T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ BİR ANTİOKSİDAN GIDA AMBALAJ MATERYALİNİN GELİŞTİRİLMESİ

MUHAMMET MERİÇ ATAN

KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

HATAY
KASIM - 2020

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ BİR ANTİOKSİDAN GIDA AMBALAJ MATERYALİNİN GELİŞTİRİLMESİ

MUHAMMET MERİÇ ATAN
ORCID:0000-0001-8307-5830

KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Danışman
Unvan Şana SUNGUR
ORCID: 0000-0001-7370-8972

HATAY
KASIM - 2020

30/10/2020

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Muhammet Meriç Atan

ÖZET

YENİ BİR ANTİOKSİDAN GIDA AMBALAJ MATERYALİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Gıda paketlemenin ana işlevi, gıda bozulmasına yol açan doğal işlemleri geciktirmektir. Bu amaçla, antioksidanlar genellikle işleme sırasında gıda paketleme malzemelerine dâhil edilmekte ve kontrollü bir difüzyon mekanizması ile paketlenmiş gıdaya salınmaktadır. Antioksidanların gıda ambalajlarında kullanılması, hem lipit oksidasyonunu hem de protein denatürasyonunu geciktirmeye yardımcı olmaktadır. Son yıllarda, gıda ambalajı olarak doğal antioksidan içerenler sentetik olanlara kıyasla daha çok tercih edilmektedir. Bu çalışmada, doğal antioksidan uçucu yağlar (kekik, nane, kimyon, defne, rezene) içeren filmler hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan filmlerin 15 gün boyunca buzdolabında depolanma sırasında karabalığın *(Clarias Gariepinus)* kimyasal kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Filmlerin koruyucu etkisi periyodik olarak serbest yağ asidi (FFA), tiyobarbitürik asit (TBA) değeri, peroksit değeri (PV) ve toplam sülfhidril içeriği (SH) analizleri ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, doğal antioksidan uçucu yağlar içeren izole soya proteini bazlı yenilebilir filmlerinin kullanılmasının karabalığın oksidatif stabilitesini arttırdığını göstermiştir.

2020, 75 sayfa

Anahtar Kelimeler: Aktif ambalaj, antioksidan uçucu yağ, filmler, karabalık (Clarias gariepinus), oksidatif kararlılık

ABSTRACT

DEVELOPMENT of NEW ACTIVE PACKAGING FILMS CONTAINING NATURAL ANTIOXIDANT ESSENTIAL OILS

The major function of food packaging is to retard the natural processes that lead to food deterioration. To achieve this, antioxidants usually incorporated into food packaging materials during processing and are released into the packaged food by a controlled mechanism of diffusion. The use of AOs in food packaging helps to delay both lipid oxidation and protein denaturation. In recent years, natural antioxidant packages have been preferred in food packages rather than synthetic ones. In this study, films containing natural antioxidant essential oils (*Thymus sp., Mentha Piperita, Foeniculum Vulgare, Laurus Nobilis, Fructus Cumini*) were prepared. Then, the effect of prepared films on chemical quality of black fish (*Clarias gariepinus*) was investigated during refrigerated storage for a period of 15 days. The preservative effect of films was assessed periodically by free fatty acid (FFA), thiobarbituric acid (TBA) value, peroxide value (PV) and total sulfhydryl content (SH) analyzes. Obtained results showed that the use of isolated soy protein based edible films containing natural antioxidant essential oils improved the oxidative stability of black fish (*Clarias gariepinus).*

2020, 75 pages

Key Words: Active packaging, antioxidant essential oil, films, black fish (*Clarias gariepinus*), oxidative stability

TEŞEKKÜR

Her şeyden önce yüksek lisansa kabul edildiğim günden bu yana çalışmalarımın her aşamasında bilgi, deneyim ve yardım severliği ile bana yol gösteren, güvenini ve manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Şana SUNGUR hanım'a minnetimi, sadâkatimi, vefamı ve kadirşinaslığımı bildirir, şükranlarımı sunarım.

Maddi - manevi destekleri ve yardımseverlikleri ile kurum amirim Prof. Dr. İrfan KURTBAŞ bey'e, Doç. Dr.. İbrahim BİLİCİ bey'e ve tüm HÜBTUAM akademik personeline, çalışmalarımın bazı aşamalarında bilgi, deneyim ve deney araç-gereçleri konusunda yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üy. Zeki AYDIN, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, fikirlerine başvurduğum kıymetli hocalarım Prof. Dr. Yasin YÜCEL, Doç. Dr. Eray TULUKÇU, Doç. Dr. Abdullah ÖZKAN ve Öğr. Gör. Muaz KÖROĞLU beylere, bu çalışmamın gerçekleşmesinde sağladıkları maddi kaynaklarından dolayı MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna teşekkürü birer borç bilirim.

Ve tabii ki, benim bugünlere gelmemde çok önemli katkıları bulunan, maddi - manevi desteklerini, sevgi ve nasihatlerini esirgemeyen, beni ben yapan değerlerim, fedakâr, vefakâr ve cefakâr muhterem annem Elif ATAN ve Temmuz 2019'da aramızdan ayrılan rahmetli babam Emekli Prof. Ahmet ATAN'a, kardeşlerim Yusuf Girayalp ATAN ve Talha ATAN'a, kendisini tanıdığım günden beri benden sevgisini, ilgisini, vefasını ve manevi desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Cennet Çulha ATAN'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IV
ŞEKİLLER DİZİNİ VI
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ IX
1. GİRİŞ 1
1.1. Aktif Ambalajlama ve Yenilebilir Filmler 1
1.2. Lipit Oksidasyonu ve Antioksidan Aktivite 9
1.3. Karabalık (Clarias Gariepinus) 12
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 15
3. MATERYAL ve YÖNTEM 22
3.1. Materyal 22
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar 22
3.1.2. Kullanılan Cihazlar 23
3.2. Yöntem 23
3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 23
3.2.2. Örnek Numunelerin Alınması 25
3.2.3. Örneklerin Hazırlanması 25
3.2.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini (Folin-Ciocalteau Metodu) 25
3.2.5. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi" Miktarı Belirlenmesi 25
3.2.6. Yenilebilir Filmlerin Hazırlanması 26
3.2.7. Yenilebilir Filmlerin Kıyma Üzerine Uygulanması 26
3.2.8. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Nem Miktarının Belirlenmesi 27
3.2.9. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Yağ Miktarının Belirlenmesi 27
3.2.10. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Kül Miktarının Belirlenmesi 27
3.2.11. Yenilebilir Filmlerle Sarılmış Karabalıklardan Yağ Ekstraksiyonu 28
3.2.12. Serbest Yağ Asidi Miktarının Belirlenmesi 28
3.2.13. Peroksit Miktarının Belirlenmesi 28
3.2.14. Tiyobarbitürik Asit Değerinin Belirlenmesi 29
3.2.15. Toplam Sülfidril İçeriğinin Belirlenmesi (-SH) 29
3.2.16. Yenilebilir Filmlerin Uzama Katsayılarının Belirlenmesi 30
3.2.17. Yenilebilir Filmlerin Nem Miktarının Belirlenmesi 30
3.2.18. Yenilebilir Filmlerin Kuru Madde Yoğunluklarının Belirlenmesi 31
3.2.19. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) Görüntülenmesi İçin Hazırlığının Yapılması 31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 32
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (Folin-Ciocalteau Metodu) 32
4.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları 33
4.3. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu İle İlgili Tartışmalar 41

4.4. Ölçümlerde Kullanılan Karabalık Kıymasındaki Kimyasal Bileşenler ile İlgili Tartışmalar 57
4.5. Karabalıkların Serbest Yağ Asidi İçerikleri ile İlgili Tartışmalar 58
4.6. Karabalıkların Peroksit İçerikleri ile İlgili Tartışmalar 60
4.7. Karabalıkların Tiyobarbitürik Asit İçerikleri ile İlgili Tartışmalar 62
4.8. Karabalıkların Sülfidril İçerikleri ile İlgili Tartışmalar 64
4.9. İstatistiksel Analizler 66
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 67
KAYNAKLAR 70
ÖZGEÇMİŞ 75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Karabalık (Clarias gariepinus) 13
Şekil 1.2. Karabalık (Clarias gariepinus) 14
Şekil 3.1. TMA Cihazı 30
Şekil 3.2. TMA Cihazı 30
Şekil 4.1. Standart gallik asit kalibrasyon grafiği 32
Şekil 4.2. Uçucu yağların toplam fenolik madde miktarı değerleri 33
Şekil 4.3. Standart DPPH kalibrasyon grafiği 33
Şekil 4.4. BHA'nın DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 34
Şekil 4.5. BHT'nin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 35
Şekil 4.6. Nane örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 35
Şekil 4.7. Kekik örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 36
Şekil 4.8. Defne örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 36
Şekil 4.9. Sarımsak örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 37
Şekil 4.10. Biberiye örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 37
Şekil 4.11. Susam örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 38
Şekil 4.12. Kimyon örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 38
Şekil 4.13. Rezene örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 39
Şekil 4.14. Nar Çekirdeği örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 39
Şekil 4.15. Çörekotu örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 40
Şekil 4.16. Çörekotu örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi 40
Şekil 4.17. Kontrol yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) 41
Şekil 4.18. Kontrol yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) 42
Şekil 4.19. Kekik yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) ... 42
Şekil 4.20. Kekik yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) . 43
Şekil 4.21. Nane yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) 43
Şekil 4.22. Nane yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)... 44
Şekil 4.23. Defne yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) ... 44
Şekil 4.24. Defne yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) . 45
Şekil 4.25. Kimyon yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) 45
Şekil 4.26. Kimyon yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) 46
Şekil 4.27. Rezene yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık) . 46
Şekil 4.28. Rezene yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) 47
Şekil 4.29. Kontrol ve uçucu yağ ilaveli yenilebilir filmlerin toplu hâlde TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık) 47
Şekil 4.30. Kontrol yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 48
Şekil 4.31. Kekik yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 48
Şekil 4.32. Nane yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 49
Şekil 4.33. Defne yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 49
Şekil 4.34. Kimyon yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 50
Şekil 4.35. Rezene yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik 50

Şekil 4.36. Kontrol yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 51
Şekil 4.37. Kekik yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 51
Şekil 4.38. Nane yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 52
Şekil 4.39. Defne yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 52
Şekil 4.40. Kimyon yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 53
Şekil 4.41. Rezene yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği 53
Şekil 4.42. Kontrol grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı 54
Şekil 4.43. Kekik grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile 55
Şekil 4.44. Defne grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile 55
Şekil 4.45. Rezene grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile 56
Şekil 4.46. Nane grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile 56
Şekil 4.46. Kimyon grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile 57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri (% Nem, Kuru Madde Yoğunluğu ve Kalınlık Ölçümleri) 41
Çizelge 4.2. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri (% Kül, % Nem ve & Yağ Oranları) 57
Çizelge 4.3. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Serbest yağ asitleri değerleri (N=3) 59
Çizelge 4.4. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Peroksit değerleri (N=3) 61
Çizelge 4.5. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Tiyobarbitürik asit değerleri (N=3) 63
Çizelge 4.6. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Sülfidril İçeriği değerleri (N=3) 65

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Celsius
mg	: miligram
g	: gram
kg	: kilogram
mL	: mililitre
L*	: Açıklık-Koyuluk
a*	: Kırmızılık
b*	: Sarılık
C*	: Rengin Doygunluğu
H*	: Renk Açısı

KISALTMALAR

HDPE	: Yüksek yoğunluklu polietilen
LDPE	: Düşük yoğunluklu polietilen
PS	: Polistiren
SYA	: Serbest Yağ Asitliği
FFA	: Serbest Yağ Asitliği
PV	: Peroksit Değeri
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
BHA	: Butillenmiş hidroksianozil
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TMA	: Termomekanik Analiz Cihazı
-SH	: Sülfidril Grubu
OH	: Hidroksil İyonu
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5′-dithiobis [2-nitrobenzoik asit]
OR	: Mercanköşk
TH	: Bahçe Kekiği
ORT	: OR:TH (1:1)
Ec	: Ekstinksiyon Katsayısı
E	: Uzama Katsayısı
TS	: Çekme Dayanımı
YM	: Young Modülü
TO	: *Thymus sp* (Kekik) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler
MPO	: *Mentha Piperita* (Nane) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler

FVO	: *Foeniculum Vulgare* (Rezene) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler
LNO	: *Laurus Nobilis* (Defne) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler
MPO	: Mentha Piperita (Nane) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler
FCO	: *Fructus Cumini* (Kimyon) uçucu yağı eklenen filmlerle kaplanmış örnekler
K	: Uçucu yağ ilavesiz izole edilmiş soya proteini filmleriyle kaplı örnekler (Kontrol grupları)
IC_{50}	: The half maximal inhibitory concentration (yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu)
UV/Visible Spektrofotometresi	: Ultraviole/Görünür Bölge Spektrofotometresi

1. GİRİŞ

1.1. Aktif Ambalajlama ve Yenilebilir Filmler

Gıdalar tarihin ilk çağlarından bu yana ilkel de olsa işlenmekte ve paketlenmektedir. Günümüzde hâlen kimi bölgelerde ananevi usullerle işlenmiş ve paketlenmiş gıdalar tüketilmekte iken, geleneksel gıda işleme sürecinden sınai uygulamalara geçişin kaçınılmaz olduğu gelişmiş ve gelişen bölgelerde, işlenmiş ürün portföyünün çoğalmasına bağlı olarak tüketilmeye hazır besinlerin üretimi ve paketlenmesi, taleplerin karşılanması açısından zorunlu hâle gelmiştir (Gennaidos ve ark., 1997; Vermeiren ve ark., 1999; Karagöz ve Candoğan, 2007).

Ambalajlama; depolama, nakliye ve taşıma sırasında gıdaların kalitesini korumak için günümüzde vazgeçilmez bir araçtır. Tüketicilere içerik ve beslenme bilgisi sağlamak, gıda ürünlerini dış etkenlerden ve hasarlardan korumak, gıda ürünlerini bir arada tutmak için gereklidir.

Besinlerin nakliyesi ve depolanması sırasında kullanılan paketleme teknolojisindeki amaç, üretim aşamasından tüketime kadar besin temini zincirinin bütün basamaklarında kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik bozulmalara ve gıdayı sağlık açısından olumsuz tüm etkenlere karşı korumak ve böylelikle kalitede istikrar sağlamaktır (Cutter, 2006). Son yıllarda paketleme teknolojisinde hissedilen hızlı ilerleyişe bağlı olarak, bir tek bariyer özelliğinden ötürü kısıtlı etki gösteren klasik paketleme teknolojilerinden beklenen muhafazanın yanında ekstra kazanımlar sağlayan yeni paket malzemeleri ve teknikleri ilerleme kaydetmektedir (Rooney, 1995; Kerry ve ark., 2006).

Geleneksel paketleme tekniklerine başka bir seçenek olarak geliştirilen, gıda güvenliği ve ürün kalitesi istikrarının sağlanması haricinde, raf ömrünün arttırılması maksadıyla "ambalaj koşullarının değiştirilmesi" olarak tabir edilen ve "yaşayan bir ambalaj şekli" olarak da bilinen "aktif ambalajlama" son zamanlarda çalışmaların arttığı konular arasında yer almaktadır (Vermeiren ve ark., 1999; Devlieghere ve ark., 2004; Brody, 2005). Günümüzde geliştirilmiş aktif ambalajlama işlemlerinde amaca göre karbondioksit düzenleyiciler, etilen tutucular, oksijen tutucular, antimikrobiyal ve antioksidan nitelikteki materyaller ambalaj malzemelerine eklenmektedir (Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Sıradan ambalajlama tekniklerinden farklı bir seçenek olarak geliştirilen, gıda güvenliği ve ürün kalitesinin devamlılığının sağlanması yanı sıra raf ömrünün arttırılması maksadıyla ambalaj koşullarının değiştirilmesi olarak ifade edilen ve bununla birlikte yaşayan bir ambalaj şekli olarak da söylenen aktif ambalajlama son zamanlarda çalışmaların arttığı konuların ilk sıralarında yer almaktadır (Vermeiren ve ark., 1999; Devlieghere ve ark., 2004; Brody, 2005). Günümüzde geliştirilen aktif ambalajlama uygulamalarında amaca bağlı olarak oksijen tutucular, etilen tutucular, karbondioksit düzenleyiciler, antioksidan ve antimikrobiyal özellikteki maddeler ambalaj materyallerine dâhil edilmektedirler (Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Aktif ambalajlama içinde bulunan uygulamalardan antioksidan ve antimikrobiyal paketleme, bilhassa taze kırmızı et ve kanatlı etlerin yanı sıra bazı süt ürünleri ve deniz ürünleri için uygun bir koruma yöntemidir. Paketlemenin klasik bariyer özelliğinin yanında, ambalaj malzemesine ya da ortamına bir takım aktif materyallerin tek başına veya birleşik hâlde ilave edildiği aktif ambalajlama işlemlerinden biri olan antioksidan ve antimikrobiyal ambalajlamanın asıl gayesi difüzyon yoluyla gıdalara aktif materyal transferi kontrolünün sağlanması, böylelikle gıdaların güvenliğinin ve gıda kalitesinin istikrarının temin edilmesidir (Han, 2000; Cutter, 2006). Bu amaçla, aktif bileşenlerin polimer içine doğrudan eklenmesi, polimer yüzeylerin (filmlerin) aktif bileşenlerle kaplanması, polimer üzerine aktif maddelerin kovalent ve iyonik bağlarla immobilize edilmesi ve doğal antimikrobiyal ve antioksidan özellikte olan polimerlerin kullanımı gibi teknikler geliştirilmiştir (Han, 2000).

Ambalajlamanın geleneksel bariyer özelliğinin yanında, ambalaj materyaline ya da ortamına çeşitli aktif bileşenlerin tek başına veya toplu olarak ilave edildiği aktif ambalajlama uygulamalarından biri olan antimikrobiyel ve antioksidan ambalajlamanın esası difüzyon aracılığıyla gıdalara aktif bileşiklerin taşınımı kontrolünün ve böylelikle gıdaların kalitesinin ve gıda güvenliğinin devamlılığının temin edilmesidir (Han, 2000; Cutter, 2006). Bu maksatla polimer yüzeylerin (filmlerin) aktif maddelerle kaplanması, polimer içine direkt aktif maddelerin eklenmesi, doğal antimikrobiyal ve antioksidan nitelikte olan polimerlerin kullanılması ve polimer üzerine aktif maddelerin iyonik ve kovalent bağlarla immobilize edilmesi gibi teknikler geliştirilmiştir (Han, 2000).

Çevre bilincinin artmasıyla, insanların doğal, biyobozunur ve dönüşebilir ambalaj malzemeleri ile ilgili tercihi, ambalaj sahasını doğal ve dönüşebilir ambalaj malzemeleri

üretmeye yönlendirmiştir. Biyobozunur ambalaj malzemeleri içerisinde biyopolimerler genel hatlarıyla fiziksel gerilmeye karşı iyi bir bariyer olmaları ve oksidatif etkileri sebebiyle antioksidan ve antimikrobiyal paketlemede tercih edilme potansiyeline sahiptir. Bu biyopolimerlerden hazırlanan yenilebilir film ve kaplamaların et ve et ürünleri alanında kullanımı son zamanlarda bir hayli dikkat çekmektedir (Cutter, 2006). Yenilebilir kaplama ve filmlerin bu özellikleri, önemli düzeyde bu malzemelerin farklı geçirgenlik aktiviteleri sayesinde olmaktadır. Hem bir gıda bileşeni hem de bir ambalaj olan yenilebilir kaplamalar, ürünleri çeşitli biyokimyasal ve mikrobiyolojik bozulmalara, bunun yanında mekanik etkilere karşı da güçlü tutan, ucuz, kolay uygulanabilir, çevreyi kirletmeyen ve toksik olmayan malzemeler olmalıdır (Gennadios ve ark., 1997; Weller ve ark., 1998).

Genel itibariyle; lipit, protein, kompozit ve polisakkaritlerden üretilen yenilebilir kaplama ve filmler, bunlardan beklenen fonksiyonlara ve gıdanın niteliğine bağlı olarak seçilmelidir (Gennadios ve Weller, 1991). Çeşitli avantaj ve dezavantajları olan bu malzemelerden birkaç tanesinin birleştirilmesiyle kompozit filmler oluşturulabilir ve bu yolla nem, gaz ve buhar geçirgenlik aktiviteleri geliştirilebilir (Gennadios ve Weller, 1990; Baldwin ve ark., 1995). Molekül ünitelerinin çapraz bağlanmasıyla film şekillendirme, esneklik ve dirençlilik aktiviteleri gelişir. Gıda teknolojisinde biyopolimer filmlerin hazırlanmasında en fazla kullanılan bileşikler karbonhidratlar ve proteinlerdir (Gennadios ve ark., 1997; Kodal, 2008). Protein bazlı yenilebilir filmler genellikle jelatin, kollajen, zein, kazein, buğday gluteni ve soya proteininden elde edilmektedir (Gennadios ve Weller, 1993). Bunların arasından soya proteininden üretilen yenilebilir filmler genel olarak meyve, sebze, et ve et ürünlerinin ambalajlanmasında tercih edilmektedir (Brandenburg ve ark., 1993).

Son zamanlarda tıbbi aromatik bitkiler ile bunlardan üretilen aktif maddelere artan ilgi, antioksidan ambalajlama işlemlerinde yenilebilir ambalaj malzemelerine daha çok doğal antioksidan özellikli materyallerin dâhil olmasını yaygın hâle getirmiştir. Bu maksatla antioksidan özellikli çeşitli bitkilerin ekstraktları, baharat ve doğal renk pigmentlerinin tercihi önem arz etmektedir (Oussalah ve ark., 2004).

Besin değerleri bakımından oldukça zengin bir içeriğe sahip olan etin raf ömrü herhangi bir koruma işlemi uygulanmadığı sürece kısadır. Uzun zamandan beri taze etin raf ömrünü uzatmak ve değişken özelliklere sahip yeni bir ürün ortaya çıkarmak

maksadıyla farklı teknolojiler denenmekte ve uygulanmaktadır (Campbell-Plat, 1995). Ambalajlama endüstrisinde son araştırmalardan biri de "yenilebilir film" olarak adlandırılan, kökeni tarıma dayalı, doğal ve biyolojik hâliyle geri dönüştürülebilir maddelerden yapılmaları sebebiyle doğaya zarar vermeyen bunun yanında korunmasına da katkı sağlayan ambalaj türleridir (Debeaufort ve ark., 1998; Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997; Devlighere ve ark., 2004).

Yenilebilir kaplama, "bir gıda yüzeyinde meydana getirilmiş ince katman şeklindeki madde" olarak izah edilirken, yenilebilir film ise "gıda maddeleri veya gıdanın kendi yüzeyine önceden hazırlanan ince yenilebilir maddenin konumlandırılması" şeklinde tanımlanmaktadır (Kester ve Fennema, 1986). Bir başka deyişle, yenilebilir kaplamalar gıdalara sıvı hâlde daldırılarak veya püskürtülerek, yenilebilir filmler ise önceden katı ve ince tabakalar hâlinde hazırlanıp daha sonra gıdaya muamele edilmektedir (McHugh, 2000). Sorbitol, gliserin ve gliserol gibi plastikleştiricilerin film elde edilmesinde tercih edilmesi filme esneklik ve bükülebilir özellik katmaktadır (Tharanathan, 2003).

Yenilebilir film ve kaplamalar karbondioksit, oksijen ve lipit geçişlerini kontrol ederek, gıda sisteminin yapısal etkilerini arttırarak, tatlarının ve aromalarının kaybolmasını sınırlandırırlar. Bunun yanında antimikrobiyal maddeleri, antioksidanları, esmerleşme reaksiyonlarını durduran iyonları, pigmentleri, vitaminleri ve suyunu gıda ürünü bünyesinde muhafaza ederek, gıdanın kalitesini bozmadan, raf ömrünü de arttırırlar (Debeaufort ve ark., 1998; Temiz ve Yeşilsu, 2006). Bu filmlerin gıda üzerine uygulanması ile gıda materyallerinin kütle kayıpları sınırlandırabilmekte, kimyevi ve enzimsel reaksiyonlar ise kontrol altına alınabilmektedir (Krochta ve ark., 1994).

