Floros, J.D., Dock, L.L., Han, J.H. 1997. Active packaging technologic and applications. food cosmetic drug packaging, 20, 10-17.
- Galietta, G., Di Gioia, L., Guilbert, S., Cuq, B. 1998. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and cross-linking agents. Journal of Dairy Science, 81, 3123-3130.
- Gennadios, A., Weller, C.L. 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. Food Technology, 44(10), 63–69.
- Gennadios, A., Weller C.L., Testin R.F. 1993a. Temperature effect in oxygen permeability of edible protein-based films. Journal of Food Science, 58(1), 213.
- Gennadios, A., Weller, C.L., Testin, R.F. 1993b. Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. Cereal Chem., 70, 4,426–429.
- Gennadios, A., Mchugh, T.H., Weller, C.L., Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films based on proteins. Jm. Krochta, Ea. Baldwin, Mo. Nisperos- Carriedo (Eds.), Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, Technomic Publishing Company, Usa, 201-277.
- Gennadios, A., Hana, M.A., Kurth L.B. 1997. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: A Review, Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie, 30, 337–350.
- Gennadios, A. 2002. Protein based films and coatings. Crc Press Llc, 672 P.
- Georgevits, L.E., İntevor, A. 1967. March 3. Method of making a water soluble protein container. Us Patent 3, 310,446.
- Gombotz, W.R., Wee, S.F. 1998. Protein release from alginate matrices. Advanced Drug Delivery Reviews, 31: 267-285. Doi: 10.1016/S0169-409x(97)00124-5.

- Gomez-Esteca, J., Montero, P., Gimenez, B., Gomez-Guillen, M. C. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked Sardine (*Sardina pilchardus*), *Food Chemistry*, 105: 511–520. Doi:10.1016/J.Foodchem.2007.04.006.
- Gontard, N., Duchez, C., Cug, J.L., Guilbert, S. 1994. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Food Science Technologie*, 29, 39-50.
- Gontard, N., Thibault, R., Cuq, B., Guilbert, S. 1996. Influence of Relative Humidity and Film Composition on Oxygen and Carbondioxide Permeabilities of Edible Films, *J. Agric. Foodchem.*, 44, 1064-1069.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö. 1995. Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü Ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu (2. Baskı). Atatürk Üniv. Yayın No: 751, Zir. Fak.Yay. No:318, Ders Kitapları Serisi No: 69, Erzurum.
- Gökoğlu, N. 2002. Su ürünleri işleme teknolojisi. Su Vakfı Yayınları, İstanbul.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films in food packaking and preservation theory and practice. ((Ed) M. Mathlouthi).
- Guo W., Trabelsi S., Nelson S., Jones D. 2007. Storage effects on dielectric properties of eggs from 10 to 1800 mhz. *J. Food Sci.*, 72 (5): 40.
- Han, J. 2000. Antimicrobial food packaging. *Food Technol.* 54(3):56-65.
- Hondrodimou, O., Kourcotas, Y., Panagou, E.Z. 2011. Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. *Food Microbiology* 28, 621–62.
- Işık, H., Dağhan, Ş., Gökmen, S. 2013. Gıda endüstrisinde kullanılan yenilebilir kaplamalar üzerine bir araştırma. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8 (1): 26-35.
- Kamper, Sl., Fennema, O.R. 1984. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. *Journal of Food Science*, 49: 1482-1485.
- Kandemir, N.S. 2006. Doğal antimikrobiyal madde içeren yenilebilir pullulan film uygulamanın hazır salatanın raf ömrüne etkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- Karakaya, M., Caner, C., Sarıçoban, C. 2001. Ambalaj materyali olarak yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Mayıs*, 71-78s.
- Karpińska, M., J Borowski, J., Danowska-Oziewicz, M. 2001. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chemistry*, 72: 5–9.
- Kaya, S., Kaya, A. 2000. Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *Journal of Food Engineering*, 43(2), 91-96.