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdanın dıştan gelebilecek faktörlere karşı yapısal özelliklerinin muhafaza edilmesine katkıda bulunurlar ve böylelikle gıdanın bütünlüğünün korunmasına da olanak sağlarlar. Yenilebilir film ve kaplamalar gıda ile birlikte yenebileceğinden sağlık güvenliği, kullanım dozları ve tüketilebilirlik konuları esas alınmalıdır. Bu film ve kaplamalar genel olarak bilinen ambalajlarla beraber kullanıldıklarında raf ömrünü ve ürün kalitesini de arttırabilirler. Böylelikle, normal koruyucu ambalaj kullanım miktarı düşürülebilir ve geride daha az atık bırakabilen, daha çok dönüşebilir ve daha sade ambalajlar tercih edilebilir (Debeaufort ve ark., 1998; Temiz ve Yeşilsu, 2006).

Yenilebilir film ve kaplamalar et ve et ürünlerine birçok kazanım sağlar. Taze ve dondurulmuş et ve et ürünlerinde depolama süresi boyunca nem kaybı sorununun önüne geçmektedir. Bunun yanında yenilebilir film ve kaplamalar, kızartma yoluyla yenilmesi tercih edilen kırmızı et ve kanatlı etlerin kızartma süresince yağ emilimini, uçucu nitelikteki lezzet kaybını ve yabancı koku kirliliğini azaltmaktadır. Yenilebilir film ve kaplamaların bir başka faydası da köpük tabaklarda ambalajlanan taze et ve kanatlı etlerinden sızan bünye suyunu koruyarak ambalaj içinde birikmesinin önüne geçmeleridir. Böylelikle köpük tabaklarda ek olarak emici ped kullanımına ihtiyaç duyulmamaktadır (Park, 1996, Gennadios ve ark., 1997).

Yenilebilir filmler genel olarak; lipitler, proteinler, kompozitler ve polisakkaritler olarak bölümlendirilmektedir. Uygulanacak kaplama ve filmlerin tercihi, gıdanın niteliğine, kaplama ve filmden beklenen işlevlere göre değişkenlik göstermektedir. Lipit, karbonhidrat ve protein bazlı yenilebilir ambalaj malzemelerinin gıda ambalajlamada uygulanması çalışmaların yaygınlaştığı başlıkların ilk sıralarında kendine yer bulur (Gennadios ve Weller, 1991). Değişken kazanım ve zararları olan bu materyallerin birkaç tanesinin birleştirilmesiyle kompozit filmler elde edilmekte ve bu sayede gaz, buhar ve nem geçirgenlik karakterleri kazandırılmaktadır (Baldwin ve ark., 1995; Gennadios ve Weller, 1990). Film biçimlendirme, esneklik ve güçlülük özellikleri, molekül bileşenlerinin çapraz bağlanmasını gerekli kılar ve bunun için gıda teknolojisinde biyopolimer filmlerin elde edilmesinde en çok tercih edilen polimerler karbonhidratlar ve proteinlerdir (Gennadios ve ark., 1997).

Doğada çeşitli kaynaklardan elde edilebilen ve genellikle toksik özellik göstermeyen polisakkarit bazlı film ve kaplamalar çok geniş kullanım alanına sahiptirler. Bu grupta nişasta, nişasta hidrolizatları, selüloz ve türevleri, pektin, karragenan, kitosan, aljinatlar, levan ve pullulan gibi maddeler bulunmaktadır (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997). Gaz bariyer özelliklerinin iyi olması nedeniyle polisakkarit bazlı yenilebilir film ve kaplamalar taze meyve ve sebzelerde solunumu, bu sebeple de olgunlaşma sürecini uzatırlar. Fakat hidrofilik karakterleri sebebiyle nem bariyerleme özelliklerinin zayıf kalmasından dolayı, su ambalaj içinde yoğunlaşabilir ve bu durum mikrobiyal bozulmalara sebebiyet verebilir (Gontard ve ark., 1996; Baldwin ve ark., 1995).

Polisakkarit bazlı yenilebilir film üretimi için kullanılmakta olan hidrokolloidler içerisinde çok rastlanan aljinat, kahverengi su yosunu vasıtasıyla elde edilmiş aljinik asitin tuzları L-guluronik asit ve D-mannuronik asit monomerlerinin lineer kopolimeridir (Kodal, 2008). Kalsiyum aljinat jeliyle kaplanmış kırmızı et, kanatlı etleri ve balıklarda soğuk depolama süresince su kaybına ve renk değişimine karşı bir koruma sağlandığı tespit edilmiş ve bu çalışma için patent alınmıştır (Lazarus ve ark., 1976).

Kitosan ve agar da gıdalarda yenilebilir film ve kaplama üretiminde çok geniş kullanım alanına sahip polisakkaritlerdendir. Yenilebilir ambalaj materyalleri üretiminde kullanım alanına sahip olan ve yapısı gereği doğal antimikrobik aktivite gösteren kitosan maddesi selülozdan sonra doğada en fazla bulunan ikinci doğal biyopolimer olarak bilinmekte ve deniz kabuklularının kitin tabakasından deasetilasyon metoduyla üretilmektedir. Bu biyopolimer aynı zamanda bakterilere, mayalara ve küflere karşı antimikrobik karakterli yenilebilir ve biyobozunur bir maddedir (Vartiainen ve ark., 2004; Cooksey, 2005).

Yenilebilir film ve kaplama kullanımlarında bulunan bir başka polisakkarit de selülozdur. Fakat selüloz, lifli, çözünmez ve kristal yapıda olduğundan, film ve kaplamalar için selüloz türevleri tercih edilmektedir. Daha güçlü ve daha esnek film üretimi açısından metil selüloz ve hidroksipropil metil selüloz gibi selüloz türevleri uygun selülozlardır (Gennadios ve ark., 1997). Gıdaların paketlemelerinde nem kaybının önüne geçmek maksadıyla hidrofobik karakterleri vesilesiyle nem kaybına karşı sağlam bariyer özellikli yenilebilir film ve kaplamalardan lipit kökenli yağlar, gliseritler ve mumlar tercih edilmektedir. Nem kaybının önüne geçmek maksadıyla parafin mumu içeren kaplamalar, parlaklığı sağlamak maksadıyla da gliserol, reçine ve sorbitol türü maddeleri barındıran kaplamalar tercih edilebilmektedir. Gıda maddelerinin yağ içeren maddelerle kaplanması uygulamalarına şekerlemelerin çikolata ile kaplanması, meyvelerin mumlanması örnek olarak verilebilir. Reçine için genel olarak ağaç reçinesi ve şellak tercih edilmektedir (Gontard ve ark., 1996; Gennadios ve ark., 1997).

Yenilebilir filmler arasında protein kökenli olanlar iyi film oluşturabilmelerinin yanında, bu tür filmlerle kaplanan gıdaların besin miktarlarını da arttırmaktadır. Protein filmini meydana getiren materyaller bitkisel ve hayvansal kaynaklardan sağlanmaktadır. Hayvansal kaynaklı olanlar; jelatin, kollajen, yumurta beyazı proteini, balık miyofibriler proteini, peynir altı suyu proteini, kazein ve kreatindir. Bitkisel kaynaklı olanlar ise;

buğday gluteni, mısır zeini, yerfıstığı proteini, pamuk çekirdeği proteini ve soya proteinidir. Fakat yaygın bir şekilde tercih edilen proteinler, peynir altı suyu proteini, soya proteini ve mısır zeinidir (Gontard ve ark., 1992; Baldwin ve ark., 1995; Gennadios ve ark., 1997).

Protein bazlı film ve kaplamalar besinsel katkıların ilave edilme potansiyeline ve protein miktarına bağlı olarak gıdaların tatlarını, aromalarını ve besin kalitelerini zenginleştirebilmektedir (Gennadios ve Weller, 1990; Temiz ve Yeşilsu, 2006). Ayrıca protein bazlı filmler, lipit ve polisakkarit bazlı filmlere kıyasla daha etkili gaz bariyeri karakteri gösterirler. Protein bazlı yenilebilir filmlerin mekanik özellikleri de lipit ve polisakkarit bazlı filmlere nazaran daha etkilidir. Çünkü proteinlerin kendine özgü yapıları onlara her şeyden önce yüksek molekül içi bağlanma potansiyeli gibi birçok fonksiyonel özellik katmaktadır. Sayısız bağlantılar oluşturmak amacıyla yüksek potansiyel sağlamakta ve farklı şekillerde bağlar oluşturabilmektedirler (Tharanathan, 2003).

Yenilebilir film üretiminde kullanılan proteinlerin su molekülleriyle etkileşimlerinden ötürü hidrofilik karakterli kısımları kalınlaşmaya ve şişmeye neden olur. Bu hidrofilik polimerler; hidrojen bağlantısını kolaylaştıran film matrisinden su buharı emilimini teşvik eden polar grupları barındırırlar. Bunun neticesinde filmde nemin var olması buharların ve gazların geçişlerini değiştirebilir (Yoshida ve ark., 2005)

Yenilebilir film üretiminde kullanılan proteinlerden bir diğeri de soya proteinleridir. Soya proteinleri yenilebilir ürünlere uygulanabilen ve biyolojik olarak da parçalanabilen, aynı zamanda çevre dostu bir üründür. Bu sebeple, yenilebilir filmlerin üretiminde ham madde olarak kullanılan en önemli proteinlerden biri olarak yerini almıştır. Gıda sanayiinde kullanılan soya proteinleri protein miktarlarına bağlı olarak soya protein konsantresi, soya protein izolatı ve soya unu olarak sınıflandırılmaktadır. Soya proteininin protein miktarı yenilebilir film üretiminde oldukça önem arz etmektedir. Protein miktarı fazla ve buna bağlı olarak da mineral, diyet lifi ve yağ gibi protein harici kısımların oranları düşük seviyede kalmış soya proteininden üretilen yenilebilir filmlerin film oluşturma karakteristikleri optimum düzeyde gerçekleşmektedir. Soya protein izolatı yaklaşık % 92 protein seviyesindedir ve soya protein bazlı yenilebilir filmlerin üretiminde ham madde bazında sıkça tercih edilen başlıca proteinlerden biridir. Bunun sebebi soya protein izolatının soya proteininin diğer formlarından daha etkili jelleşme, nem ve yağ

tutabilme kriterlerini barındırmasıdır (Rayner ve ark., 2000; Porcella ve ark., 2001; Swain ve ark., 2004; Cho ve ark., 2007).

Proteinlerden makromoleküler bir ağ oluşumu yenilebilir film üretiminde üç basamakta meydana gelir. Bunlardan birincisi polimerleri doğal hâllerinde sabitleyen düşük enerji seviyeli iç bağların kırılmasıdır. İkincisi, bağların kırılmasıyla polimerlerin tekrar düzenlenmesidir. Üçüncüsü ise, yeni interaksiyonlar sonucu meydana gelen yeni bağlarla üç boyutlu ağ oluşumudur (Swain ve ark., 2004). Film oluşum mekanizmasının, film ve hava arasında ve çözücü ekstraksiyonu ve protein polimerizasyonu yoluyla geliştiği düşünülmektedir. Film ağındaki protein molekülleri hidrofobik bağ, disülfit bağı ve hidrojen bağları sayesinde birleşmiş durumdadır. Disülfit bağları esasında protein polimerizasyonundan görevlidir (Cao ve Chang, 2001). Soya proteinlerinden yenilebilir film oluşum aşaması yüzey nemi giderme esnasında proteinlerin doğal yapısını bozma (denatürasyon) süreci olarak izah edilir. Doğal yapısı bozulmuş (denatüre olmuş) proteinler hidrofobik bağlar ve çapraz disülfit bağlarıyla film ağı meydana getirirler (Cho ve ark., 2007). Protein denatürasyonu şekil olarak küresel protein geometrisinden düz zincirli yapıya doğru bir değişkenlik olarak tanımlanır. Teoride protein-protein arasındaki tepkimelerin artmasıyla uzun zincirli yapıya dönüşümün de arttığı ve bu artma sayesinde hazırlanan filmde geçirgenliğin azalma gösterdiği, bununla birlikte gerilme kuvvetinin de artış gösterdiği belirtilmiştir (Gennadios ve Weller, 1991).

Yenilebilir film üretiminde esnekliği artırmak ve oluşan filmlerin özelliklerinde iyileşme elde etmek maksadıyla film malzemelerine eklenen plastikleştiriciler, genelde polimerik moleküler bağların arasına girmek suretiyle film yapısında önemli bir yumuşama ve uzama karakteri kazandırarak işlev gösterirler. Plastikleştiriciler, moleküller arası boşlukları arttırırken polimer zincirleri arasındaki hidrojen bağlarını azaltma etkileriyle de film esnekliğini arttırırlar. En etkili plastikleştiriciler genellikle eklendikleri polimerin karakterine en çok benzerlik gösterenlerdir. Bu sebeple protein bazlı filmler sorbitol ve gliserol gibi hidroksil bileşenler sayesinde plastikleştirilirler. (Cho ve Rhee, 2002; Swain ve ark., 2004).

Soya protein bazlı filmlerin yapıları, filmi oluşturan çözeltilerin pH'sı, protein konsantrasyonu, aldehitler ile çapraz bağlanmalar, enzimatik işlemler, uygulanan ısıl işlemler ve kurutulmuş filmlere uygulanan ısıl işlemler gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir (Cho ve Rhee, 2002). Soya proteini nötral pH seviyelerinde küresel

geometridedir. İzole soya proteini filmi hazırlanırken kısmi denatürasyona uğratmak ve soya proteininin çözünürlüğünü arttırabilmek maksadıyla hafif alkali işlem uygulanır, böylelikle üretilen filmin yapısı ve şekli iyileştirilir. Araştırmacılar yenilebilir filmlerde gerilmeye karşı gösterilen direncin en fazla pH 10'da olduğunu tespit etmişlerdir (Cao ve Chang, 2001). pH değeri 10'un altında ve üstünde iken filmin gösterdiği direnç azalma kaydetmiştir. pH 10 olduğunda hidrofobik gruplar ve protein molekülündeki sülfidril grupları, film oluşum mekanizmasından sorumlu olduğu tahmin edilen hidrojen bağı ve disülfit formu oluşumuna en uygun durumdadır (Gennadios ve ark., 1993a).

1.2. Lipit Oksidasyonu ve Antioksidan Aktivite

Yağ muhteviyatı, özellikle de doymamış yağ içeriği fazla olan yiyecekler, bozulmaya daha elverişlidir. Balık yağı, fındık yağı, bitkisel yağlar, süt ve et ürünleri gibi gıdalara mikrobiyal çoğalmayı azaltmak amacıyla koruyucu işlemler uygulanmaktadır. Lipit oksidasyonu sonucunda gıdalarda bayatlama ve istenmeyen bir tat oluşmaktadır (Guillen ve Goicoechea, 2008). Gıdaların bozulmasındaki başlıca sebep, mikrobiyal çoğalma sonucu meydana gelen lipit oksidasyonudur. Lipit oksidasyonu, moleküler oksijen ile doymamış yağ asitlerinin tepkimeye girmesi sonucu sekonder (ikincil) oksidasyon ürünleri olan aldehit, keton ve alkol gibi bileşiklerin oluşmasına sebep olan kimyevi bir tepkimedir. Bu tepkimeler yağ ve yağ içeren besin maddelerinde karsinojenik ve mutajenik maddelerin oluşumuna yol açarak gıdanın güvenirliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Shahidi ve Rubin, 1987).

Patojenik veya bozulmuş organizmaların varlığı ve büyümesi, taze yiyecekleri kolayca bozmaktadır. Bu aynı zamanda gıda kaynaklı hastalık riskindeki artışın bir nedenidir. Yağ oksidasyonu, mikrobiyal büyüme ile birlikte, balık, et, tam yağlı süt, sos ve yağ gibi çok çeşitli yiyeceklerin bozulmasının ana nedenidir. Yağ oksidasyonunu azaltmak için, gıdalara antioksidanların doğrudan eklenmesi veya uygun bir paketleme teknolojisinin tasarımı gibi birkaç strateji uygulanmıştır. Ne yazık ki, taze kırmızı et ve bazı balık ürünleri oksijen olmadan paketlenememektedir. Antioksidan bileşiklerin gıda yüzeyine doğrudan eklenmesi, aktif bileşikler tüketildiğinde korumanın sona ermesi ve gıda kalitesinin yüksek bir oranda azalmasıyla sonuçlanır (Mastromatteo ve Del Nobile, 2010). Antioksidan maddeler içeren ambalajların kullanılması daha verimli olabilir.

Maddelerin ambalaj malzemesinden ürünün yüzeyine yavaş geçişi, yiyecek yüzeyindeki fonksiyonel etkiyi arttırır.

Son zamanlarda, lipit oksidasyonunu azaltabilmek maksadıyla, ya yiyeceklere direkt antioksidan maddeler katılmakta ya da uygun ambalajlama tekniklerinden faydalanılmaktadır. Ambalajlama teknikleri arasında en çok kullanılanlar vakum veya modifiye atmosfer ambalajlama (hava yerine "O_2, N_2, CO_2 "gibi belli gaz karışımları ile paketin içerisinin doldurulması) teknikleridir. Bunun yanında, sıcaklık kontrolünün gereksinimi, her ürün tipi için ayrı ayrı gaz formülasyonlarının uygulanması gerekliliği, paket hacmi artışında daha çok gaz kullanma mecburiyeti ve taşıma masraflarının çokluğu da bu metodun başlıca dezavantajlarıdır. Gıda maddesine doğrudan eklenen antioksidanların belli sınırlar dâhilinde kullanılması ve sağlık açısından sakıncası olmadığının kesin olarak tespiti gerekmektedir (Lopez-de-Dicastillo ve ark., 2010).

Antioksidanlar doğal ve yapay olmak üzere üretilebilir ve kullanılabilirler. Endüstriyel uygulamalarda besinlerin tazelik süresini arttırmak için temel olarak yapay antioksidanlar (polifenol, organofosfat ve tiyoester bileşikleri gibi) eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Fakat bazı yapay antioksidanların canlı organizmada karsinojenik ve teratojenik etki baş gösterdiği kanıtlandığından ötürü, gıda üretiminde kullanılabilecek doğal antioksidanlı baharatların ve doğal aromatik bitkilerin kullanımı daha da ehemmiyet kazanmıştır. Bu bitkilerin muhteviyatında bulunan fenolik bileşikler serbest radikalleri ortadan kaldırma, metal iyonlarıyla birlikte bileşik yapma ve tekli oksijen oluşumunu önleme gibi özelliklerinden dolayı antioksidan etkiye sebep olmaktadır. Keza yapılan bazı çalışmalarda, bu bitki ve baharatlardan bazılarının antioksidan kapasitelerinin, yapay antioksidanlardan daha yüksek miktarda olduğu ispat edilmiştir. Kendilerine has aroma ve tatları, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri sebebiyle, daha fazla biyoaktivite eğiliminde olan bitki ve baharatlar gıda endüstrisinde alternatif olarak kullanılabilecek doğal antioksidan maddelerdir (Dopico-Garcia ve ark., 2011).

Antioksidan maddelerde bulunması gerekli olan en önemli nitelikler;

- Gıdalarda uygulanan miktarlarda zehir etkilerinin bulundurmaması,
- Düşük derişimlerde etki edebilmeleri,
- Rahat bulunabilmeleri,
- Gıdalarda istenmeyen tat ve renk değişimlerine sebep olmamaları ve

- Mâli değerlerinin yüksek olmamasıdır.

Antioksidan eklenecek gıdanın türü (hayvansal veya bitkisel yağlar), antioksidan içeren yağın kullanıldığı yiyecek içeresinde etkili olabilmesi, antioksidanın çözünürlüğü veya dağılımı, renk değiştirme kapasitesi, gıdanın pH'sı, gıdaya uygulanan işlemin türü (kızartma, fırında pişirme vb.) ve tadın belirsiz olması gibi hususlar da antioksidan tercihinde dikkate alınması gereken niteliklerdendir

Gıda endüstrisinde kullanılabilen antioksidanlar 4 sınıfa ayrılabilir. Bunlar;

1- **Serbest Radikaller ile Kompleks Oluşturan Antioksidanlar:** Bu tip antioksidanlar fenolik yapılarından veya moleküler yapılarındaki fenolik konfigürasyondan dolayı fenolik hidroksit guruplarından hidrojen verip, başlangıçtaki serbest yağ asidi radikal oluşumunu engelleyici oksidasyonu inhibe ederler. Bu özellikteki antioksidanların en yaygın kullanılan türleri bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer bütil hidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG) ve tokoferollerdir.

2- **İndirgen Antioksidanlar (Oksijen Bağlayıcılar) :** Bu tip antioksidanlar hidrojen atomlarını oksijen ile bağlayarak oksijenin okside edici tesirini yok eder ve bozulmayı (ransidite) ertelerler. Antioksidanlara yardımcı olan bu maddeler renk değişimlerini engellerler. Bu antioksidanlara da örnek verilecek olursa askorbik asit ve türevleri, eritorbik asit, askorbil stearat ve askorbil palmitat, glukozoksidaz, sülfitler ve sodyum eritorbat olabilir.

3- **Şelatlar (Kelatlar, Sekestsranlar) :** Şelat oluşturucu ajanlar antioksidan olmamakla beraber gıdaların stabilize edilmelerinde önemli rol oynarlar. Sinerjistler olarak da sınıflandırılan şelat oluşturucu ajanlar lipit oksidasyonunu hızlandırn demir ve bakır gibi metal iyonları ile kompleks oluşturarak onların katalitik etkisinin önüne geçerler. Bu tür antioksidanlara sitrik asit, polifosfatlar ve etilendiamintetraasetikasit (EDTA) örnek gösterilebilir.

4- **İkincil (Sekonder) Antioksidanlar:** Lipit oksidasyonu esnasında, hidrojen peroksidi ayrıştırarak (dekompoze ederek) antioksidanlara yardım ederler.

Dilauriltiyodipropiyonat (DLTDP) ve tiyodipropiyonik asit (TDPA) bu türe örnektir.

Son zamanlarda kullanılması ekseriyetle tercih edilen doğal antioksidanlar, genel olarak bitki ve baharatlar yoluyla üretilmektedirler. Mercanköşk, hardal, kekik, zencefil, üzüm çekirdeği tohumu ekstraktı, aloevera, adaçayı, melekotu, şakayık, kamış, biberiye ve kimyon ekstraktlarını içeren farklı türdeki bitkilerden antioksidanlar üretilebilmiştir (Fiorentino ve ark., 2008). Bitkilerden üretilen antioksidanlar ile alâkalı çalışmaların önemli bir kısmı biberiye ekstraktı üzerine yoğunlaşmıştır. (Botsoglu ve ark., 2007; Pszczola, 2001). Biberiye ve adaçayı yaprağı türünden bitkilerin yüksek antioksidan aktivitesine sahip bitkiler olduğu ifade edilmektedir (Chen ve ark., 1998). Bitkiler yoluyla üretilen antioksidanların aktif bileşenleri polifenolik bileşiklerdir. En etkili antioksidan maddeler iki ya da daha fazla sayıda polifenolik gruplar barındırmaktadırlar.

Gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar, bütil hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen ve propilgalattır (Abreu ve ark., 2010). Bununla birlikte, gıda maddelerinde kullanılan sentetik antioksidanlar, kanser promotörleri de olabilir (Dance-Barnes ve ark., 2009). Çay, biberiye, kekik, karanfil, yaban mersini, hardal ve kırmızı şarap gibi antioksidan etkiye sahip doğal ürünlere son zamanlarda büyük ilgi gösterilmiştir (Alen-Ruiz ve ark. 2009; Beddows ve ark. 2000; Bhale ve ark. 2007; Houhoula ve ark. 2004; McCarthy ve ark. 2001; Murphy ve ark. 2009; Ramos ve ark. 2014).

1.3. Karabalık (Clarias Gariepinus)

Karabalık (Clarias gariepinus) Orta doğudan güneyde Orange nehrine uzanan bölgeye has coğrafik dağılımı olan bir balık türüdür. (Teugels, 1984). Afrika ve Ortadoğu'da, ılıman iklimlerde bulunan tatlı su gölleri, nehirler ve hatta bataklıklarda yaşayabilen bir türdür. Daha çok Suriye, Filistin ve Mısır civarında yayılım gösteren bu tür, güney sınırlarımızdan ülkemize de girmiş olup, özellikle Adana, Antakya ve Mersin yörelerindeki tatlı sularda bulunmaktadır. Dünyanın sadece çok az bir kısmında bulunması, bu nedenle olmayan bölgelerde erişiminin oldukça zor olması karabalığı bu

bakımdan daha da özel bir hâle getirmektedir (Koca, 2017). Karabalığın omega 3 bakımından zengin, lezzetli ve az kılçıklı olması tercih edilebilirliğini arttırmaktadır.

Yetiştirilmesi yapılan en etkin iki *Clarias* türü *Clarias batrachus* ve *Clarias gariepinus*'tur. Bunun dışında *Clarias* üretiminin büyük bir kısmını ya *Clarias gariepinus* x *Clarias macrocephalus* veya *Clarias gariepinus* x *Clarias batrachus*'un kırmaları (hibrit) içermektedir (Csavas, 1994; Karnasuta, 1993). Karabalık büyük bir kafaya ve ince uzun bir vücuda (70-100 cm) sahiptir. Yuvarlak bir gövde kesiti vardır. Üst ve alt çenesinde bıyıkları bulunmaktadır. Sahip olduğu ek bir solunum dokusu sayesinde su dışında da bir süre daha yaşayabilmektedir (Narin, 2003).

Dünyada doğası içinde barınmadığı ülkelerde dahi bu balık türü üzerine çeşitli konularda önem arz eden araştırmalar yapılmasına rağmen, ülkemizde yapılan araştırmalar bir hayli azdır.

Resimleri Şekil 1.1 ve 1.2'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Karabalık (Clarias gariepinus)



Şekil 1.2. Karabalık (Clarias gariepinus)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Lazarus ve arkadaşları, 1976'da pirzola, kuzu karkasları, taze biftek dilimi ve derili tavuk butuna uygulanan aljinat kaplamaların bu ürünlerde nem kaybını azaltarak bünye sularının muhafazasına önemli etkiye sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Wanstedt ve arkadaşları, 1981'de pişirildikten sonra dondurularak depolanmış aljinat kaplı domuz köftelerinde, nem ve aroma kaybının sınırlandırıldığını ve kaplama uygulanmış örneklerdeki duyusal kalitenin kontrol köftelerine nazaran daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra kaplama uygulanan köftelerde lipit oksidasyonunun azaldığı tespit edilmiştir.

Gennadios ve arkadaşları, 1993'te yaptıkları bir çalışmada izole soya protein esaslı filmin oldukça düşük oksijen geçirgenlik özelliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Selüloz esaslı filmlere kıyasla 200 kat ve birçok yaygın kullanımlı plastik bazlı filmlere göre de (HDPE-yüksek yoğunluklu polietilen, LDPE-düşük yoğunluklu polietilen, PS-Polistiren) 325 ila 1750 kat daha etkili bariyerleme kabiliyeti olduğunu ifade etmişlerdir. % 35 oranında alkali ilavesinin uzama artışı sağlarken, gerilme kuvvetini ve oksijen geçirgenliği değiştirmediğini görmüşlerdir.

Hargens-Madsen ve arkadaşları 1995'te yaptıkları bir araştırmada E vitaminlerinin 9 günden fazla dondurularak depolanmış mısır-zein kaplamalı domuz eti pirzolalarında TBA değerlerini azalttığını tespit etmişlerdir. Peynir altı suyu proteini de son zamanlarda yenilebilir film ve kaplamalar üzerine yapılan birçok çalışmanın ilham kaynağı olmuştur.

Fang ve ark. (2002), gliserol, kalsiyum, emülsiyon tanecikleri ve peynir altı suyundaki protein miktarının filmin bariyerleme özellikleri ve gerilme kuvveti üzerine etkisini araştırmışlar ve protein miktarının uzama oranı, gerilme kuvveti ve su buharı geçirgenliği üzerine etkilerinin çok az olduğunu bulmuşlardır.

Gennadios ve arkadaşları, 1997'de türlü et ve et ürünlerinde oksitleyici değişimlerin belirli düzeyde tutulması maksadıyla uygulanabilecek yenilebilir ambalaj malzemelerinin, antioksidan bileşikleri içerisinde tutularak, gıda üzerinde bu bileşiklerin daha yüksek derişimlerde bulunmasına sebep olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Gennadios ve arkadaşları, 1997'de yenilebilir film ve kaplamaların et ve ürünlerinde güvenliği ve tazeliği arttırdığını, ileri işleme tabii tutulmuş et ürünlerinde lipit

oksidasyonunu azalttığını, kötü renk oluşumunun ve nem kaybının önüne geçtiğini, hastalık yapıcı mikropları kontrol altında tuttuğunu ortaya koymuşlardır.

Dang ve arkadaşları 2001'de, tarçın, biberiye ve zencefilin antioksidan aktivitelerini tespit etmek maksadıyla domuz iç yağlarına sırası ile % 1.0, % 1.5 ve % 0.5 oranında uçucu yağlarını ve sonrasında % 0.1 düzeyinde ekstraktlarını eklemişlerdir. İç yağlarında biberiye eklenenlerde, ekstraktların esansiyel yağlara oranla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiklerini ve peroksit değerlerinin değişimini araştırdıklarında ise peroksit değerinin daha düşük seviyede olduklarını tespit etmişlerdir.

Başka bir çalışmada Mc Carthy ve arkadaşları 2001'de, soya proteini, aloevera, biberiye, peynir altı suyu proteini, ginseng, çay kateşinleri, hardal, buyotu ve adaçayının taze kıyılmış domuz etlerine eklenerek -20ºC'deki depolama prosesli antioksidan aktivitelerini belirlediği çalışmada en yüksek aktivite gösteren antioksidanların biberiye ve çay kateşinleri olduğunu bulmuşlardır. Ginseng ve adaçayı, ürünün pH 'sında ilk başlarda azalmaya sebep olmuş ve sonrasında da artmaya sebep olmuştur. Buyotu ise ilk başta pH 'da artmaya, 3. günden sonra da azalmaya sebebiyet vermiştir.

Djenane ve arkadaşları 2002'de yaptıkları bir araştırmada, bir takım antioksidan çözeltilerine daldırılarak modifiye atmosferde ambalajlanmış ve 1ºC'de depolanmış taze sığır bifteklerinde C vitamini ile taurin ve biberiye birleşimleri numunelerinin raf ömrünü 10 gün arttırdığını ve biberiyenin bozulmayı (oksidasyonu) erteleyen en etkin antioksidan olduğunu saptamışlardır.

Oussalah ve arkadaşları 2004'te, kekik, adaçayı, yenibahar ve biberiyeden eksrakte ettikleri baharat ekstraktlarının BHT ve BHA'dan daha fazla antioksidan aktivite gösterdiklerini ve bu ekstraktların antioksidan aktivitelerinin uçucu yağ fraksiyonlarındaki fenolik bileşiklerle bağlantılı olduğunu saptamışlardır. % 1.0 oranında yenibahar, oregano veya yenibahar-oregano uçucu yağları karışımı içeren süt proteini bazlı yenilebilir filmlerin, 4ºC'de 7 gün depolama prosesinde en yüksek antioksidan aktiviteyi yenibahar eklenmiş filmlerin gösterdiğini saptamışlardır. Raf ömrünün arttırılması ve patojen bakteri gelişiminin kontrolü maksadıyla sığır eti dilimlerine tatbik edilmesi sonucunda da oregano bazlı filmlerin sığır eti numunelerinde, lipit oksidasyonunu sabitleyici etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Fernández-López ve arkadaşları 2005'te, yaptıkları bir çalışmada köfte numunelerine limon, portakal ve biberiye ekstraktları ilave etmiş ve 12 gün depolama

süresi boyunca kontrol grupları ile karşılaştırıldığında diğer grupların TBA değerlerinin bariz bir biçimde daha düşük düzeyde olduğunu bulmuşlardır. Biberiye ekstraktıyla üretilen numunelerdeki TBA değeri seviyeleri ise depolama süresi boyunca en düşük değerleri göstermiştir.

Pol ve arkadaşları 2002'deki bir çalışmada soya proteini izolatı / mısır zeini formülasyonlu lamine filmlerin mekanik karakterleri ve geçirgenliklerini incelemişlerdir. Mısır zeininin hidrofobik özelliğinin lamine filmin su buharı geçirgenliğini arttırdığını ve oksijen bariyerleme aktivitesini değiştirmediğini tespit etmişlerdir.

Ou ve arkadaşları 2005'te yaptıkları araştırmada, soya protein bazlı yenilebilir filmin üretiminde felurik asidin değişen derişimlerini denemişler ve en uygun felurik asit derişiminin filmin uzama ve gerilme aktivitelerini geliştirdiğini ve bunun haricinde taze domuz yağlarının muhafazasında filmin antioksidan aktivitesine pozitif etki ettiğini saptamışlardır.

Kodal ve arkadaşları 2008'de izole antioksidan özellikli ve soya proteini bazlı yenilebilir film üreterek sığır kıyması üzerine uygulamışlardır. Antioksidan etki olarak kekik uçucu yağı içeren mercanköşk (OR), bahçe kekiği (TH) ve OR:TH (1:1) (ORT) şeklinde birebir oranda karıştırılarak film çözeltisine eklemişlerdir. 4^{o}C'de 12 gün muhafaza edilerek depolama başlangıcından itibaren 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde numuneler alınıp film uygulanan gruplarda filmler kıyma materyali üzerinden kaldırıldıktan sonra örnek alınarak, serbest yağ asitliği, TBA değeri, peroksit sayısı, toplam sülfidril miktarını, enstrümental renk, pH değerini ve metmiyoglobin oranını belirlemişlerdir. Araştırmada tercih edilen mercanköşk ve bahçe kekiği uçucu yağlarının yüksek antioksidatif aktiviteye sahip olduğunu, ölçüm sonucunda IC_{50} değerleri kıyaslandığında mercanköşk uçucu yağının (IC_{50} = 6,64), bahçe kekiği uçucu yağına (IC_{50} = 7,62) nazaran daha yüksek antioksitatif aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. İzole soya proteini bazlı yenilebilir film uygulaması, kıyma örneklerinin pH' sında yükselmeye neden olmuştur. Başlarda 5,87 olarak ölçülen pH değeri yenilebilir film uygulanan bütün numunelerde, 1. gün önemli bir artış göstererek, ISP, OR, TH ve ORT gruplarında sırasıyla 5,99, 6,09, 6,03 ve 5,99 değerlerine yükselmiştir ($p<0,05$). Depolama süresi boyunca bütün grupların pH değerleri önemli miktarda azalma kaydetmiş, fakat Kontrol (K) grubunun pH değerindeki azalışını diğer gruplara kıyasla daha da fazla bulmuşlardır ($p<0,05$). TBA değerlerinin tüm periyotlar için K ve ISP gruplarında OR, TH ve ORT

gruplarına kıyasla daha yüksek çıktığını tespit etmişlerdir, bununla beraber, numunelerin TBA değerleri arasında genel itibariyle önemli bir fark görmemişlerdir ($p>0,05$). Peroksit miktarında genel olarak bir azalış gözlemlemişlerdir, fakat en fazla azalma ORT grubunda bulunmuştur. Numunelerin SYA değerleri depolama süresince artış göstermiştir. Depolama süresi sonunda en yüksek SYA değeri % 2,02 oleik asit değeri ile K numunesinde, en düşük değer ise % 1,62 oleik asit değeri ile ORT numunesinde bulunmuştur. OR, TH ve ORT gruplarından üretilen yağlarda indüksiyon periyodu K ve ISP gruplarından önemli oranda yüksek seviyede tespit edilmiştir. Genel itibariyle yenilebilir film ve kekik uçucu yağlarının -SH grupları üzerine önemli bir etki göstermediği saptanmıştır ($p>0,05$).

Öztürk 2009'da yaptığı çalışmada likopen içeren filmlerin sığır kıymasının oksidatif stabilitesine etkisini incelemiştir. Bu çalışmada, antioksidan özellikli likopen eklenerek elde edilmiş soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin ve direkt ürüne likopen eklenmesi ile soğuk depolama (4^oC) süresince taze sığır kıymasının oksidatif stabilitesi, fiziksel, kimyasal ve duyusal bazı özellikleri üzerine etkileri ölçülmüştür. Dana etinden hazırlanan kıyma (ortalama % 24 yağlı) hamburger köftesi şeklinde hazırlandıktan sonra % 0, % 1, % 2 ve % 3 likopen içeren izole soya proteini filmleri (sırasıyla ISP, F-1, F-2 ve F-3) köftenin alt ve üst yüzeyine uygulanmıştır. Likopenin antioksidan aktivitesinin ölçülebilmesi için likopen 2500 ppm, 5000 ppm ve 7500 ppm derişimlerinde (sırasıyla L-2500, L-5000 ve L-7500) kıymaya eklenmiştir. Ayrıca kontrol (K) grubu film uygulanmadan ayrılmış ve tüm numuneler streç filmle kaplanarak 4^oC'de 12 gün boyunca depolanmıştır. Muameleyi takip eden 1. günde numunelerin kimyasal bileşimini saptanmış, depolamanın 0., 1., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerinde ise serbest yağ asitliği (SYA), tiyobarbiturik asit (TBA) değeri, pH, peroksit değeri, metmiyoglobin oranı, toplam sülfidril miktarı (-SH), enstrümental CIE* açıklık-koyuluk (L*), kırmızılık (a*), sarılık (b*), rengin doygunluğu (C*) ve renk açısı (H*) değerleri ölçülmüştür.

Kalkan ve ark 2016'da yaptıkları araştırmada, farklı miktarlarda nisin içeren (2500, 5000, 7500 ve 10.000 IU cm^{-2} film) yenilebilir peynir altı suyu protein izolatı (PASP) filmler üretilerek, in vitro koşullarda, Listeria innouca' ya karşı antimikrobiyel etkilerinin belirlenmesi ve hazırlanan antimikrobiyel filmlerin fiziki ve mekanik özelliklerinin tespit edilmesini amaçlamışlardır. Filmlerin, ambalaj malzemesi olarak kullanım potansiyelini belirlemek maksadıyla, ağırlık, kalınlık, kuru madde yoğunluğu, su buharı geçirgenliği,

nem içeriği, gözenek yapıları, uzama katsayısı (E), çekme dayanımı (TS), renk özellikleri ve young modülü (YM) gibi karakteristik özelliklerini incelemişlerdir. Elde edilen filmlerin yüksek % nem içeriğinde, olabildiğince ince, homojen bir film yüzeyine, yüksek uzama katsayısına ve kuvvetli çekme dayanımına sahip olan şeffaf filmler olduğunu belirlemişlerdir.

Cardoso ve ark. 2017'de yaptıkları bir araştırmada balık filetosu depolamasında uygulama için poli (butilen adipat-ko-tereftalat) (PBAT) ve kekik (Origanum vulgare) uçucu yağ (OEO) içeren biyolojik olarak parçalanabilir antimikrobiyal filmler geliştirmek üzere yola çıkmışlardır. Filmler sıcak eriyik ekstrüzyonla üretildi ve morfolojik, mekanik, fiziksel, su bariyeri ve yapısal özellikler açısından karakterize edilmiş, biyoaktif, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri de analiz edilmiştir. OEO birleşmesi filmlerin termal özelliklerini etkilememiş, ancak mekanik özellikler gerilme mukavemeti, kopmada uzama ve elastik modülü bozulmuştur. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, OEO ilavesinden sonra heterojen, pürüzlü yüzeyler ve kesitleri göstermiştir. Fourier-transform kızılötesi spektroskopi, ekstrüde edilmiş filmlerdeki OEO biyoaktif bileşiklerin varlığını doğrulamış, mikrobiyolojik tahliller, filmlerin toplam koliformları, Staphylococcus aureus'u ve psikrotrofik mikroorganizmaları azaltmadaki etkinliğini göstermiştir. Üretilen filmlerin, balık filetolarında mikrobiyal büyümeyi kontrol etmek için aktif bir paketleme sistemi olarak verimli olduğu bulunmuş, ayrıca mekanik, termal ve su bariyer özelliklerinin gıda paketleme uygulamaları için uygun olduğu gösterilmiştir.

Dong ve ark. 2018'de, tarçın esansiyel yağı (CEO) ve iç katmanda biberiye esansiyel yağı (REO) ile birleştirilen düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) bazlı yeni bir aktif ambalaj filmi, karidesleri korumak için tasarlamış ve geliştirmişlerdir. Altı tür aktif ambalaj filmini [REO (% 1 w / w), REO (% 2 w / w), CEO (% 1 w / w), CEO (2% w / w), REO (1% w / w)) þ CEO (% 1 w / w) ve kontrol (EO'suz film)] üflemeli film ekstrüzyon yöntemi ile üretmişler, EO'ların film fiziksel işlevselliği üzerindeki etkisini gerekçelendirmek için çekme mukavemeti (TS), su buharı iletim hızı (WVTR), oksijen iletim hızı (OTR), termogravimetrik analiz (TGA) ve filmlerin mikro yapısını incelemişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizinin sonuçları, aktif filmlerin yüzeyinin REO veya CEO'nun LDPE matrisine dahil edilmesiyle nispeten daha pürüzlü hale geldiğini ortaya koymuş, ayrıca farklı miktarda EO içeren filmlerin TS'de hafif bir düşüş olduğu kanıtlamış, bariyer özellikleri de iyileştirilmiştir. Ek olarak, EO içeren aktif

filmlerde paketlenen karides, 10 gün boyunca 4 C'de saklama sırasında kontrol filmlerinde paketlenen örneklere kıyasla daha düşük mikrobiyal sayımları, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) içerikleri ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) değerlerini ortaya çıkarmıştır. Sonuçlar, karıştırılmış filmin (REO + CEO) ambalajlı karideslerin tazeliğini korumada ve raf ömrünü 4 güne kadar uzatmada daha etkili olduğunu göstermiş, üretilen bu yeni aktif ambalaj filminin, su ürünlerinin kalitesini ve depolama stabilitesini artırmak için kullanılma potansiyeline sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

Albertos ve ark. 2019'da, aktif yenilebilir filmlerin formülasyonu için deniz yosunları (Himanthalia elongata ve Palmaria palmata) ve deniz yosunu ekstreleri kullanılmışlardır. H. elongata ile formüle edilen filmler, P. palmate ile formüle edilen filmlerden daha yüksek toplam fenol ve antioksidan kapasitesi göstermiş ve kullanılan türe bakılmaksızın deniz yosunu ekstraktları ile formüle edilenlerden daha anlamlı ($p \leq 0.05$) bulunmuştur. Balık burgerlerinde deniz yosunlarıyla zenginleştirilmiş yenilebilir filmlerin kullanımı, özellikle H. elongata ile formüle edilen yenilebilir filmler durumunda kontrole kıyasla, depolamadaki pH ve su aktivitesi değişikliklerini önemli ölçüde kontrol etmiş ve mikrobiyal büyümeyi azaltmıştır. Ek olarak, alabalık burgerlerinin depolama süresince lipid oksidasyonunda önemli (p p 0,05) azalma ve antioksidan kapasitesinde artış gözlenmiştir. Yenilebilir filmlere dahil edilen deniz yosunlarının kullanımı, balık burgerlerinin, hızlı oksidatif süreçlere eğilimli ürünlerin ve bozulmaya yatkın ürünlerin raf ömrünü artırmak için uygun bir strateji gibi görünmektedir.

Ehsani ve ark. 2020'de yaptıkları bir çalışmada, laktoperoksidaz sistemi (LPS) veya adaçayı esansiyel yağı (SEO) içeren aktif, biyolojik olarak parçalanabilir filmler kullanarak 20 günlük depolama süresince buzdolabında (4±2°C) muhafaza edilen sazan etinin balık burgerinin bozulmasını kontrol etmeyi amaçlamışlardır. Balık burgerleri, kıyılmış sazan etinden hazırlanmış ve SEO veya LPS içeren kitosan (CH), aljinat (AL) ve jelatin (ZH) filmlere sarılmıştır. Farklı olan diğer gruplar ise daha düşük bir sıcaklık aralığında tutulmuş ve Toplam Canlı Sayım (TVC), psikrotrofik bakteri sayımı (PTC), Pseudomonas spp (PSC) ve Shewanella spp. (ShC)'nin belirlenmesi için saklama süresinin 0, 5, 10, 15 ve 20. günlerinde örnekler alınmış. Ayrıca soğutma sırasında grupların TBARS, pH ve duyusal özellikleri kontrol edilmiştir. LPS içeren kitosan filmleri, diğer tedavilere kıyasla soğutulmuş durumda 20 günlük depolama sırasında

TVC, PTC, Pseudomonas spp ve Shewanella spp ve TBARS artışını önemli ölçüde baskılayan en etkili paketti ($P < 0.05$). Ayrıca, LPS ve SEO içeren aljinat ve kitosan filmler daha yüksek nihai pH'a sahip olduğunu belirlemişler ($P < 0.05$). Bu çalışmanın sonuçlarına göre LPS içeren kitosan filmin balık burgerlerinin raf ömrünü diğer işlemlere ve kontrole kıyasla 5 gün uzattığını göstermiş olduğunu saptamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Tez çalışması yapılırken deneylerde aşağıdaki kimyasal maddeler kullanılmıştır. Analiz aşamasında, kimyasal maddelere herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmamıştır. Tüm kimyasallar Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Kullanılan tüm kimyasallar analitik reaktif dereceli ve en az % 99,5 saflıktadır. % 90 protein içerikli izole soya proteini ve ticari esansiyel yağlar (Thymus sp., Mentha Piperita, Foeniculum Vulgare, Laurus Nobilis, Fructus Cumini) Mecitefendi Sağlık Ürünleri ve Kimyasal Maddeler Şirketi (İzmir, Türkiye) tarafından sağlanmıştır. Kimyasal maddelerin adı, kimyasal formülü, temin edildikleri firma ve ürünlerin katalog numaraları aşağıda verilmiştir.

Kimyasal madde adı	**Firma adı ve Katalog numarası**
Gallik asit ($(HO)_3C_6H_2CO_2H$)	MERCK 842649
Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)	MERCK 106392
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$)	MERCK 300267
Sodyum Hidroksit (NaOH)	MERCK 106462
Etanol (C_2H_5OH)	MERCK 100983
Dietil eter ($C_4H_{10}O$)	MERCK 100921
Metanol (CH_3OH)	MERCK 106009
Nişasta (Starch)	MERCK 101252
Sodyum Tiyosülfat ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)	MERCK 106009
Trikloroasetik asit (CCl_3COOH)	MERCK 100807
2-Tiyobarbitürik asit ($C_4H_4N_2O_2S$)	MERCK 108180
Tris Hidroklorik Asit (Tris-HCl)	MERCK 648317
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) ($C_{12}H_{25}NaO_4S$)	MERCK 817034
Üre (CH_4N_2O)	MERCK 108487
5,5′-dithiobis [2-nitrobenzoik asit] (DTNB)	MERCK 322123

Gliserol (1,2,3-Propanetriol)	MERCK 104057
Fenolftalein İndikatörü ($C_{20}H_{14}O_4$)	MERCK 107233
Di potasyum Hidrojen Fosfat Trihidrat ($HK_2O_4P.3H_2O$)	MERCK 105099
İzole Soya Proteini (ISP)	MECİTEFENDİ

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Analizlerde kullanılan cihazların adı ve teknik özellikleri aşağıda verilmiştir.