- Kerry, J.P., O'grady, M.N., Hogan, S.A. 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A Review. *Meat Science.*, 74, 113-130.
- Kester, J.J., Fennema, O.R. 1986. Edible films and coatings: A Review. *Food Technol*, 40: 47-59.
- Kim, S-J., Ustunol, Z. 2001. Moisture sorption isothermand solubility of whey protein based edible films as influenced by lipid and plasticizertype. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49, 4388–91.
- Kim, K.W., Thomas, R.W. 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights, *Foodchemistry*, 101: 308-313.
- King, A. 1983, Brown seaweed extracts (alginates). *Food Hydrocolloids*, 2, 115-188.
- Koyuncu, M.A., Savran, H.E. 2002. Yenilebilir kaplamalar. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6 (3): 73-83.
- Krasaekoopt, W., Mabumrung, J. 2008. Microbiological evaluation of edible coated fresh-cut cantaloupe. *Nat Sci*, 42: 552–557.
- Krishna M., Nindo C. I., Min S. C. 2012. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. *Journal of Food Engineering*, 108: 337-344.
- Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films to improve food quality. Technomic Publ. Co. Lancaster, Pa.
- Krochta, J.M., De Mulder-Johston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities, *Food Technology*, 51(2): 61-74.
- Krochta, J.M. 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities, Ed. Gennadios, A.
- Ku, K.J., Hong, Y.H., Song, K.B. 2008. Mechanical properties of a gelidium corneum edible film containing catechin and its application in sausages. *Journal of Food Science*, 73, (3), 217-2.
- Kutas, R. 1987. Great sausage recipes and meat curing. New York, N.Y.: Macmillan Publishing Co. 227 P.
- Küçüköner, E., Kılınçker, O., Doğan, İ.S. 2003. Gıdalara yenilebilir kaplama uygulamalarında süt ürünlerinin kullanım olanakları. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu (Bildiri No:P14), İzmir, 251-256.
- Lieberman., E.R., Guilbert, S.G. 1973. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. *J. Polymersci.*, 41, 33–43.

- Lo'pez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., Perez-Mateos M., Montero, P. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19: 303–311. Doi:10.1016/J.Foodhyd.2004.06.006.
- Lopez-Rubio, A., Gavara R., Lagaron J.M. 2006. Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 567-575.
- Lu, F., Liu, D., Ye, X., Wei, Y., Liu, F. 2009. Alginate-calcium coating incorporating nisin and edta maintains the quality of fresh northern snakehead (*channa argus*) fillets stored at 4°C. *Journal Science Food Agriculture*, 89, 848-854.
- Mallikarjunan, P., Chinnan, M.S., Balasubramaniam V.M., Phillips, R.D. 1997. Edible coatings for deep-fat frying of starchy products. *Lebensm.- Wiss. U. Technol.*, 30, 709-714.
- Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J.M., Garriga, M. 2007. Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham, *International Journal of Food Microbiology*, 120, 152–158.
- Mchugh, T.H., Krochta, J.M. 1994a. Permability properties of edible films. In *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Co., Inc., Usa, 139-189pp.
- Mchugh, T.H., Krochta, J.M. 1994b. Milk protein based edible film and coating. *Food Technol.* 48(1)97-103.
- Mchugh, T.H. 2000. Protein-Lipid interactions in edible films and coatings, *Nahrung*,44(3):148151.Doi:10.1002/15213803(20000501)44:3<148::A1dfood148>3.0.Co;2-P.
- Mecitoğlu, Ç., Yemenicioğlu, A., Arslanoğlu, A., Elmacı, Z.S., Korel, F., Çetin, A.E. 2006. Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Research International*, 39, 12-21.
- Mecitoğlu Güçbilmez, Ç. 2014. Bazı esansiyel yağlarla antifungal yenilebilir zein filmi geliştirilmesi ve kase margarine uygulanması, Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Meyer, R.C., Winter, A.R., Weister, H.H. 1959. edible protective coatings for extending the shelf life of poultry. *Foodtechnol.*,13, 146–148.
- Moe, S.T., Draget, K.I., Skjak-Braek, G., Smıdsnod, O. 1995, Alginates, food polysaccharides and their applications. New York, Us: Marcel Decker Inc. 245– 286.