Cihazın adı	**Özellikleri (Marka/Model)**
Ultra saf su cihazı	New Human Power I model
pH metre	İnoLab wtw serisi
Analitik terazi	Sartorius BL210S
Santrifüj cihazı	Hettich EBA 8 S
Rotary evaporatör	Buchi R serisi
Isıtıcı	IKA RH basic 2
Blender	Fakir Functionall 2804 model
Vortex	IKA 1 model
UV/Visible Spektrofotometre	Hitachi U-1900
SEM	Quanta 450 FEG
TMA	Mettler Toledo TMA/SDTA841

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

a) **Gallik asitin % 70'lik metanol içerisindeki çözeltisi:** 50 mg gallik asit 50 ml % 70'lik metanol içerisinde çözülmüştür.
b) **% 20'lik Na_2CO_3 çözeltisi:** 20 g Na_2CO_3 katısı tartılıp 100 ml'ye tamamlandıktan sonra karıştırılarak hazırlanmıştır.
c) **6.10^{-5} M'lık DPPH çözeltisi:** 0.0064 gr DPPH tartılıp metanol ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

d) **0.1 N NaOH çözeltisi:** 4 gram NaOH tartılıp ultra saf su ile 1 litreye tamamlan mıştır.

e) **Etil alkol: dietil eter (1:1) karışımı:** 50 ml Etil Alkol ile 50 ml Dietil eter birbirine karıştırıl mıştır.

f) **% 60'lik metanol çözeltisi:** 60 ml metanol ultra saf su ile 100 ml'ye tamamlan mıştır.

g) **% 70'lik metanol çözeltisi:** 350 ml metanol ultra saf su ile 500 ml'ye tamamlan mıştır.

h) **% 5'lik izole soya proteini (m/v):** 25 gram izole soya proteini tartıldı ve 17.5 gram gliserol bir miktar ultra saf suya yavaş yavaş eklenerek karıştırılmıştır. Bir yandan da yavaş yavaş ultra saf su ilave edilerek 500 ml'ye tamamlandı. pH 0.1 N NaOH ile 10.0'a ayarlanmıştır.

i) **% 0.5'lik nişasta çözeltisi:** 0.5 gram nişasta tartılarak ultra saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

j) **0.002 N $Na_2S_2O_3.5H_2O$:** 0.496 gram sodyum tiyosülfat ultra saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

k) **% 7.5'luk trikloroasetik asit çözeltisi:** 7.5 ml trikloroasetik asit ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

l) **0.02 M 2-Tiyobarbitürik asit:** 0.2283 gram 2-tiyobarbitürik asit tartıldı ve ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

m) **0.2 M Tris-HCl:** 3.152 gram Tris-HCl tartıldı ve ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

n) **% 2'lik SDS:** 2 gram SDS tartılmış ve ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

o) **0,1 M K_2HPO_4 (pH 7,4):** 5,7058 gram K_2HPO_4 tartılmış, 200 ml ultra saf su ile karıştırılmıştır ve HCl ile PH'sı 7.4'e ayarlanmıştır. En son yine ultra saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

p) **8M üre:** 48.048 gram üre tartıldı ve ultra saf su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

q) **10 mM 5,5′-dithiobis [2-nitrobenzoik asit]:** 38,65 mg DTNB alınarak 10 ml 0,1 M KH_2PO_4 (pH=7,8) tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.

3.2.2. Örnek Numunelerin Alınması

Karabalık örnekleri, Hatay'daki üç farklı yerel balık pazarından satın alınmıştır.

3.2.3. Örneklerin Hazırlanması

Balık numuneleri analiz öncesinde taze hâli ile satın alınıp deneysel aşamaya geçilmiştir. Balıkların organları, kafaları, pulları ve kılçıkları ayıklanmış ve sadece et kısmı arta kalmıştır. Daha sonra, kalan et kısımları ince ince kıyılmıştır.

3.2.4. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini (Folin-Ciocalteau Metodu)

Toplam fenolik madde miktarı analizinde Folin-Ciocaltaeu metodu uygulanmıştır. Her bir uçucu yağ örneği (1 gram) ve standart olarak kullanılan gallik asitin % 60'lık metanol (5 ml) içerisindeki çözeltisi hazırlandıktan sonra Whatman No:1 ile süzülmüştür. Uçucu yağ örneklerinden 40 µl alınarak üzerine 2400 µl saf su, 200 µl seyreltilmemiş Folin reaktifi ve 600 µl % 20'lik Na_2CO_3 ilave edilip, tüpler el yordamıyla kuvvetlice karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saatlik bekletmenin ardından reaksiyon karışımının absorbansı metanol körüne karşı 765 nm'de okunmuştur. Uçucu yağ örneklerine uygulanan tüm işlemler sırasıyla standart eğri çizmek üzere gallik aside uygulanarak 765 nm'de metanol körüne karşı absorbanslar okunup ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği gallik asit (0 - 1 mg/ml) standart eğrisi çizilerek hesaplanmış ve sonuçlar 1 kg uçucu yağdaki mg gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanarak yorumlanmıştır.

3.2.5. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi" Miktarı Belirlenmesi

Uçucu yağ örneklerinin anti radikal aktiviteleri Brand Williams, Culivier ve Berset (1995) metoduna bir takım değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. DPPH'nin standart eğrisi çizilmek üzere farklı konsantrasyonlarda (6.10^{-5} - $3{,}75.10^{-6}$ M), % 70'lik metanol çözeltileri hazırlanarak absorbanslar hiç bekletilmeden, doğrudan okunmuştur. Her bir uçucu yağ örneğinden 1 g hassas tartım alınıp 5 ml metanolde çözülmüş ve sonrasında

whatman No:1 ile süzülmüştür. Sentetik antioksidanlar ve yağ çözeltileri uygun seyreltmeler yapılarak 200 - 12,5 mg ml^{-1} derişimleri arasında hazırlanmıştır. Her bir numuneden 0,1 ml alınıp 1,9 ml 6.10^{-5} M'lık DPPH çözeltisi ile karıştırılmış, karışımlar kabaca çalkalanıp karanlıkta ve oda sıcaklığında 90 dk süre ile bekletildikten sonra her bir karışımın absorbansı 517 nm'de spektrofotometrede metanol körüne karşı okunmuştur. Her bir uçucu yağ örneği için % inhibisyon değeri aşağıdaki formülasyona göre hesaplanmıştır.

3.2.6. Yenilebilir Filmlerin Hazırlanması

İzole edilmiş soya proteini bazlı yenilebilir filmler, Emiroğlu ve arkadaşları (2010) tarafından tarif edilen yöntemler kullanılarak hazırlanmıştır. Film çözeltisi, % 5 izole soya proteini (ağırlık/hacim) karıştırılırken damıtılmış su içinde yavaşça çözündürülerek hazırlanmıştır. Plastikleştirici olarak gliserol (% 3.5 m/v) ilave edilmiş ve pH, 0.1 N NaOH ile 10.0'a ayarlanmıştır. Film çözeltileri, 30 dakika boyunca bir su banyosunda 90°C'ye ısıtılmış, ardından 40°C'ye soğutulmuş ve sonra bir vakum pompası ile dört tabaka peynir bezinden süzülmüştür. Kontrol numunesi olarak yenilebilir filmlerin bir kısmına uçucu yağ eklenmemiştir. Uçucu yağlar, % 5 (v/v) yenilebilir film çözeltisinin konsantrasyonunda film çözeltisine dâhil edilmiştir. Film çözeltisi (15 ± 0.1 g) steril plastik petri kaplarına (9 cm çap) dökülmüş, ardından 30°C'de 72 saat etüvde kurutulmuştur. Filmler ayrılmış ve daha sonra kullanılmak üzere bir vakumlu kurutucuda saklanmıştır. Film kalınlıkları bir dijital mikrometre (Loyka, Türkiye) aracılığı ile ölçülmüştür. Filmlerin rastgele altı yerinde ölçümler alınmış ve ortalama kalınlık hesaplanmıştır.

3.2.7. Yenilebilir Filmlerin Kıyma Üzerine Uygulanması

Yapılan literatür taramalarının sonucunda, balık kıyması üzerine uygulanacak yenilebilir filmler için kekik, nane, defne, kimyon ve rezene konsantrasyonun % 5 olmasına karar verilmiştir. Elde edilen yenilebilir filmler balık kıyması üzerine uygulanana kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde saklanmıştır. Hazırlanmış olan balık kıymasından 50 ± 0,5 g tartılarak alınmış ve el yordamıyla hamburger köftesi şekli verilmiştir. Kontrol (K) grubuna uçucu yağ eklenmemiş film uygulanmıştır. Hamburger

köftesi şekli verilen balık kıymaları kekik, nane, defne, kimyon ve rezene eklenmiş filmlere sarıldıktan sonra plastik torbalarda vakum altında paketlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan balık kıyması numuneleri 4ºC'de ortalama 15 gün saklanmıştır. İlk günden itibaren 0., 1., 3., 6., 8., 10., 12. 14. ve 16. günlerde numuneler alınmıştır. Daha sonra balık kıymalarından numune alınarak, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, TBA ve toplam sülfidril değerleri belirlenmiştir.

3.2.8. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Nem Miktarının Belirlenmesi

Karabalığın ilk hâliyle nem miktarını belirlemek için, 105°C'de kurutmanın ardından darası önceden alınmış kuru madde kaplarına yaklaşık 15 g karabalık numunesi tartılmış ve 105°C'deki etüvde sabit ağırlığa gelene kadar bekletilmiş ve kuru madde kaplarının tartım farkından numunedeki % nem miktarları aritmetik ortalamaları hesaplanarak belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.2.9. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Yağ Miktarının Belirlenmesi

Karabalığın ilk hâliyle toplam yağ miktarı, sıcak ekstraksiyon yöntemi ile Soxhelet düzeneği kullanılmış ve aritmetik ortalamaları alınarak belirlenmiştir (Anonymous 1990).

$$\text{Kuru madde üzerinden kütlece \% yağ miktarı} = 100 \text{ x } \frac{(M_2 - M_1)}{M_0} \qquad (3.1)$$

M_0: Nemi Uzaklaştırılmış deney numunesinin kütlesi

M_1: Ekstraksiyon balonunun darası + kaynama taşları, g

M_2: Ekstraksiyondan sonra yağ, balon ve kaynama taşlarının birlikte kütlesi, g

3.2.10. Ölçümlerde Kullanılan Kara Balık Kıymasında Kül Miktarının Belirlenmesi

Karabalığın ilk hâliyle ham kül miktarını belirlemek için, sabit ağırlığa getirilen porselen krozelere yaklaşık 3'er g örnek tartılarak kül fırınına konulmuştur. Sıcaklık kademeli olarak arttırılarak 550 – 570°C'ye getirilmiştir ve krozedeki karabalık numuneleri gri-beyaz renk alana kadar yakma işlemine tâbi tutulmuştur. Krozelerin tartım farkından numunedeki % kül miktarları aritmetik ortalamaları hesaplanarak belirlenmiştir (Anonymous 1990).

3.2.11. Yenilebilir Filmlerle Sarılmış Karabalıklardan Yağ Ekstraksiyonu

Yağlar, numunelerdeki yağı kullanmak maksadıyla Bligh ve Dyer (1959) tarafından tarif edilen metot kullanılarak ayrılmıştır. Her 50 g numune, 50 dakika boyunca 50 ml kloroform ve 100 ml metanol ile karıştırılmış ve daha sonra karışıma, 50 ml kloroform ve 50 ml su ilave edilmiştir. Daha sonra 30 saniye çalkalanmıştır. Rotary Evaporatör cihazı sistemine bağlanarak çözücü kısımdan ayrılıp sonraki analizlerde ölçülmek üzere kullanılmıştır.

3.2.12. Serbest Yağ Asidi Miktarının Belirlenmesi

Çıkarılan yağlardan 5 gram alınmış ve etil alkol: dietil eter (1:1) ile karıştırılmıştır. Çözelti fenolftalein indikatörü eşliğinde pembe bir renge kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Sonuçlar % oleik asit cinsinden hesaplanmıştır. (Kodal, 2008).

$$Serbest\ Yağ\ Asiti\ Miktarı = \frac{V.Mw.N}{10.m} \qquad (3.2)$$

V, numunenin titrasyonu sırasında tüketilen NaOH hacmidir (ml); Mw, oleik asidin moleküler ağırlığıdır; N, NaOH' in normalitesidir; m, alınan numune miktarıdır (g).

3.2.13. Peroksit Miktarının Belirlenmesi

Bligh and Dyer (1959)'in uyguladıkları kloroform/metanol ekstraksiyon yöntemiyle yağ ekstraksiyonu elde edilmiştir. Elde edilen bu yağdan ağzı kapaklı erlene 0,5-1,0 g örnek tartılmış ve 10 mL kloroform eklenerek yağ çözülmüştür. 15 mL glasiyel asetik asit ve 1 mL doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi eklenerek 1 dk çalkalanmıştır.

Erlen 5 dk karanlıkta bekletildikten sonra 75 mL destile su ve 1 mL %1'lik nişasta çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile renksiz hale gelinceye kadar titre edilmiştir. Sonuç miliekivalan O2/kg yağ olarak ifade edilmiştir (Anonymous 1990).

$$\text{Peroksit değeri } \left(\text{miliekivalan } \frac{\text{O2}}{\text{kg}} \text{yağ}\right) = \frac{1000.V.N}{P} \quad (3.3)$$

V: Harcanan sodyum tiyosülfat (mL)

N: Harcanan sodyum tiyosülfatın normalitesi (0,01 N)

P: Alınan örnek miktarı (g)

3.2.14. Tiyobarbitürik Asit Değerinin Belirlenmesi

Tiyobarbitürik asit değeri, Vyncke (1970) tarafından tarif edilen yönteme göre belirlenmiştir. TBA, mg malonaldehit / kg örnek olarak ifade edilmiştir. 20 g balık numunesi, bir dakika boyunca 100 ml % 7.5'luk trikloroasetik asit ile karıştırılmıştır. Süspansiyon daha sonra süzülmüş ve 5 ml tiyobarbitürik asit reaktifine (ultra saf su içindeki 0.02 M 2-tiyobarbitürik asit) 5 ml süzüntü ilave edilmiştir. Karışım 40 dakika kaynar suya batırılıp bekletilmiş, daha sonra su ile soğutulmuş ve absorbans 538 nm'de ölçülmüştür.

3.2.15. Toplam Sülfidril İçeriğinin Belirlenmesi (-SH)

1 g et örneği 100 mL 0,1 M K_2HPO_4 (pH 7,4) tampon çözeltisiyle homojenize edilmiştir. Bu örnekten 0,5 mL alınarak üzerine 2 mL üre-SDS çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. Bu çözelti üzerine 0,5 mL 0,1 M K_2HPO_4 (pH 7,4) tampon çözeltisi eklenerek referans çözelti elde edilmiştir. Örnek absorbansı hazırlamak amacıyla yine örnekten 0,5 mL alınmış ve üzerine 2 mL üre-SDS çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. Çözünen bu karışıma içinde 10 mM 5,5′ ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) bulunan 0,5 mL 0,1 M K_2HPO_4 (pH 7,4) tampon çözeltisi eklenmiştir. Şahit okuma için ise 0,5 mL saf su üzerine 2 mL üre-SDS çözeltisi ve içinde 10 mM DTNB bulunan 0,5 mL 0,1 M K_2HPO_4 (pH 7,4) tampon çözeltisi eklenmiştir. Tüm örnekler 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve spektrofotometrede 412 nm'de kör ve referansa karşı örnek

okumaları yapılmıştır. Sülfidril miktarının hesaplanmasında ekstinksiyon katsayısı (Ec) 11400 M^{-1} cm^{-1} kullanılmıştır (Liu *et al.* 2000). Sonuçlar µmol sülfidril/g protein olarak hesaplanmıştır.

3.2.16. Yenilebilir Filmlerin Uzama Katsayılarının Belirlenmesi

Yenilebilir filmlerin uzama katsayılarının ölçümlerini Mettler Toledo TMA/SDTA841 (Şekil 3.1) cihazında gerçekleştirilmiştir. Cihaz -150ºC ile 600ºC sıcaklıkları arasında çalıştırılmıştır. Soğutma ajanı olarak sıvı azot ve korozyon koruyucusu içeren su kullanılmıştır.



Şekil 3.1. TMA Cihazı



Şekil 3.2. TMA Cihazı

Örnekler ilk olarak 0 ºC'de 10 dakika bekletilmiş ve 0,020 N kuvvet uygulanmıştır. Daha sonra 0ºC'den 100ºC'ye 10ºC/dk olacak şeklinde sıcaklık artırılmıştır. Sıcaklık artırılırken örneğe 0,100 N kuvvet uygulanmıştır.

3.2.17. Yenilebilir Filmlerin Nem Miktarının Belirlenmesi

Yenilebilir filmler daha önceden sıcaklığı 105ºC'ye getirilmiş etüvde 24 saat bekletildikten sonra desikatörde soğutularak alınan ölçümler sonrası sonuçlar yüzde (%) olarak belirlenmiştir.

3.2.18. Yenilebilir Filmlerin Kuru Madde Yoğunluklarının Belirlenmesi

Film yoğunluklarının hesaplanmasında, doğrudan film ağırlıkları ve boyutlarından yararlanılmıştır. Hesaplamada, aşağıda gösterilen formül kullanılmıştır (Ramos ve ark., 2012).

$$\rho_s = m.(A._{\gamma})^{-1} \qquad (3.4)$$

ρ_s: Kuru madde yoğunluğu ($g.cm^{-3}$)
m: Kuru kütle ağırlığı (g)
A: Film yüzey alanı (cm^2)
γ: Film kalınlığı (cm)

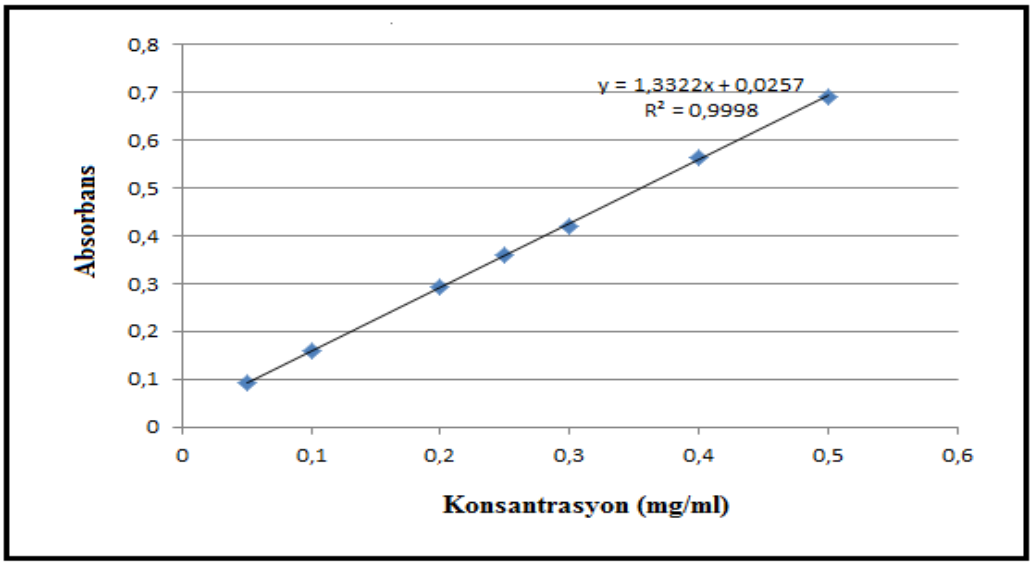
3.2.19. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) Görüntülenmesi İçin Hazırlığının Yapılması

Hazırlanan materyaller 37ºC'de etüvde 24 saat bekletilip, nemden arındırılmıştır. Örneklerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Hitit Üniversitesinde bulunan FEI / Quanta 450 FEG Marka Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı aracılığıyla alınmıştır. Örneklerin 2 kV voltajda değişik boyuttaki büyütmelerle görüntüleri elde edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

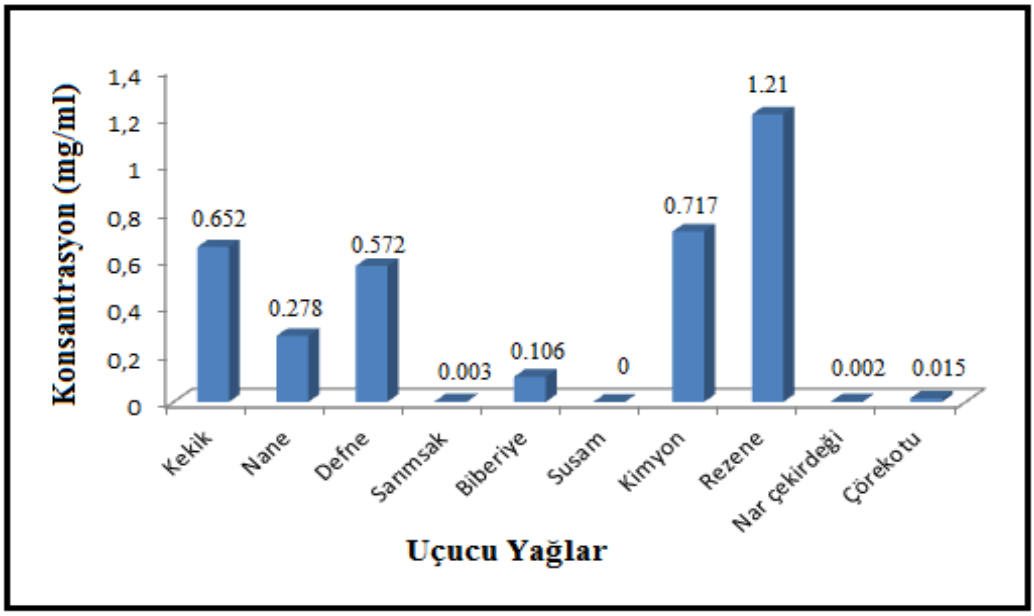
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı (Folin-Ciocalteau Metodu)

Öncelikle gallik asidin 7 farklı konsantrasyonuna (0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4 0.5 mg ml^{-1}) karşı absorbanslar ölçülerek standart çalışma grafiği elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon doğrusu Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Standart gallik asit kalibrasyon grafiği

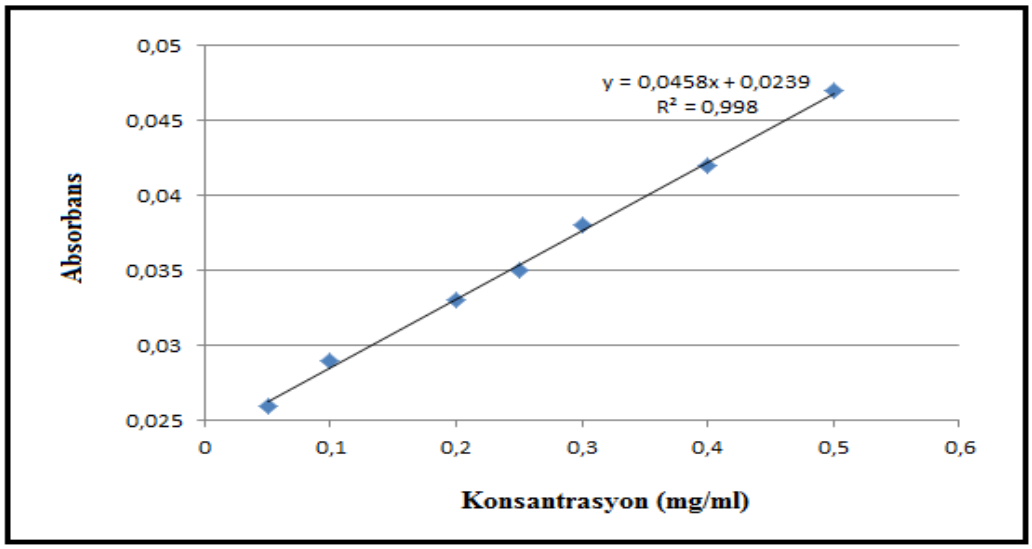
Hatay bölgesinde yemeklerde sıkça kullanılan 10 adet bitkiye ait uçucu yağ örneklerinin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteau Metodu kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi, incelenen uçucu yağlar içerisinde fenolik madde miktarı en yüksek olan örnekler sırasıyla rezene, kimyon, kekik, defne ve nane olarak saptanmıştır.