- Moore, M.E., Han, I.Y., Acton, J.C., Ogale, A.A., Barmore, C.R., Dawson, P.L. 2003. Of antioxidants in polyethylene film on fresh beef color. *Journal of Food Sci.* 68 (1): 99-104pp.
- Muilen, J.D. 1971. Film formation from non-heat coagulable simple proteins with filler and resulting product. U.S. Patent 3, 615, 715.
- Nasar-Abbas, S.M., Halkman, A.K. 2004. "Antimicrobial effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria* L.) on the growth of some food borne bacteria including pathogens", *International Journal of Food Microbiology*, 97: 6369.
- Nieto, M.B. 2009. Structure and function of polysaccharide gum-based edible films and coatings. *Edible Films and Catings for Food Applications*, Springer Science Business Media, Llc. Pp. 57-112.
- Nisperos-Carriedo, M.O., Krochta, J.M., Baldwin, E.A. 1994. Edible coatings and films to improve food quality, Pa: Technomic Publishing Company, Lancaster, 305335.
- No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W., Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A Review, *Journal of Food Sci.* 72(5):87-100pp.
- Norajit, K., Kim, K.M., Ryu, G.H. 2010. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering*, 98, 377–384.
- O'neil, J.M., Smith, A., Heckelman, P.E., Obenchain, J.R., Gallipeau, J.R., D'arecca, M.A., Budavari, S. 2001. The merck index. Published By Merck Research Laboratories Division of Merck&Co., Inc.
- Olivas, G.I., Mattinson, D.S., Barbosa-Canovas, G.V. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 89–96.
- Oliveira, T.M., Soares, N.F.F., Pereira, R.M., Fraga K.F. 2007. Development and evaluation of antimicrobial.
- Özdemir C., Demirci M. 2006. Selected Microbiological Properties of Kashar Cheese Samples Preserved with Potassium Sorbate. *International Journal of Food Properties*, 9: 515-521.
- Öztek, L. 1983. Peynirlerin Muhafazasında Sorbik Asit ve Tuzlarının Kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (1-2): 119.
- Padgett, T., Han I.Y., Dawson, P.L. 1998. Incorporation of food- grade antimicrobial compound into biodegradable packaging films. *Journal of Food Protection*, 61(10), 1330-1335.
- Padgett, T., Han, I.Y., Dawson, P.L. 2000. Effect of lauric acid addition on the antimicrobial efficacy and water permeability of corn zein films containing nişin. *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol.24, Pp. 423-432.
- Parris, N., Coffin, D.R., Joubran, R.F., Pessen, H. 1995. Composition factors affecting the water vapour permeability and tensile properties of hydrophilic films. *Journal of Agric. Food Chem.* 43, 1432-1435pp.

- Pavlat, A.E., Orts, W. 2009. Edible films and coatings: why, what, and how. Eds. Embuscado, M., E. Ve Huber, K., C., *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Springer, New York, 1-23.
- Pearce, J.A., Lavers, C.G. 1949. Frozen storage of poultry. v. effects of some processing factors on quality. *Can. J. Res.*, 27, 253–265.
- Pennisi, E. 1992. Sealed in plastic edible film, *Science News*, 141, 1, 12-13.
- Pires A.C.S., Soares N.F.F., Pereira R.M., Andrade N.J., Silva L.H.M., Camilloto G.P., Bernardes P.C. 2008. Development and evaluation of active packaging for sliced mozzarella preservation. *Packaging Technology and Science*, 21(7), 375-383.
- Polat, H. 2007. İşlenmiş et ürünlerinde yenilebilir filmler ve kaplamaların uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 64 S, Afyon 35 (6): 509524.
- Pranoto, Y., Salokhe, V.M., Rakshit, S.K. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research International*, 38, 267–272.
- Pranoto, Y.M., Salokhe, V.K., Rakshit, S. 2004. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil, *Food Engineering and Bioprocess Technology Program*, Thailand.
- Quintavalla, S., Vicini, L. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62: 373-380.
- Rakotonirainy, A.M., Wang, Q., Padua, G.W. 2001. Evaluation of zein films as modified atmosphere packaging for fresh broccoli, *Journal of Food Science*, 66(8), 1108-1111.
- Restuccia D., Spizzirri U.G., Parisi O.I., Cirillo G., Curcio M., Iemma F., Puoci F., Vinci G., 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.
- Rhim, J.W., Gennadios, A., Weller, C.L., Cezeirat, C., Hanna, M.A. 1998. Soy protein isolate–dialdehyde starch films. *Industrial Crops and Products*, 8(3), Pp.195-203.
- Rhim, J.W. 2004. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 37: 323-330.
- Rojas Grau, M.A., Tapiab, M.S., Rodriguez, F.J., Carmona, A.J., Martdn-Belloso, O. 2007. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21, 118–127.
- Russel N.J, Gould G.E. 1985. *Food preservatives*. Published in The United States of America By Avı, p: 290, New York.
- Saldamlı, İ. 1985. Gıda katkı maddeleri ve ingrediyenler (ders kitabı), Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Sanderson, G. R. 1981. Polysaccharides in foods. *Food Technology*, 35 (7), 50–52, 54–57, 83.