Şekil 4.2. Uçucu yağların toplam fenolik madde miktarı değerleri

4.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları

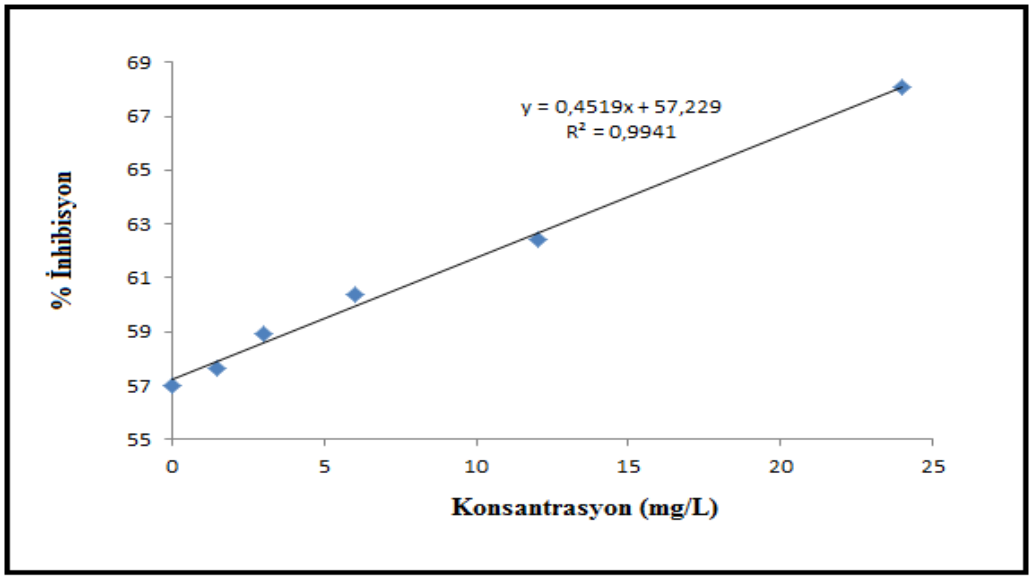
Öncelikle DPPH serbest radikal çözeltisinin standart eğrisi oluşturulmuş ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



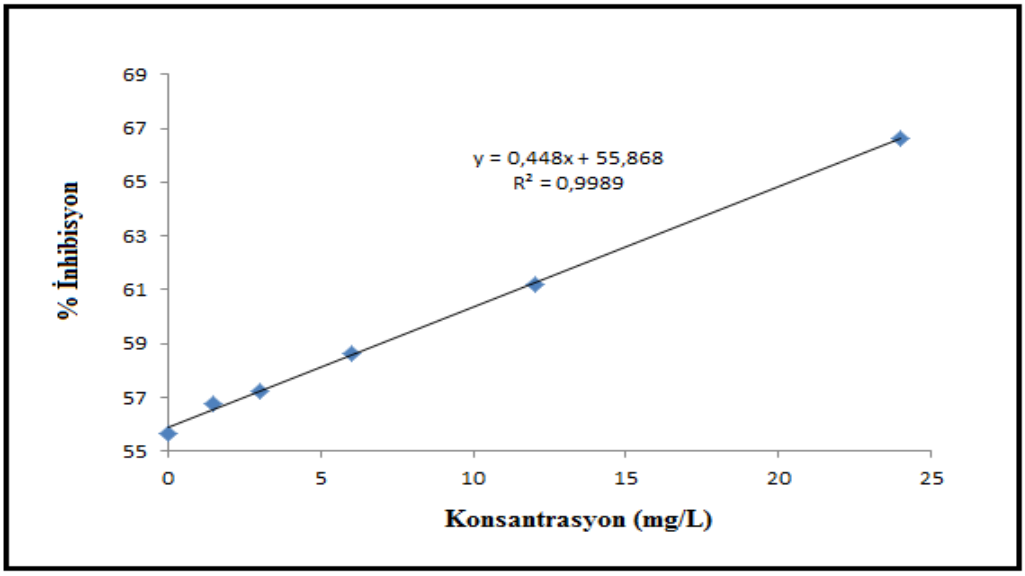
Şekil 4.3. Standart DPPH kalibrasyon grafiği

Serbest radikal süpürme aktivite tayini için uçucu yağların ve sentetik antioksidanların (BHA ve BHT) yüzde inhibisyon değerleri hesaplanmış ve Şekil 4.4 -

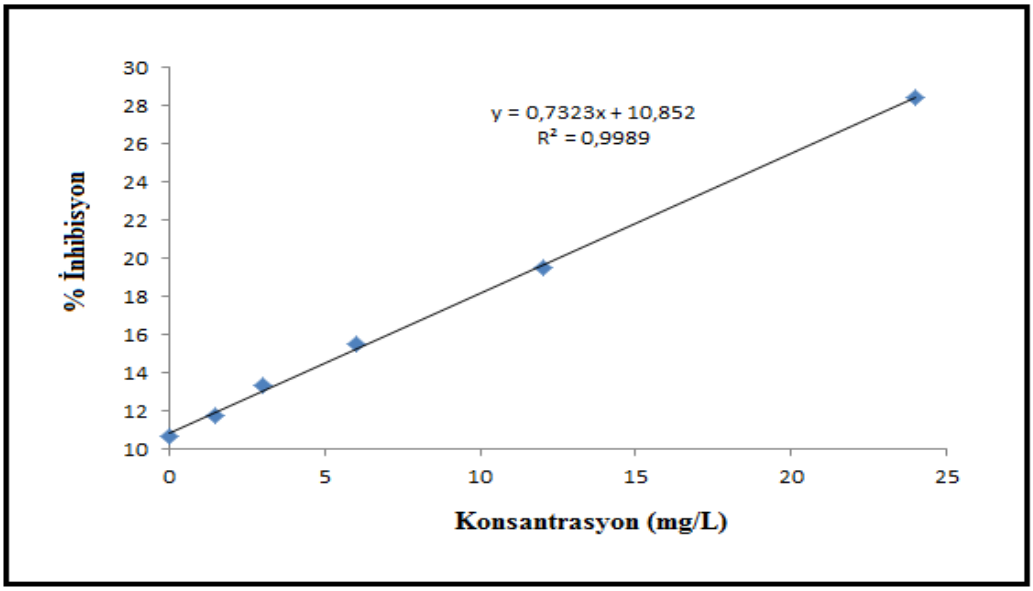
Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Yüzde inhibisyon değerlerinin büyüklüğü antioksidan etkisinin kuvvetini ifade etmektedir. Yani, % inhibisyon değeri ne kadar büyükse antioksidan etki de o kadar kuvvetlidir. DPPH radikal süpürme etkisinin diğer bir göstergesi de IC_{50} değerleridir. IC_{50} değerleri, antioksidan miktarına karşı % inhibisyon değerlerinin çizildiği grafikten elde edilen eğri denkleminde y=50 konularak hesaplanmaktadır. IC_{50} değerleri, belli bir DPPH derişiminde mevcut DPPH'ın yarısının süpürülmesi için gerekli olan antioksidan miktarını göstermekte olup, bu değer ne kadar küçükse antioksidan etki de o kadar kuvvetli olur (Karpuz, 2012).



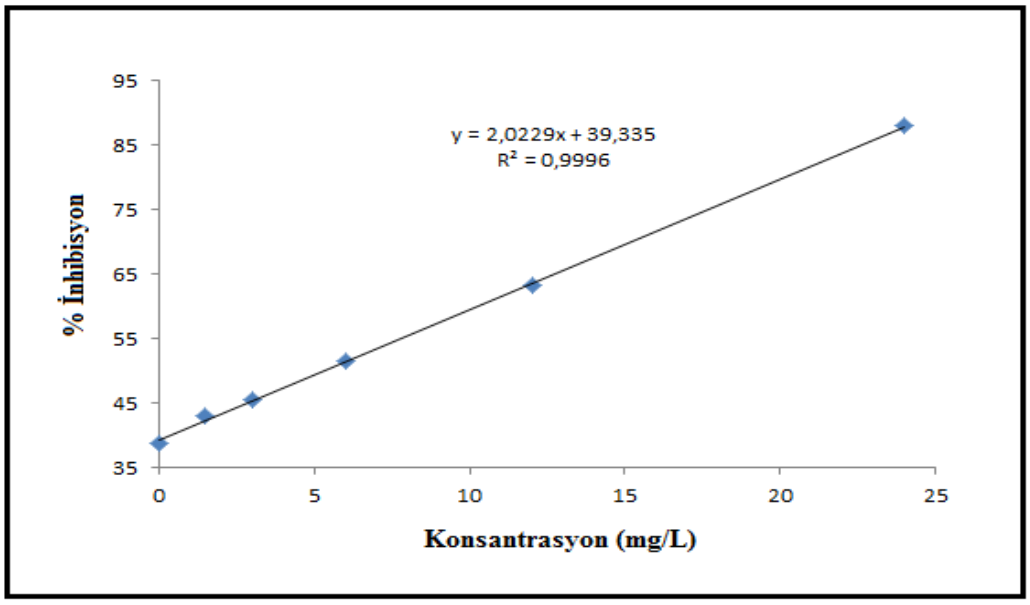
Şekil 4.4. BHA'nın DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



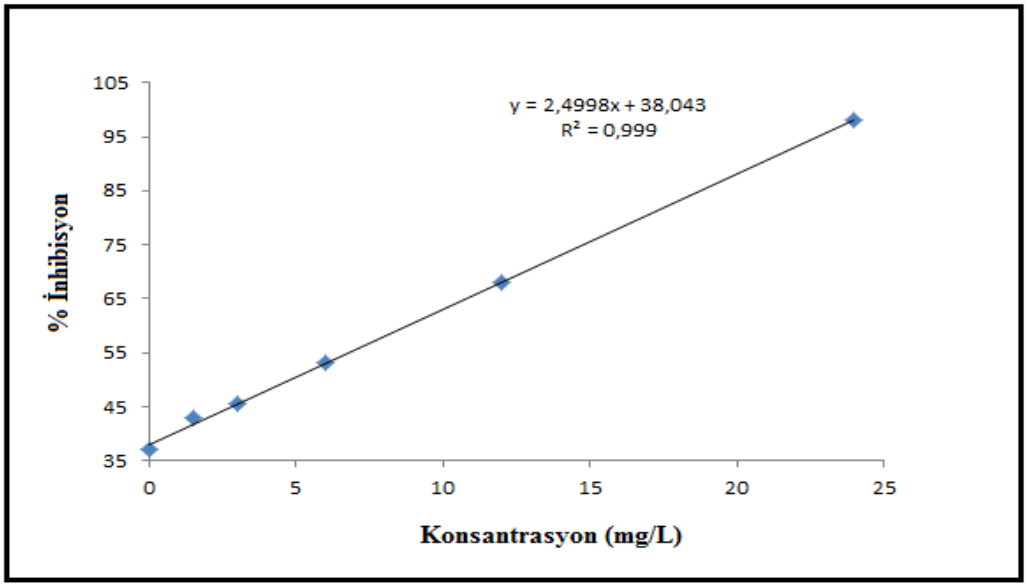
Şekil 4.5. BHT'nin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



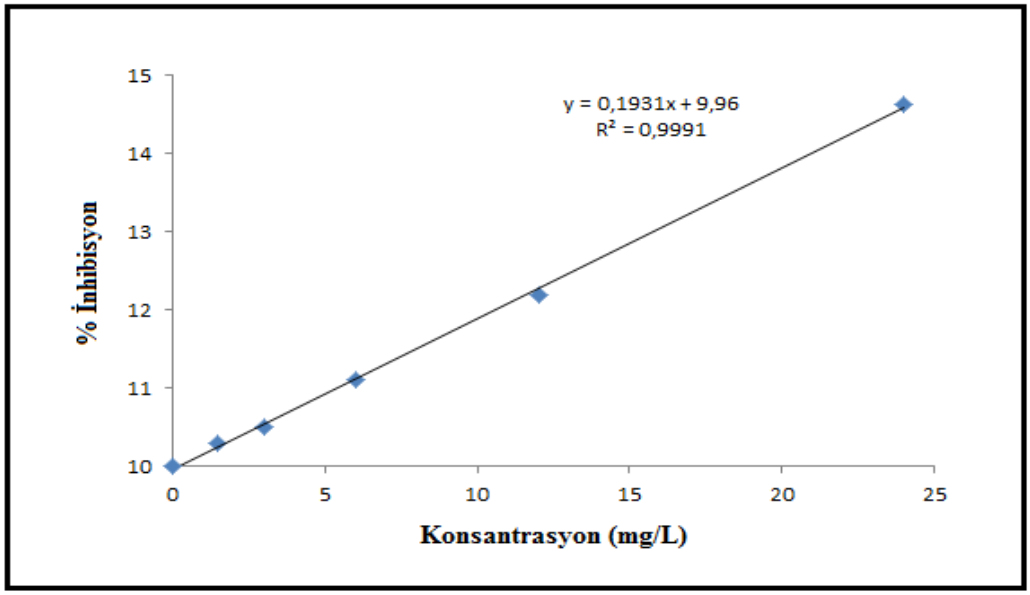
Şekil 4.6. Nane örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



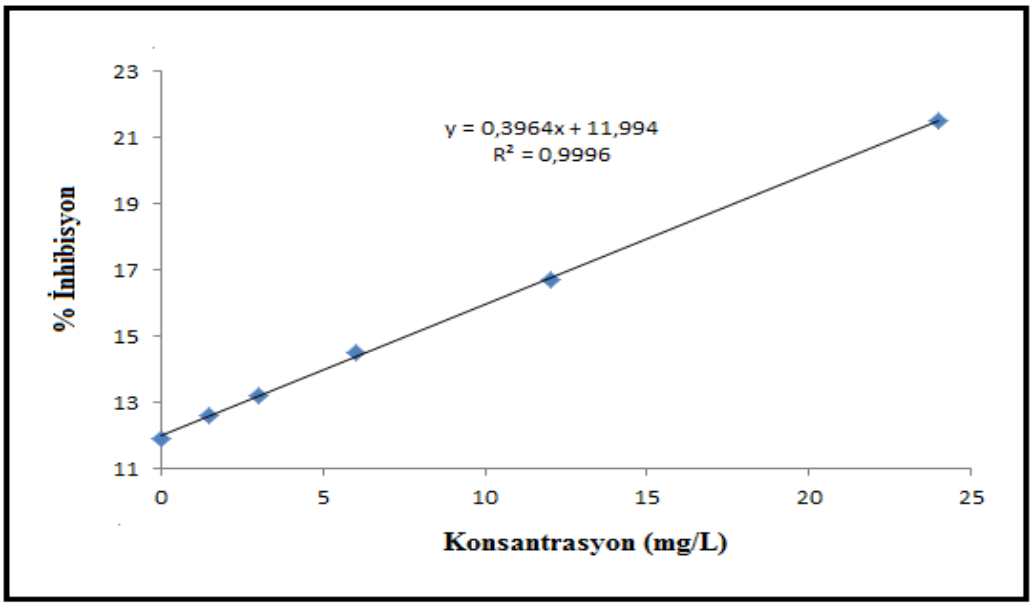
Şekil 4.7. Kekik örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



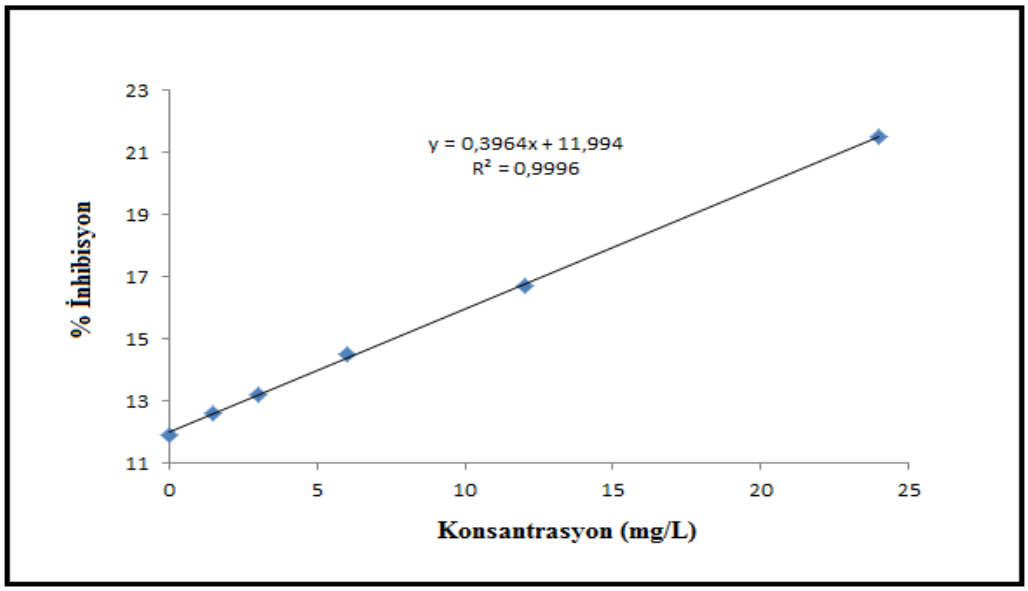
Şekil 4.8. Defne örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



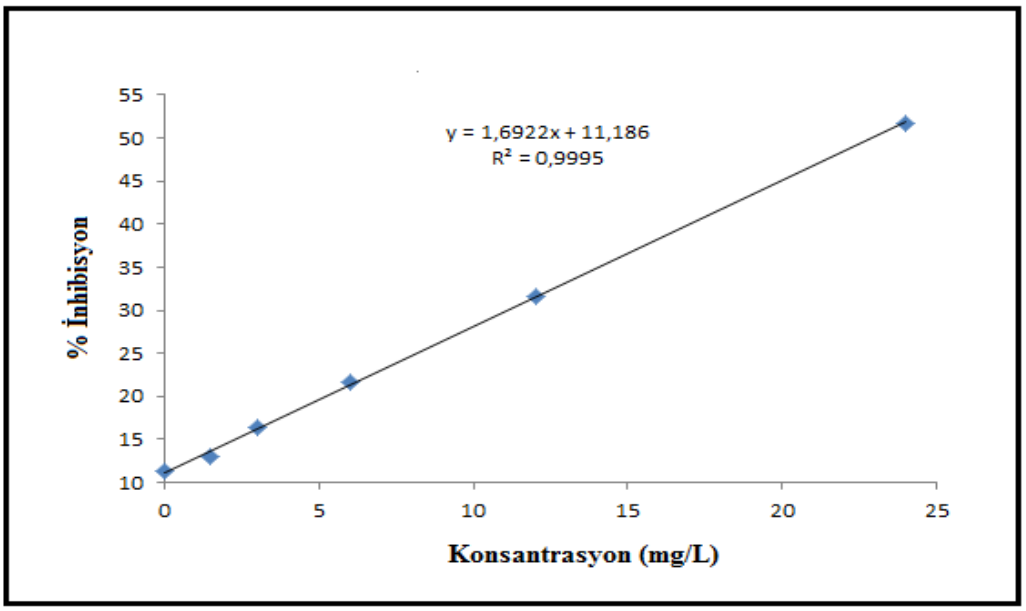
Şekil 4.9. Sarımsak örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



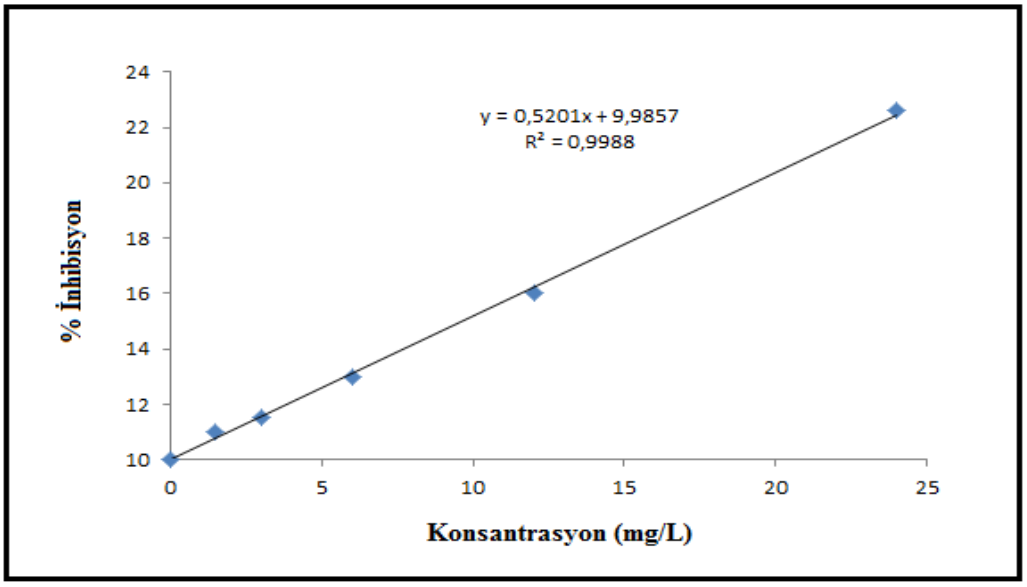
Şekil 4.10. Biberiye örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



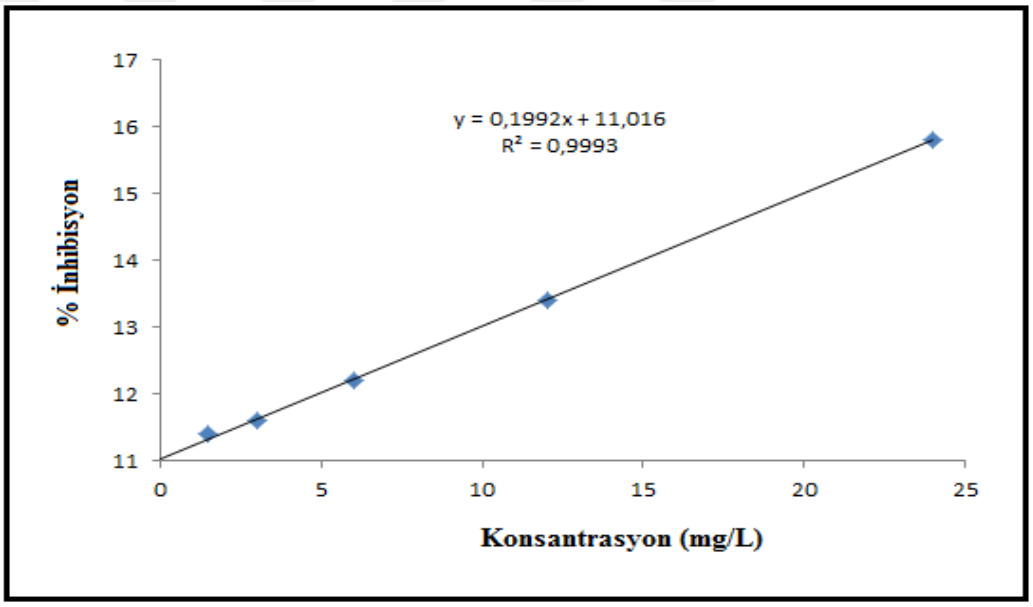
Şekil 4.11. Susam örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



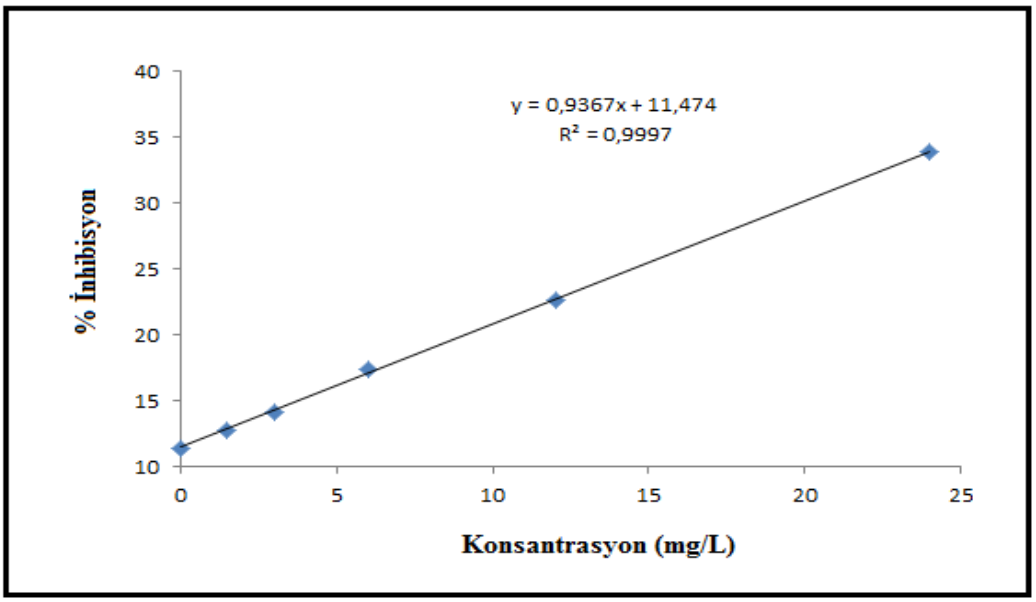
Şekil 4.12. Kimyon örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



Şekil 4.13. Rezene örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

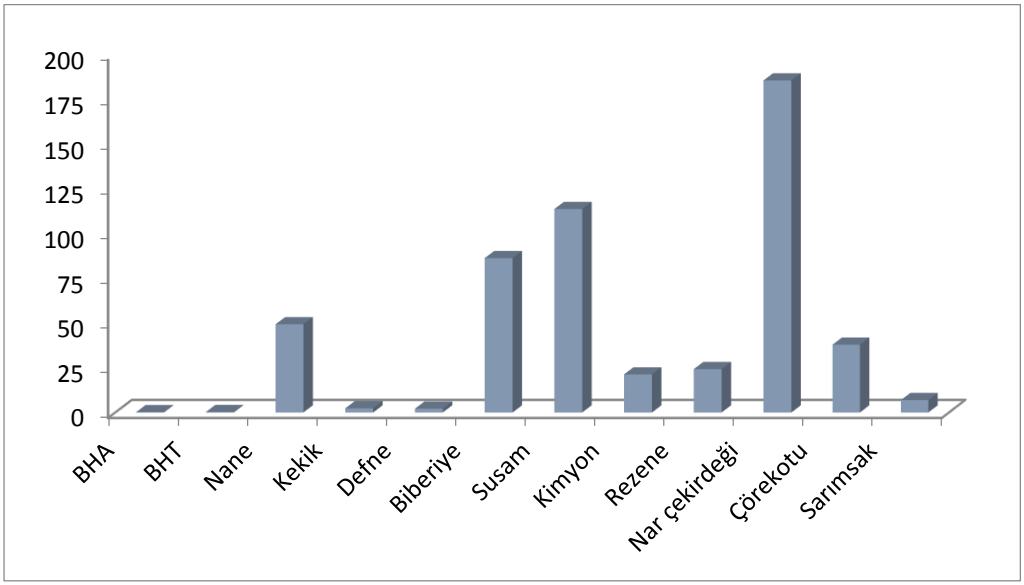


Şekil 4.14. Nar Çekirdeği örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi



Şekil 4.15. Çörekotu örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

Uçucu yağlar ve sentetik antioksidanlar için hesaplanan IC50 değerlerine ait grafik Şekil 4.16'da verilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi, incelenen uçucu yağlar içerisinde en yüksek antioksidan etkiye sahip olanlar kekik, defne, sarımsak, kimyon ve rezenedir. Sentetik birer antioksidan olan BHA ve BHT'nin antioksidan kuvvetleri ise, incelenen bütün uçucu yağlardan daha fazladır.