- Sarıkuş, G. 2006. Farklı antimikrobiyal maddeler içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyal inaktivasyona etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Sarıoğlu T., Öner Z. 2006. Yenilebilir filmlerin kaşar peynirinin kaplanmasında kullanılma olanakları ve peynir kalitesi üzerine etkileri. Gıda, 31 (1): 3-10.
- Sarıoğlu T. 2005. Yenilebilir filmlerin kaşar peynirinin kaplanmasında kullanılma olanakları ve peynir kalitesi üzerine etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 57 S, Isparta.
- Sathivel, S. 2005. Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. Journal of Food Science, 70(8): 455-459. Doi: 10.1111/J.1365-2621.2005.Tb11514.X.
- Schilling, E.D., Burchill, P.I. 1972. Forming a filled edible casing. U.S. Patent 3, 674, 506.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y. 1999. Food applications of chitin and chitosans. Trends in Food Science & Technology, 10, 37-51.
- Shellhammer, T.H., Krochta, J.M. 1997. Whey protein emulsion film performance: effect of lipid type and amount. Journal of Food Science, 62, 390-4.
- Siragusa, G.A., Dickson, J.S. 1992. Inhibition of *Listeria monocytogenes* on beef tissue by application of organic acids immobilized in a calcium alginate gel. Journal of Food Science, 57(2), 293-296.
- Silva, M.A., Iamanaka, B., Taniwaki, M.H., Kieckbusch, A. 2013. Evaluation of the antimicrobial potential of alginate and alginate/ chitosan films containing potassium sorbate and natamycin. Packaging Technology and Science Packag. Technol. Sci., 26: 479-492.
- Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Osorio, F., Agulera, J.M. 2010. Food hydrocolloid edible films and coatings. Isbn: 1616682698. 66p.
- Sothornvit, R., Krochta, J.M. 2000. Oxygen permeability and mechanical properties of films from hydrolyzed whey protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 3913-3916.
- Struyk, A.P., Hoette, I., Drost, G., Waisvisz, J.M., Van Eek, T., Hoogerheide, J.C. 1957. Antibiot annu 5, 878-885.
- Şahan, N., Güven, M., Kaçar, A. 2004. Farklı asitliklerdeki yoğutlardan torba yoğurdu üretimi ve natamisin raf ömrü üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü. Gıda; 29 (1): 9-15.
- Temiz, A. 2000. Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 291.
- Temiz, H., Yeşilsu, A.F. 2006. Bitkisel protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar. Gıda Teknolojisi Dergisi, 2: 41-50.
- Tharanathan, R.N., Kittur, F.S. 2003. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. Crit. Rev. Food Sci. 43(1):61-87pp.

- Topal, Ş. 1987. Kaşar peyniri olgunlaşma evresinde gelişen yüzey küfleri ve mikotoksin riskleri. Gıda (Gıda Teknolojisi Derneği Yayın Organı), (Mayıs Haziran), 193-197.
- Trotter, J.A., Kadler, K.E., Holmes, I. F. 2000. Echinoderm collagen thrlis grow by surface-nucleation and propagation from both centers and ends. J Mol. Biol. 300,53 L-540.Vachon, C., Yu.
- Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., Pan, C.L. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. Fisheries Science, 68:170. Doi:10.1046/J.14442906.2002.0040.X.
- Turbak, A.F. 1972. Edible vegetable protein casing. U.S. Patent, 3, 682, 661.
- Türe, H., Eroğlu, E., Soyer, F., Özen, B. 2008. Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii*. International Journal of Food Science and Technology, 43(11): 2026–2032. Doi: 10.1111/J.1365-2621.2008.01816.X.
- Türe, H., Eroğlu, E., Özen, B., Soyer, F. 2011. Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii* on fresh kashar cheese. International Journal of Food Science and Technology, 46, 154-160.
- Uysal-Ünalın, İ., Arcan, İ., Korel F., Yemenicioğlu, A. 2013. application of active zein-based films with controlled release properties to control *Listeria monocytogenes* growth and lipid oxidation in fresh kashar cheese, Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Izmir Institute of Technology, Izmir.
- Üçüncü, M. 1980. Peynircilikte sorbik asit ve sorbatların kullanım olanakları. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 5 (4): 79-87.
- Üçüncü, M. 2000. Gıdaların ambalajlanması. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 612 S.
- Üçüncü M. 2007. Gıdaların ambalajlanması. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, Türkiye, 896 S.
- Var, I., Erginkaya, Z., Güven, M., Kabak, B. 2006. Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of kashar cheese during strorage period. Food Control, 17, 132-136.
- Vercelino-Alves, R.M., Grigoli-De-Luca-Sarantopoulos, C.I., Gimenes-Fernandesvan-Dender, A., Assis-Fonseca-Faria, J. 1996 Stability of sliced mozzarella cheese in modified-atmosphere packaging. J.Food Prot. 59(8), 838-844.
- Volpon, L., Lancelin, J.M. 2002. Solution nmr structure of five representative glycosylated polyenee macrolide antibiotics with a sterol-dependent antifungal activity. European Journal of Biochemistry, 269 (18): 4533.
- Wang, L., Liu, L., Holmes, J., Kerry J.F., Kerry J.P. 2007. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based

- biopolymer films. *International Journal of Food Science and Technology*, 42,1128-38.
- Wong, Y.C., Herald, T.J., Hachmeister, K.A. 1996. Evaluation of mechanical and barrier properties of protein coatings on shell eggs. *Poultry Science*, V.75, Pp: 417-422.
- Yener, F.Y.G. 2007. Development of antimicrobial protective food coating materials from edible alginate films. Graduate School of Engineering and Science of İzmir Institute of Technology. Master of Science. 101 P.
- Yeşiltaş, M. 2012. Dumanlanmış balığın kalitesinde aljinat kaplama etkisi. Y.Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- Yıldırım, E., Barutçu-Mazı, I. 2016. Effect of zein coating enriched by addition of functional constituents on the lipid oxidation of roasted hazelnuts. *Journal of Food Sciences*, Doı: 10.1111/Jfpe.1251.
- Yılmaz, L., Kurdal, E. 2005. Peynir muhafazasında kullanılan doğal bir antimikrobiyal: natamisin. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü. Gıda*; 30 (6): 385-388.
- Yılmaz, L., Akpınar Bayezit, A., Özcan Yılsay T. 2007. Süt proteinlerinin yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılması. *Teknolojik Araştırmalar: Gted*, 1: 59-64.
- Yoshino, T., Isobe, S., Maekawa, T. 2002. Influence of preparation conditions on the physical properties of zein films. *J. Am.Oil Chem.Soc.*, 79,4, 345–349.
- Zhang, D., Quantick, P.C. 1998. Antifungal effects of chitosan coating pn fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 73(6), 763-767.
- Zusatzstoffe, 2002. <http://www.konsument.At/Zusatzstoffe/>. (Erşim tarihi:12.05.2017)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gökce SARITAŞ
Doğum Yeri : Zonguldak
Doğum Tarihi : 15.10.1992
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : gokcesrts@gmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	Ankara Üniversitesi	2015
Y. Lisans	Gıda Mühendisliği	Ordu Üniversitesi	2017

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Gıda Mühendisi	YETİMOĞLU GIDA SAN.VE TİC.LTD.ŞTİ.	2016