Şekil 4.16. Çörekotu örneğinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi

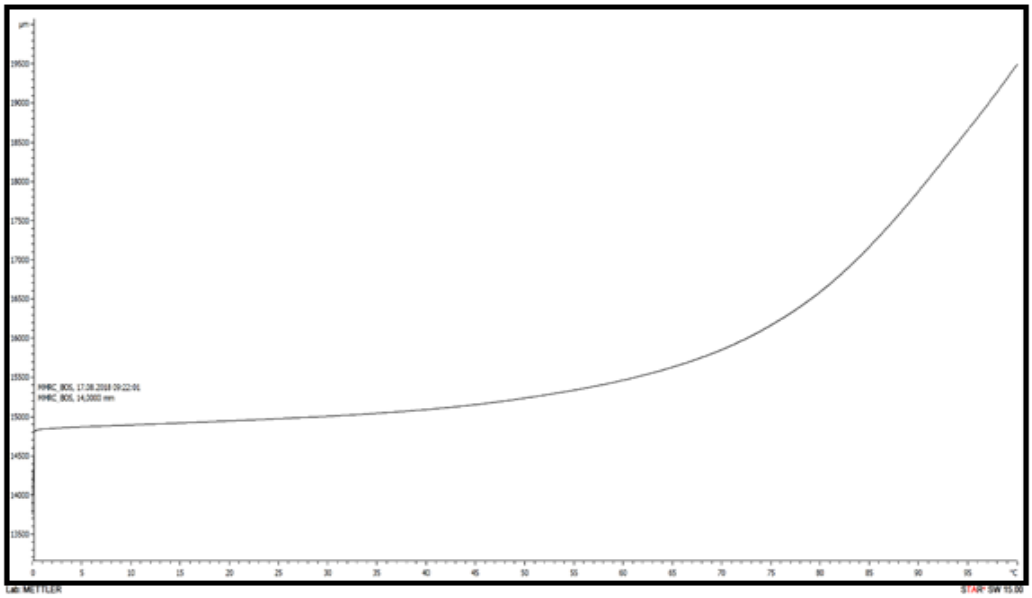
4.3. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu İle İlgili Tartışmalar

Yenilebilir filmlerin, ambalaj malzemesi olarak kullanıma uygunluğunu, filmin mekanik, fiziksel ve duyusal özellikleri ile belirlenmektedir (Kalkan ve Erginkaya, 2016). Bu amaçla öncelikle filmlerin nem miktarları, kuru madde yoğunlukları ve kalınlıkları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

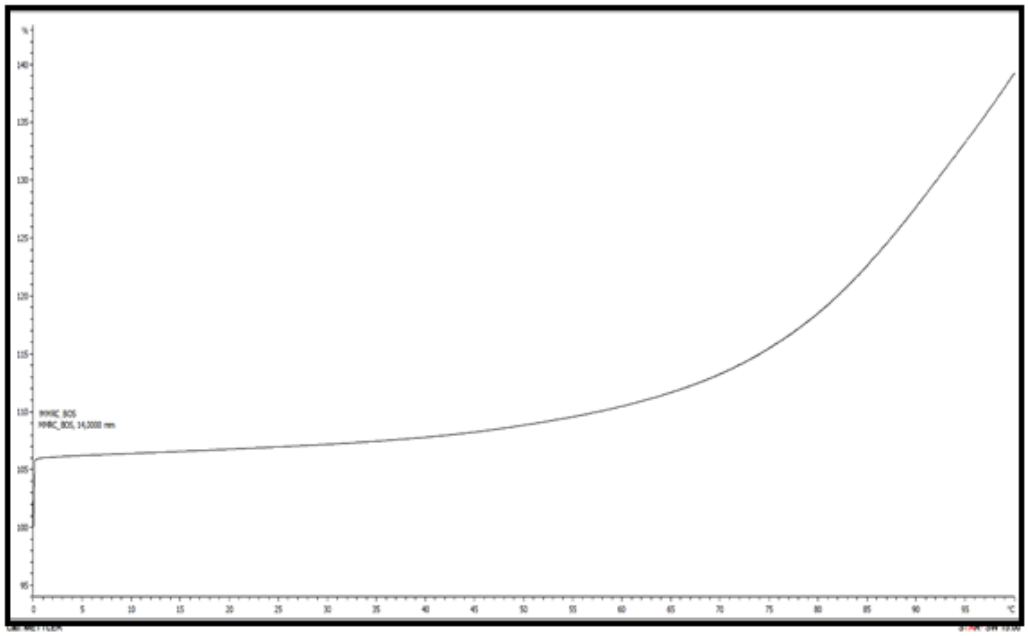
Çizelge 4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri (% Nem, Kuru Madde Yoğunluğu ve Kalınlık Ölçümleri)

Yenilebilir Film Çeşitleri	% Nem Miktarları	Kuru Madde Yoğunlukları (ρ_s) ($g.cm^{-3}$)	Kalınlık Ölçümleri (mm)
Kontrol Filmi	29.35 ± 0.1	0.801 ± 0.001	0.180 ± 0.007
Kekik	30.03 ± 0.1	0.808 ± 0.001	0.192 ± 0.010
Nane	29.97 ± 0.1	0.836 ± 0.001	0.186 ± 0.008
Defne	30.48 ± 0.2	0.873 ± 0.001	0.179 ± 0.005
Kimyon	29.12 ± 0.1	0.871 ± 0.001	0.194 ± 0.010
Rezene	30.49 ± 0.2	0.917 ± 0.001	0.169 ± 0.003

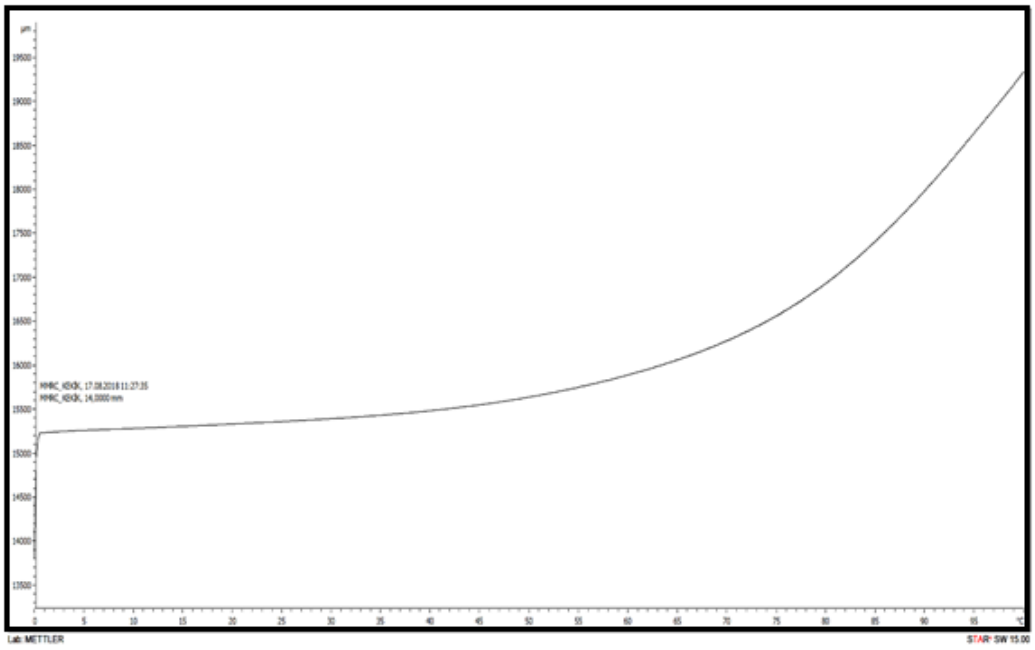
Yenilenebilir filmlerin ölçülen uzama miktarları ve % uzama oranları Şekil 4.17 – Şekil 4.41'de gösterilmiştir.



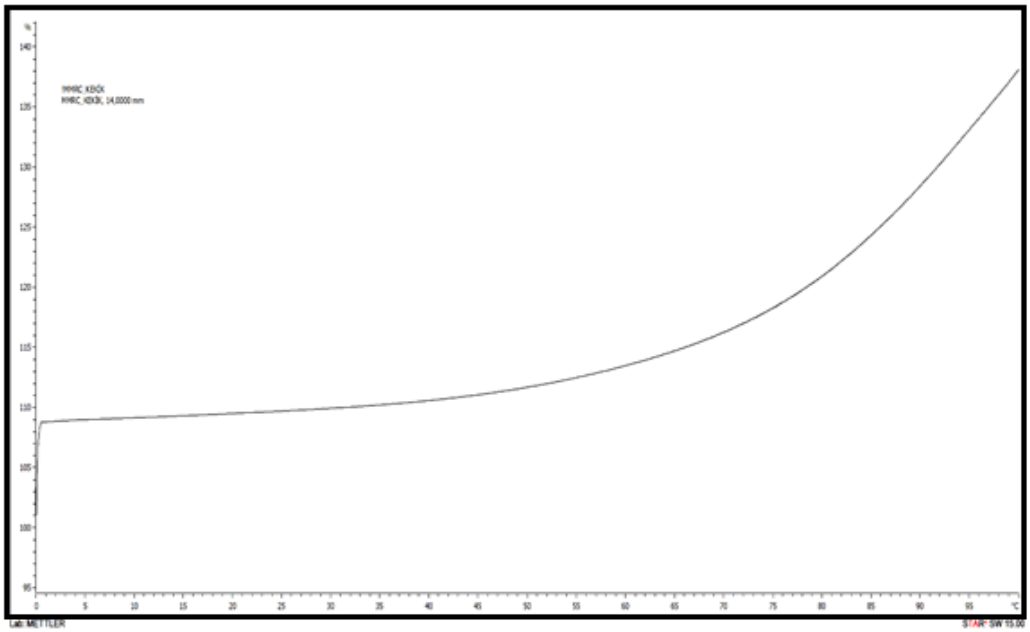
Şekil 4.17. Kontrol yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



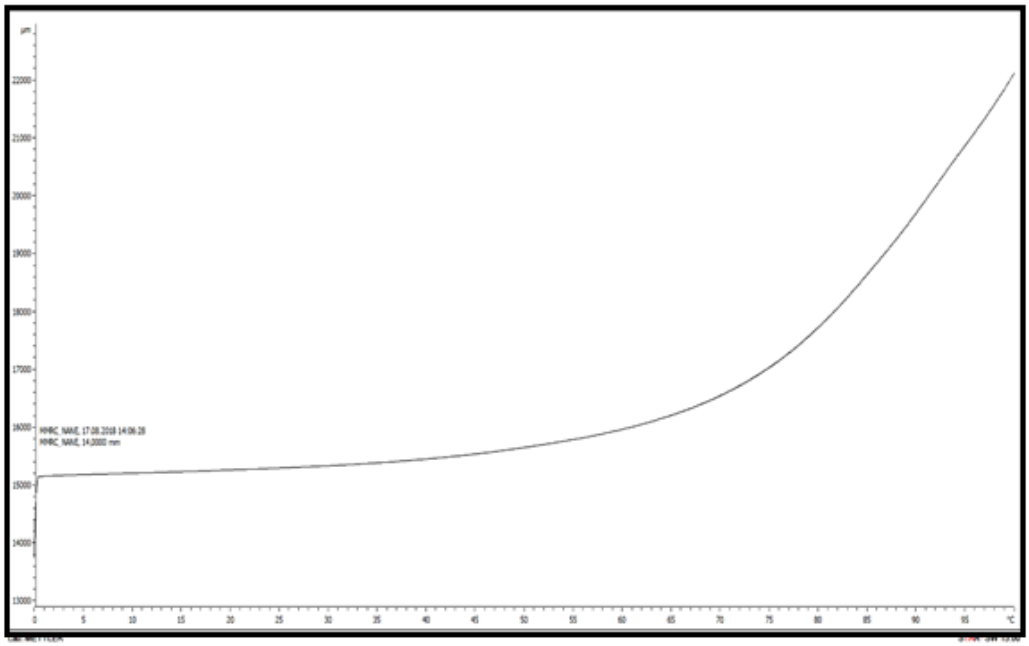
Şekil 4.18. Kontrol yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



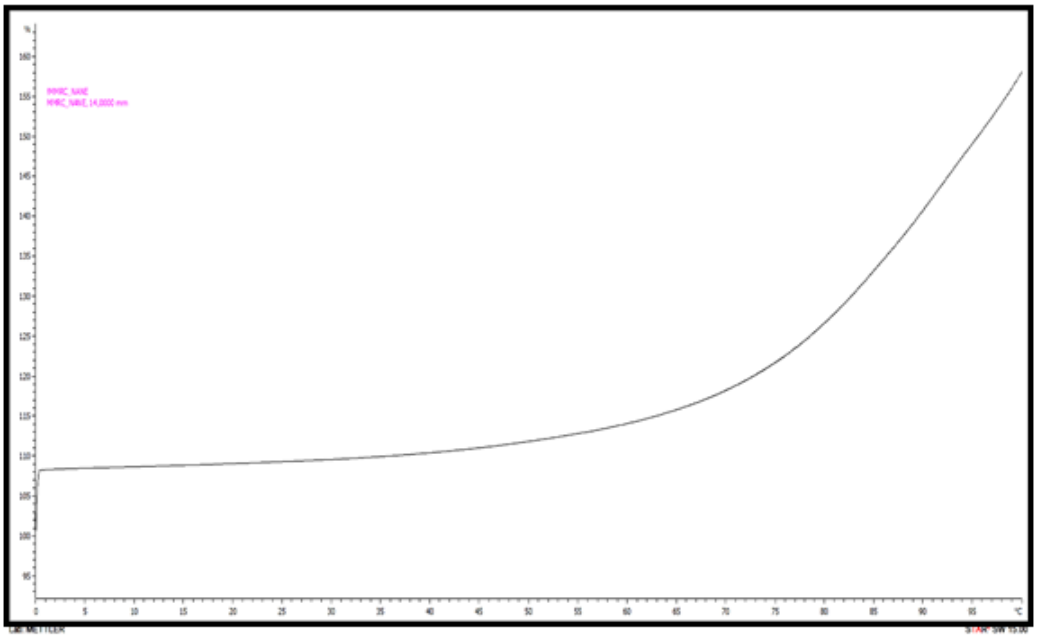
Şekil 4.19. Kekik yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



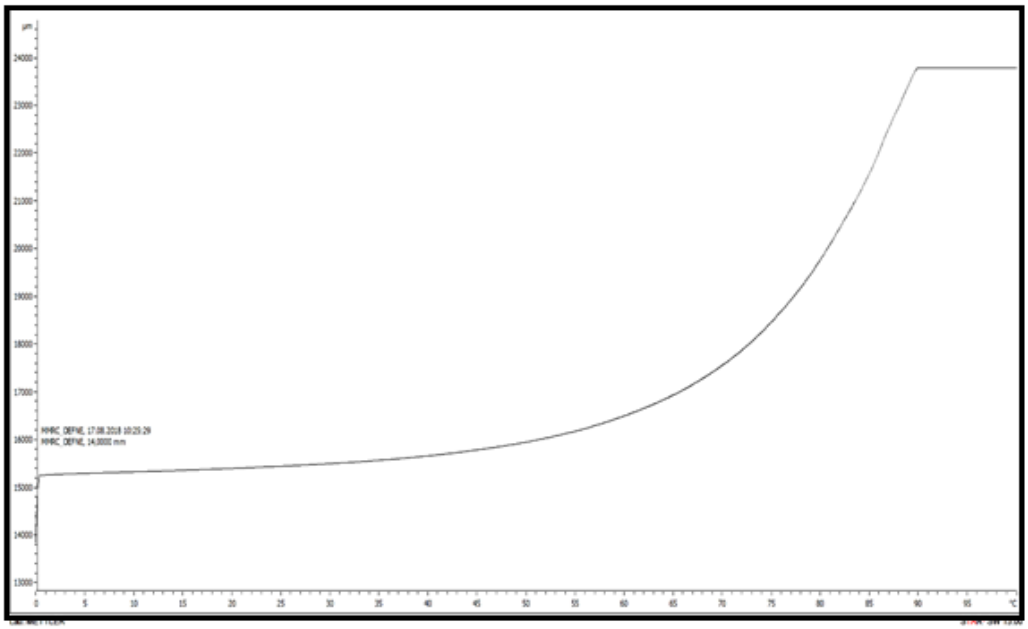
Şekil 4.20. Kekik yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



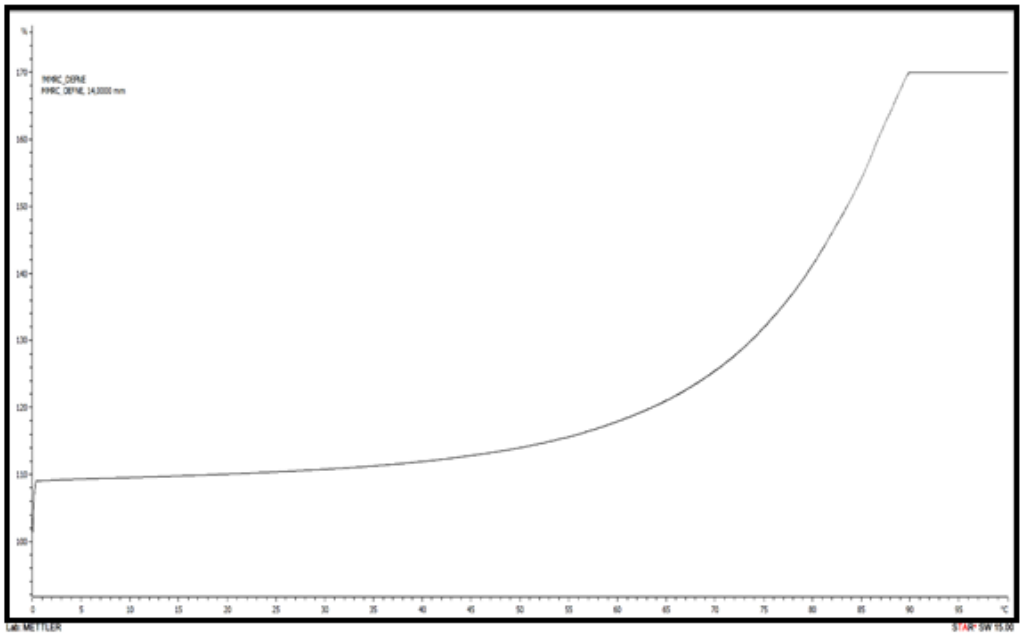
Şekil 4.21. Nane yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



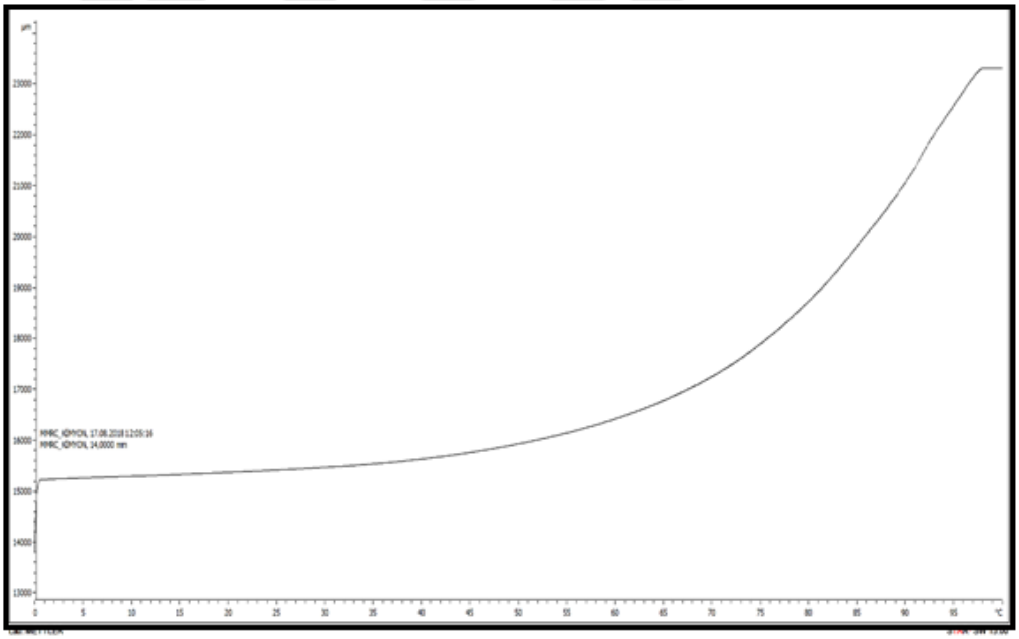
Şekil 4.22. Nane yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



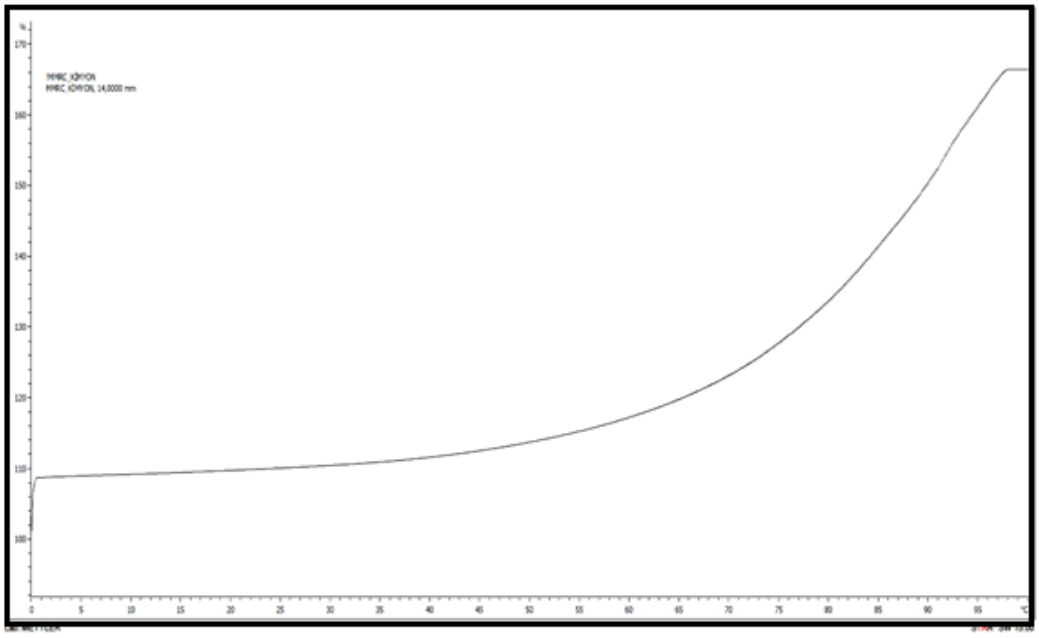
Şekil 4.23. Defne yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



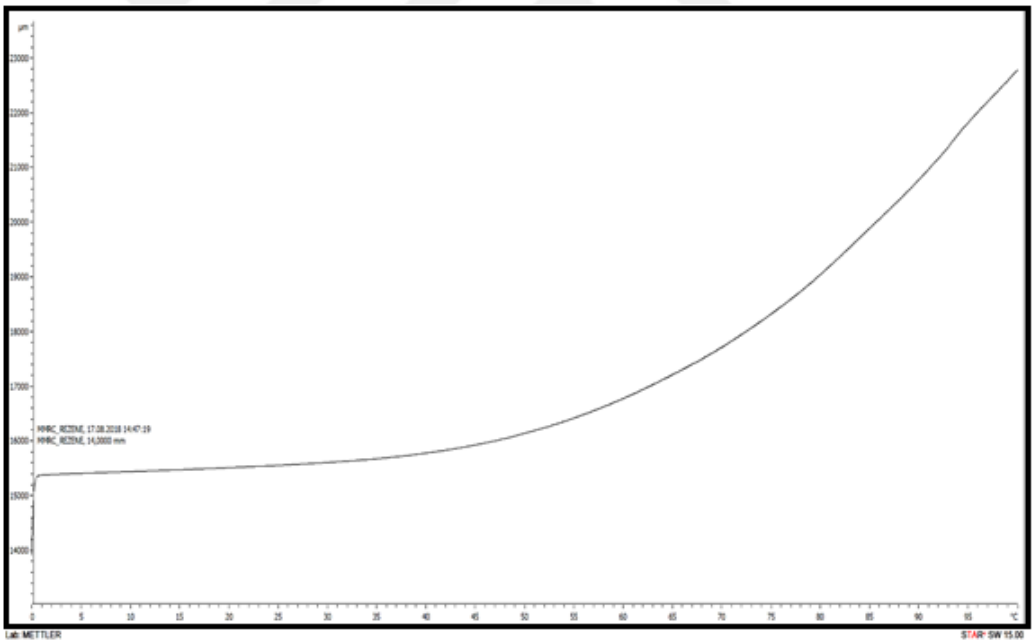
Şekil 4.24. Defne yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



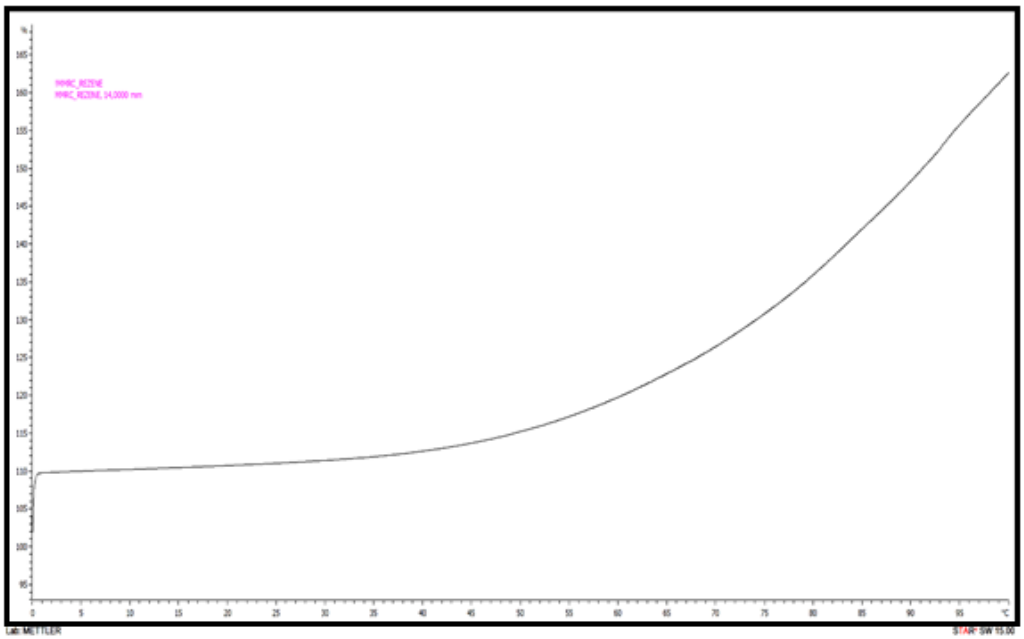
Şekil 4.25. Kimyon yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



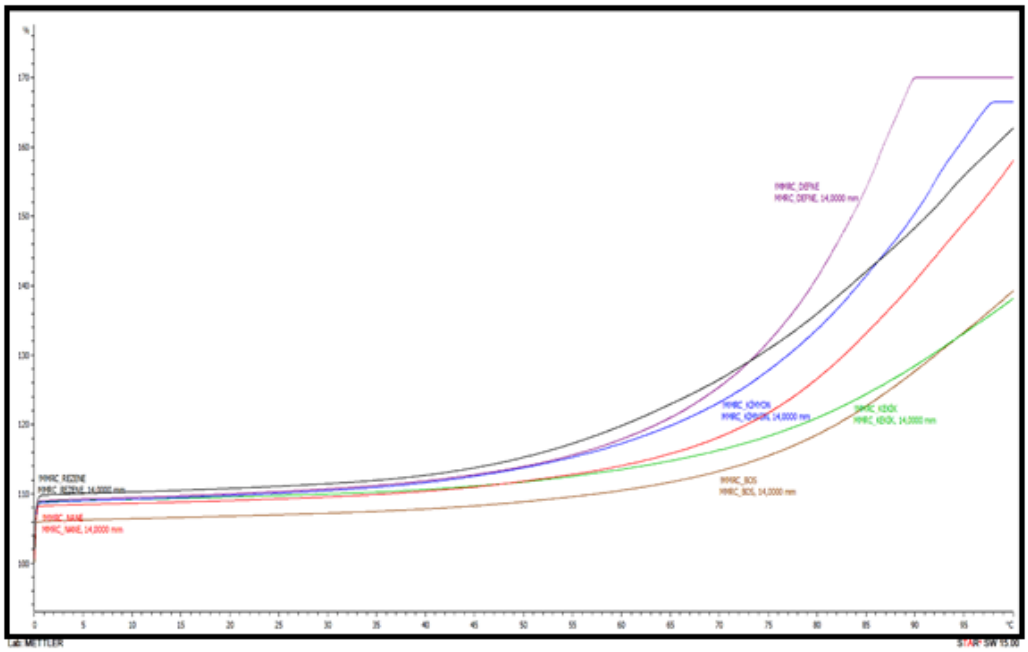
Şekil 4.26. Kimyon yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



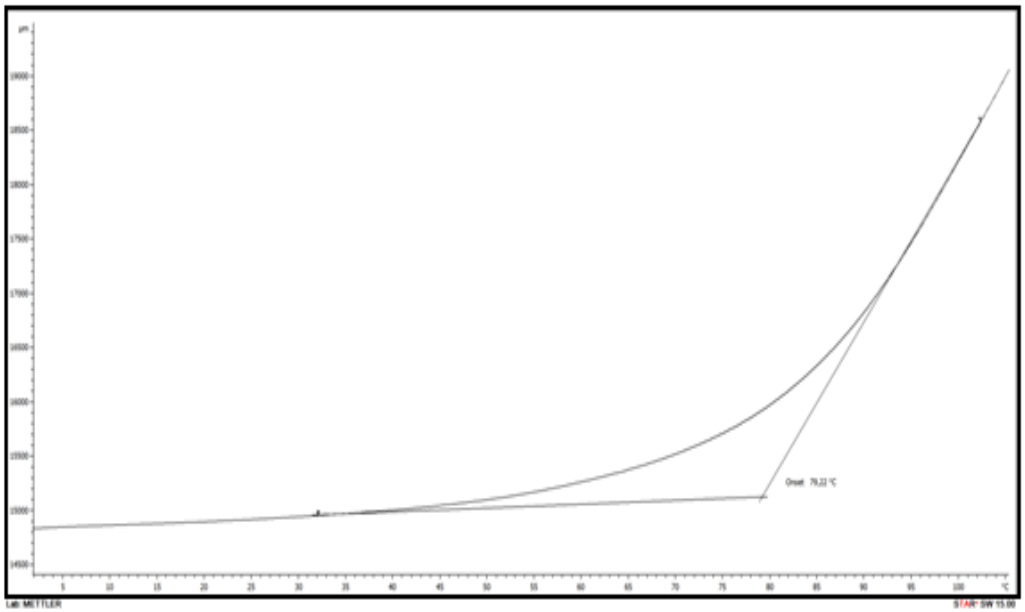
Şekil 4.27. Rezene yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (Uzunluk - Sıcaklık)



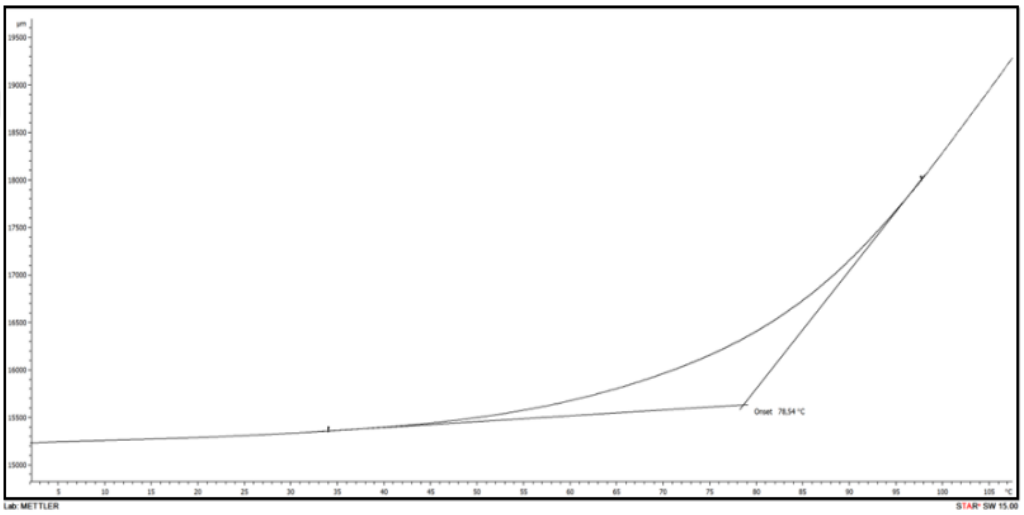
Şekil 4.28. Rezene yağı ilaveli yenilebilir filminin TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



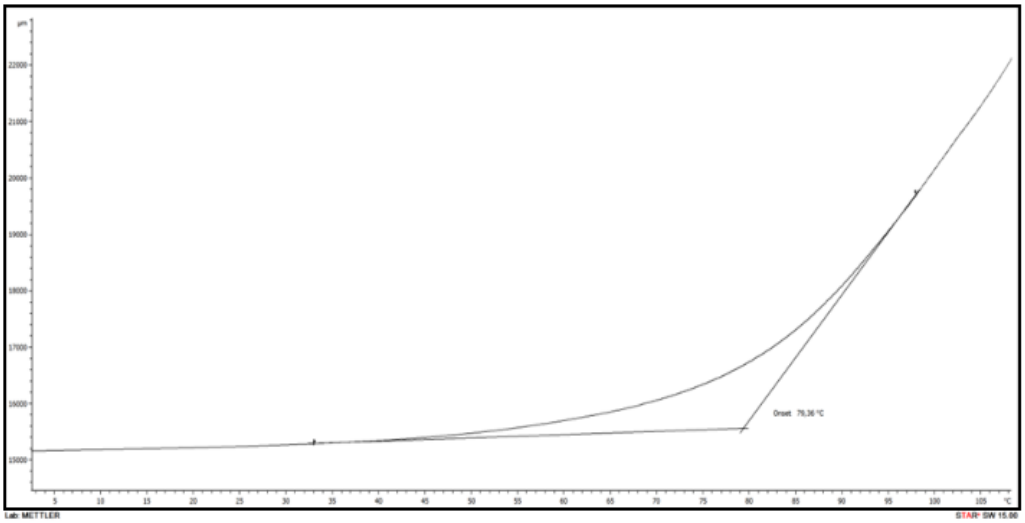
Şekil 4.29. Kontrol ve uçucu yağ ilaveli yenilebilir filmlerin toplu hâlde TMA grafiği (% Uzama - Sıcaklık)



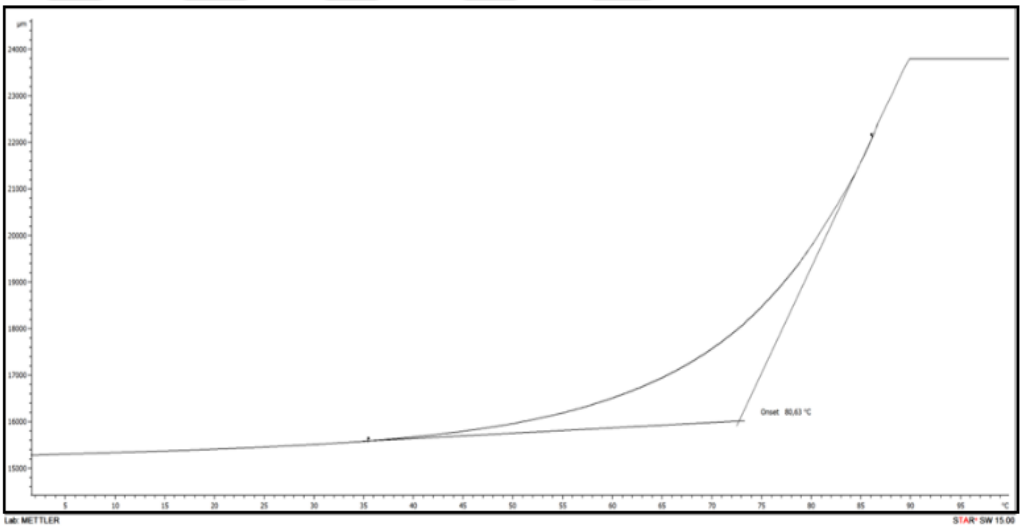
Şekil 4.30. Kontrol yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik



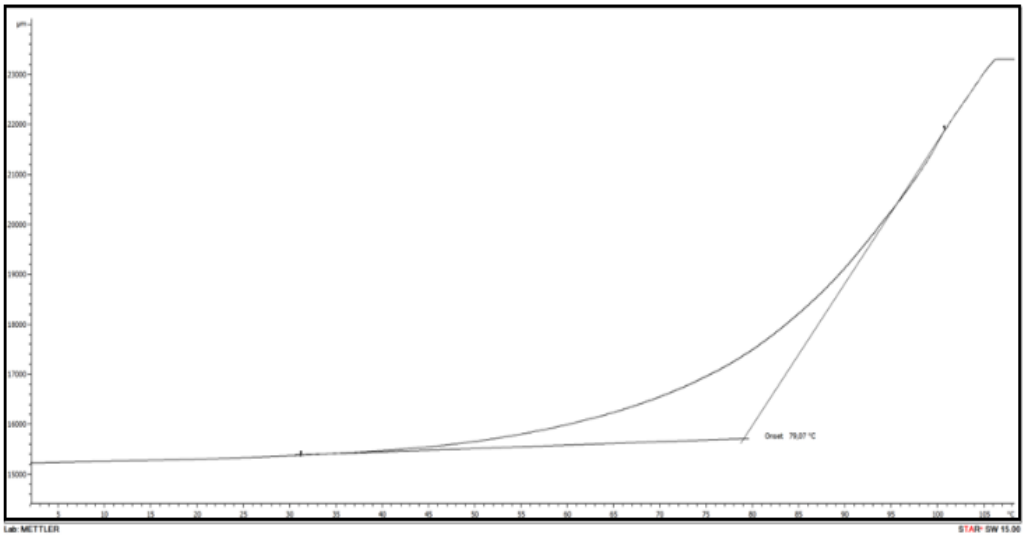
Şekil 4.31. Kekik yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik



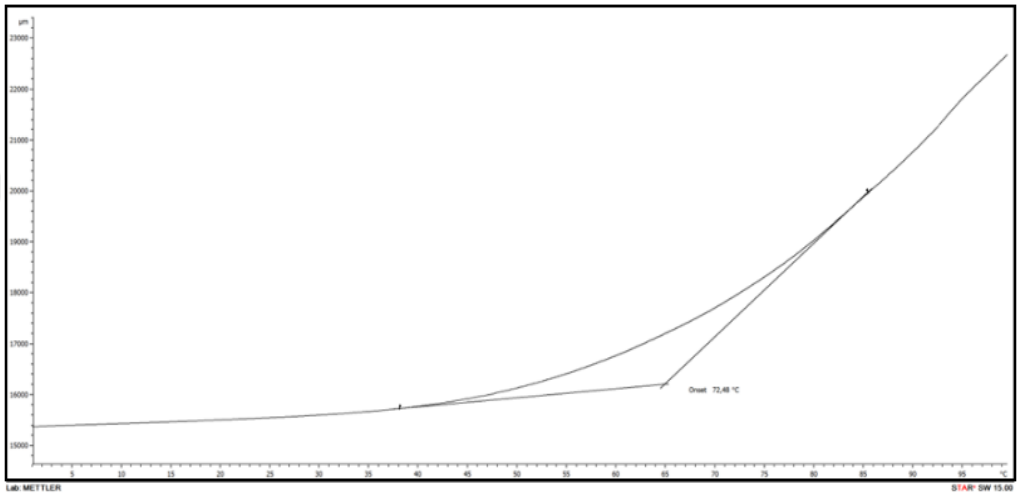
Şekil 4.32. Nane yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik



Şekil 4.33. Defne yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik

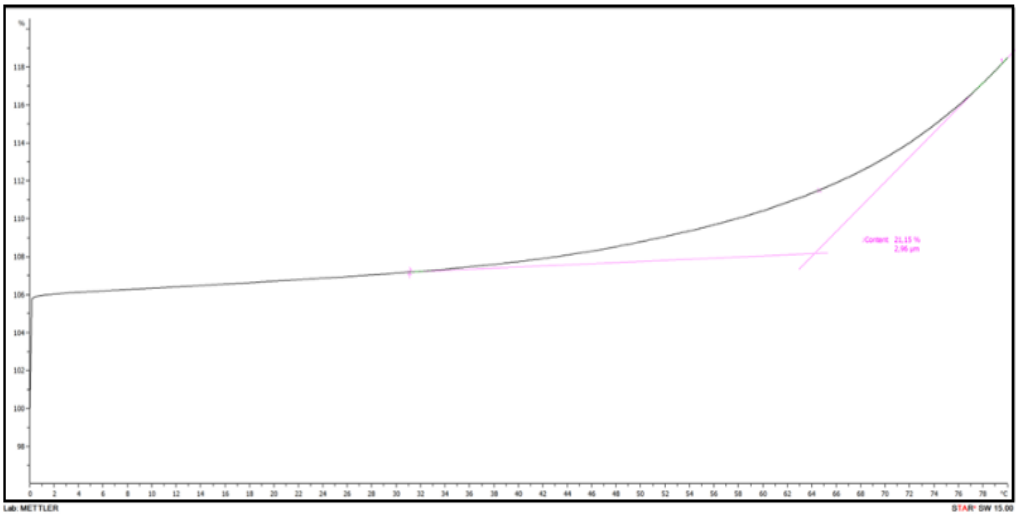


Şekil 4.34. Kimyon yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik

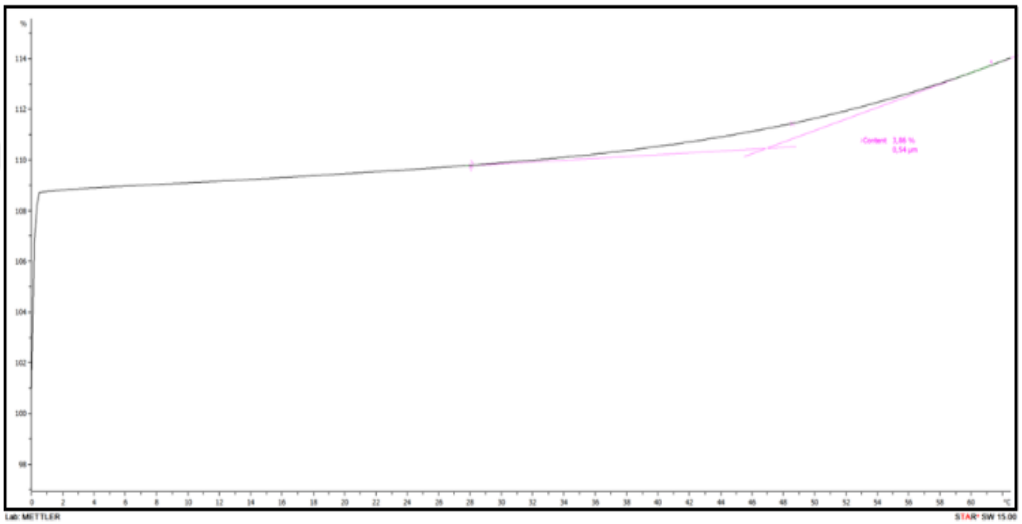


Şekil 4.35. Rezene yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımını gösteren grafik

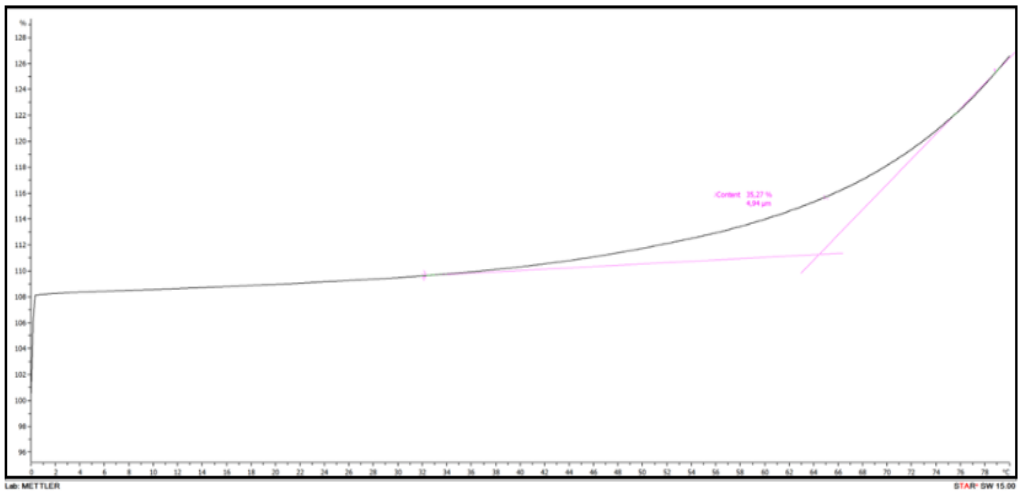
0.1 N sabit yük altında Mettler Toledo TMA/SDTA841 cihazı ile kontrol, kekik, nane, defne, kimyon ve rezene katkılı soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin arttırılan sıcaklık altındaki dayanımlarını belirlemek için termal mekanik analizler gerçekleştirilmiştir. Katkısız (Kontrol) yenilebilir filmde bu sıcaklık 79,22°C olarak tespit edilmiştir. Defne ve nane katkıları bu sıcaklıktaki mekanik kuvveti 80,63°C ‘ye kadar bir miktar arttırmıştır. Fakat rezene katkısının yenilebilir filmde bu dayanımı 72,48°C ‘ye düşürdüğü belirlenmiştir.



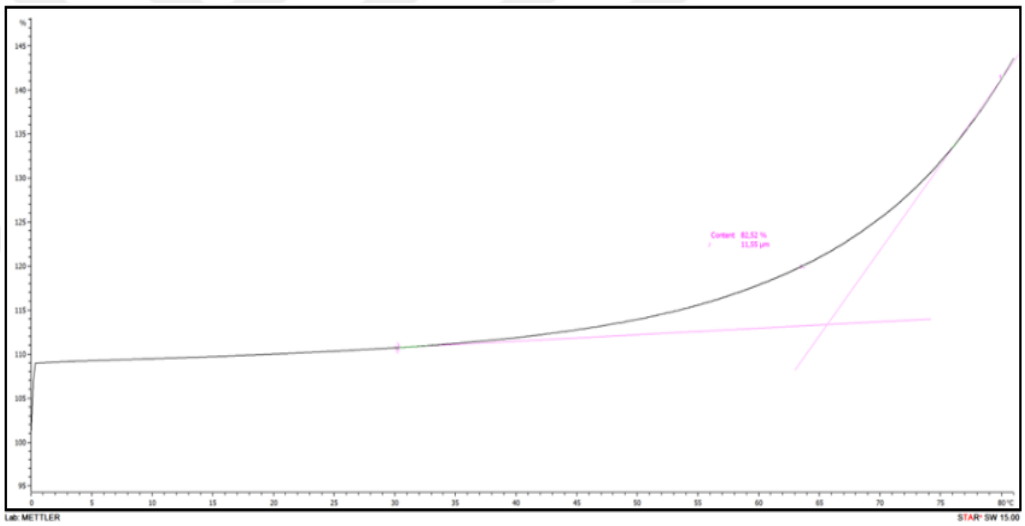
Şekil 4.36. Kontrol yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği



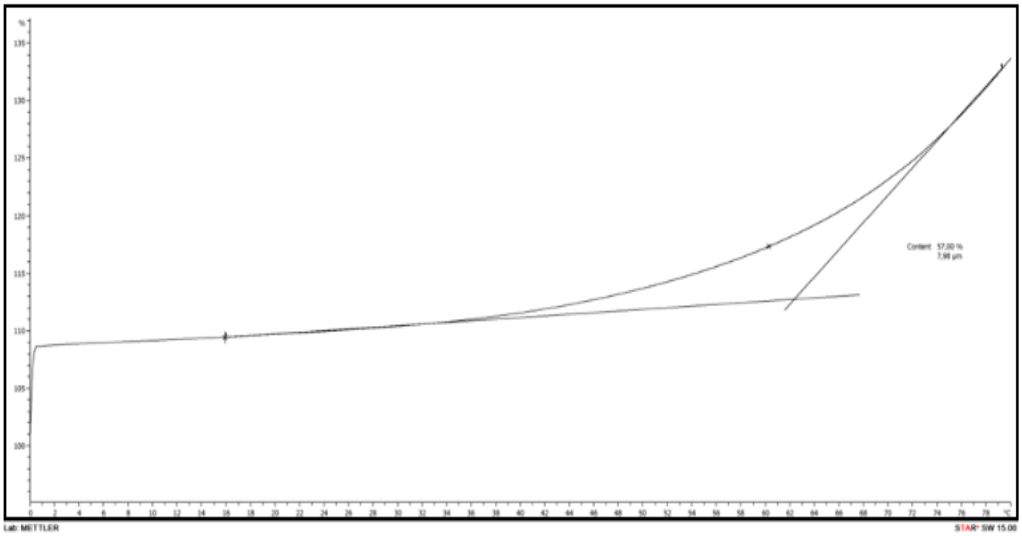
Şekil 4.37. Kekik yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği



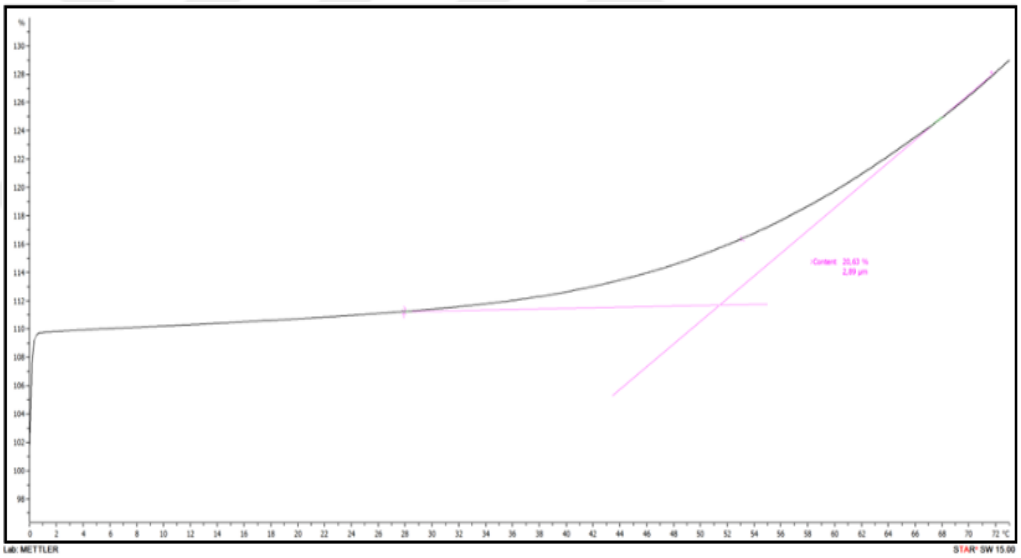
Şekil 4.38. Nane yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği



Şekil 4.39. Defne yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği



Şekil 4.40. Kimyon yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği

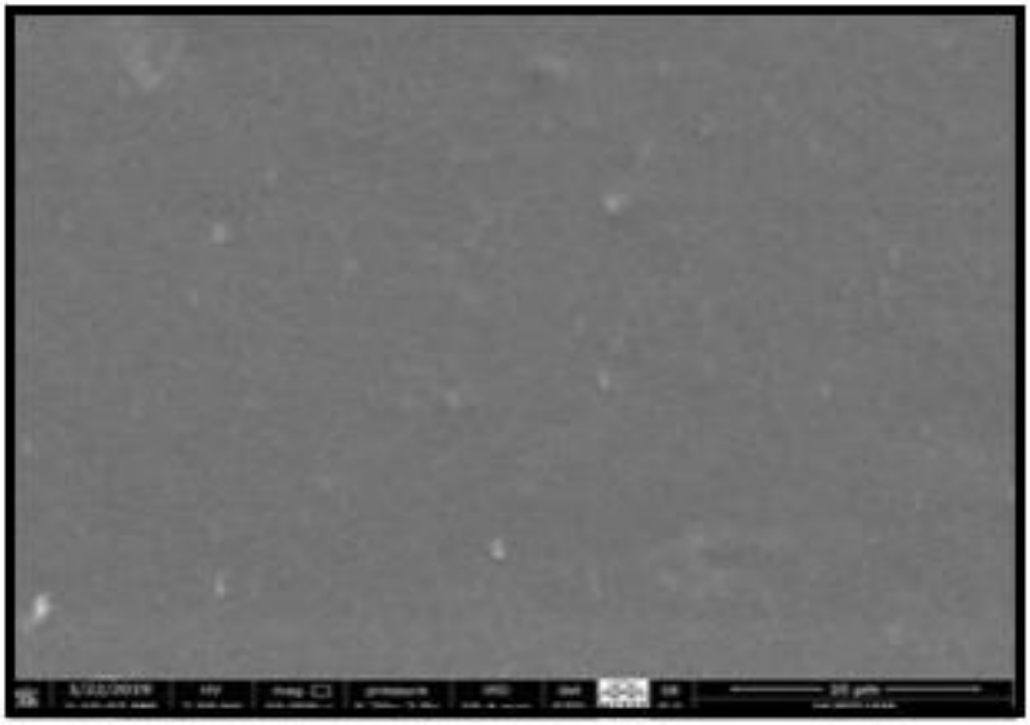


Şekil 4.41. Rezene yenilebilir filminin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerini gösteren TMA grafiği

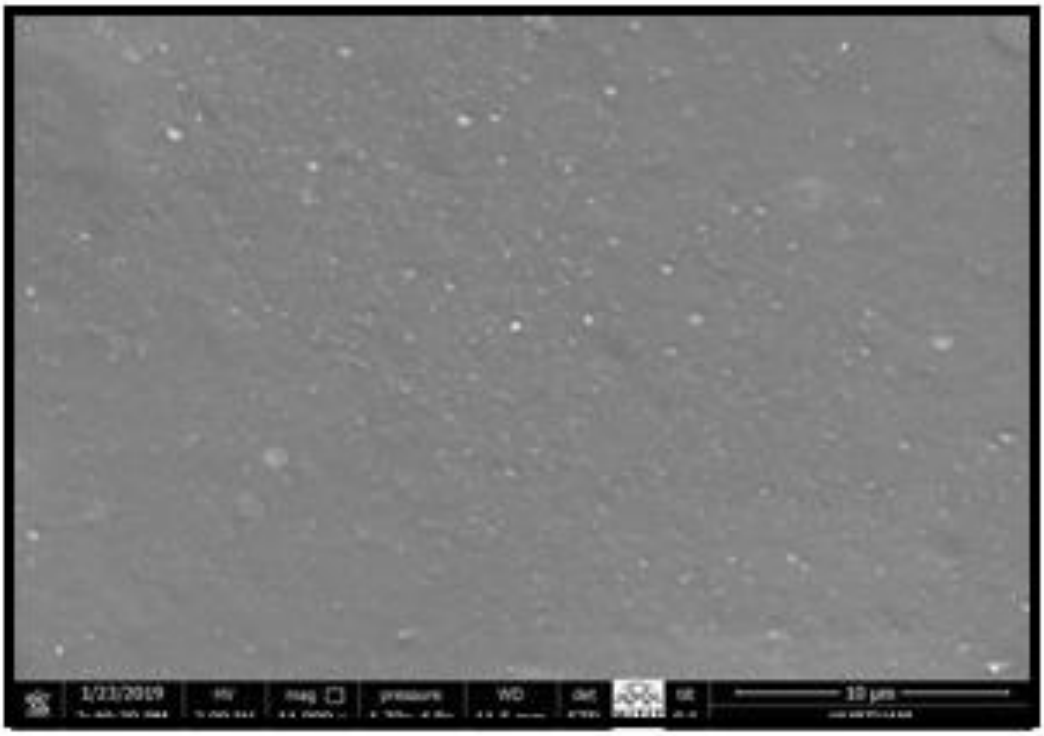
Yenilebilir filmlerin arttırılan sıcaklık altındaki elastik - plastik geçiş bölgelerinde katkısız (Kontrol) yenilebilir filmde bu oran % 21.15 olarak tespit edilmiştir. Defne, kimyon ve nane katkıları bu oranı % 82,52 'ye kadar arttırabilirken rezene ve kekik katkılarının yenilebilir filmde bu dayanımı % 3,86 'ya kadar düşürdüğü gözlemlenmiştir.

Bu değerlere göre defne, kimyon ve rezene yenilebilir filmin elastikiyetini arttırırken, nane ve kekik ise daha kırılabilir ve gevrek yapı hâline getirmiştir.

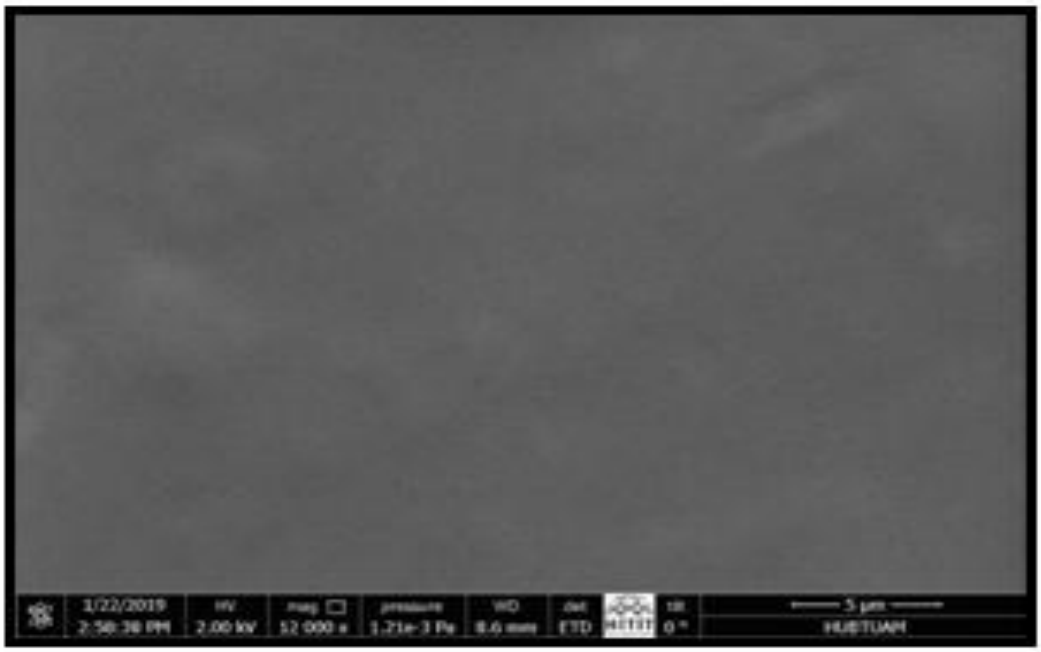
Elde edilen yenilebilir filmlerin taramalı elektron mikroskobu aracılığıyla alınan görüntüleri Şekil 4.42 - 4.47'de gösterilmiştir.



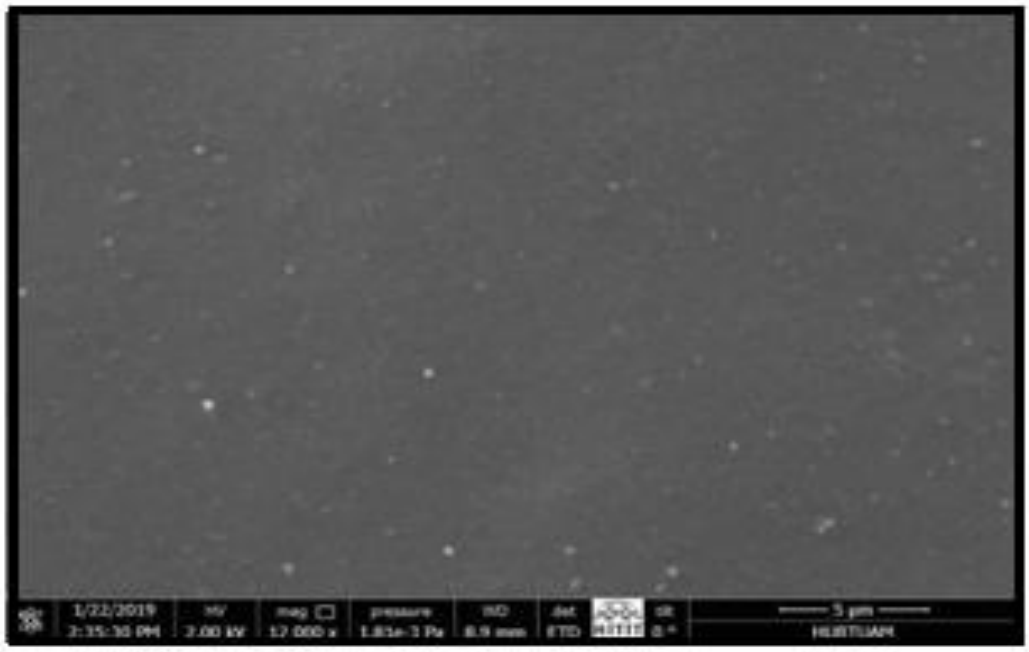
Şekil 4.42. Kontrol grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 10000 kat büyütülmüş hâli



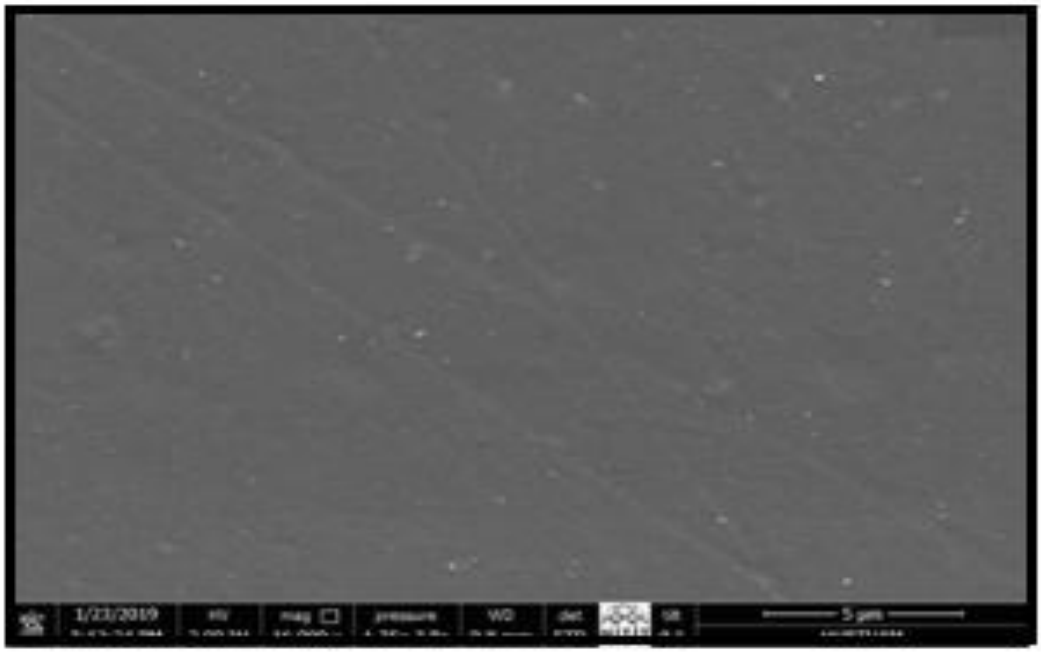
Şekil 4.43. Kekik grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 11000 kat büyütülmüş hâli



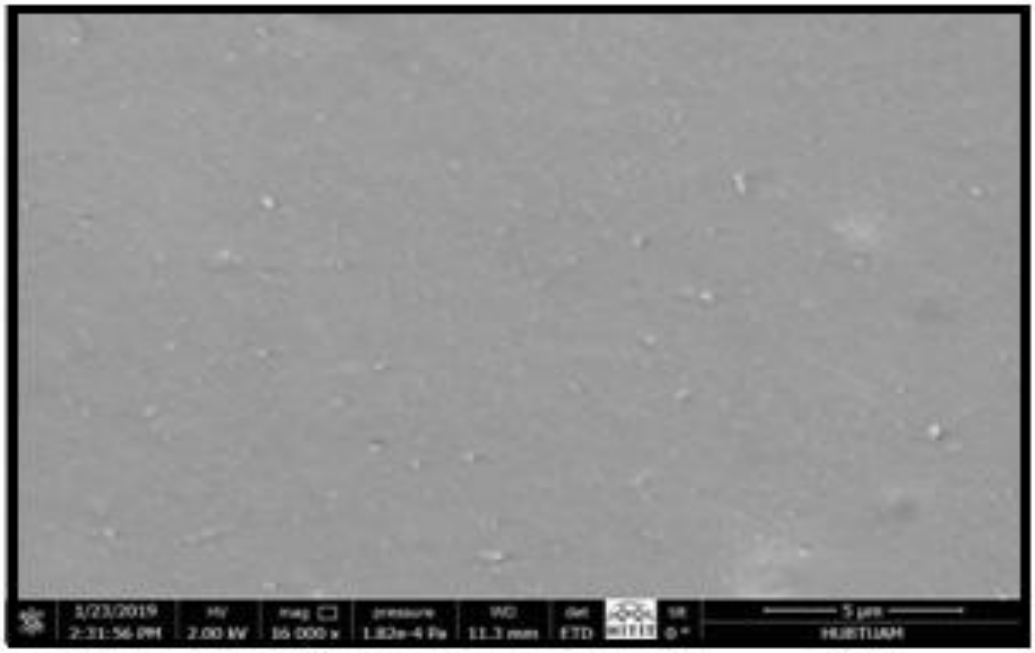
Şekil 4.44. Defne grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 12000 kat büyütülmüş hâli



Şekil 4.45. Rezene grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 12000 kat büyütülmüş hâli



Şekil 4.46. Nane grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 16000 kat büyütülmüş hâli



Şekil 4.47. Kimyon grubu yenilebilir film örneğinin 2 kV elektrik akımı ile elektron uygulanarak filmin bir kesitinin 16000 kat büyütülmüş hâli

Mikroskobik görünümler, filmlerin yüzeylerinde çatlaklar, kırılmalar veya açıklıklar olmayan nispeten düzgün ve düzenli bir yüzey morfolojisi göstermiştir. Farklı antioksidan içerikli filmlerin SEM görüntüleri yapılarda belirgin bir farklılık göstermemiştir.

4.4. Ölçümlerde Kullanılan Karabalık Kıymasındaki Kimyasal Bileşenler ile İlgili Tartışmalar

Yenilebilir Filmlere sarılan 3 ayrı karabalık kıymasındaki, kül, nem ve yağ yüzdelerinin ortalamaları alınarak bulunan değerler Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri (% Kül, % Nem ve & Yağ Oranları)

Kimyasal Bileşenler	Bulunan Değerler (%)
Kül	8.54 ± 0.03
Nem	5.7± 0.07
Yağ	31.84 ± 0.11

4.5. Karabalıkların Serbest Yağ Asidi İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Gıda ürünlerinin bozulma derecesini belirlemek için serbest yağ asidi tayininden yararlanılmaktadır. Çünkü yağların hidrolizi sonucunda serbest yağ asitleri ve gliserol oluşmakta, bu da gıdalarda sabunumsu bir yapının, tat ve kokunun oluşumuna sebep olmaktadır (Barthet ve ark. 2008). Karabalığın buzdolabında saklanması sırasında oluşan serbest yağ asitlerinin seviyeleri Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Serbest yağ asitleri değerleri (N=3)

Buzdolabında depolama süresi (Günler)	Oleik Asit (%)						p değerleri
	Kontrol	Defne	Kekik	Kimyon	Nane	Rezene	
0	2.21 ± 0.02	2.21 ± 0.02	2.21 ± 0.02	2.21 ± 0.02	2.21 ± 0.02	2.21 ± 0.02	
1	2.81 ± 0.03	1.73 ± 0.01[a]	1.69 ± 0.04[b]	1.78 ± 0.01[c]	1.86 ± 0.01	1.94 ± 0.03[d]	0.017; 0.005; 0.049; 0.007
3	3.74 ± 0.01	1.91 ± 0.02[a]	1.75 ± 0.03[b]	1.84 ± 0.01	1.99 ± 0.02[e]	2.05 ± 0.01	0.005; 0.010; 0.001
6	4.38 ± 0.01	3.11 ± 0.01	2.86 ± 0.01[b]	3.06 ± 0.02[c]	3.18 ± 0.01	3.23 ± 0.02	0.004; 0.019
8	5.86 ± 0.01	3.54 ± 0.01[a]	3.03 ± 0.03[b]	3.14 ± 0.03[c]	3.25 ± 0.01	3.34 ± 0.04	0.002; 0.011; 0.017
10	7.07 ± 0.03	4.61 ± 0.03	4.31 ± 0.01[b]	4.47 ± 0.01[c]	4.72 ± 0.01[e]	4.16 ± 0.01[d]	0.019; 0.007; 0.047; 0.031
12	7.91 ± 0.01	5.07 ± 0.01	4.88 ± 0.01[b]	5.19 ± 0.03[c]	5.62 ± 0.01[e]	4.57 ± 0.01	0.003; 0.006; 0.005
Korelasyon Katsayıları	0.991	0.959	0.930	0.938	0.941	0.966	

Antioksidan filmler ile paketlenmiş karabalık örneklerinin serbest yağ asidi içerikleri soğuk depolama süresince kademeli bir artış göstermiştir. Depolama süresi ile serbest yağ asidi seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Kontrol numunelerindeki serbest yağ asidi içeriği diğer örneklerdekilerden daha yüksek bulunmuştur. En düşük serbest yağ asidi içeriği, % 5 nane ve kimyon uçucu yağ katkılı filmlerde elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hidrolitik aktivitenin antioksidan tipine ve depolama süresine duyarlı olduğunu göstermiştir.

4.6. Karabalıkların Peroksit İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Lipit oksidasyonunda doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla meydana gelen birincil oksidasyon ürünleri peroksitlerdir. Bu bakımdan acılaşmanın başlangıç aşamasında oluşan peroksitlerin saptanması çoğu zaman kalite göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yağlarda oksidasyonun bir göstergesi olan peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin miliekivalan olarak miktarını göstermektedir (Baron vd. 2007). Karabalığın buzdolabında saklanması sırasında oluşan peroksit seviyeleri Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Hem kontrol hem de antioksidan filmlerle kaplı karabalık örneklerinde, peroksit değerleri depolama sırasında 12 güne kadar artmış ve daha sonra çalışma sonuna kadar gitgide azalmıştır. Maksimum peroksit değerine ulaşıldıktan sonra, peroksit değeri seviyelerinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş, ileri oksidasyonun bir işaretidir. Depolama süresi ile peroksit değerleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. 12 günlük depolama sırasında, antioksidan içeren filmlere sarılmış olan numunelerdeki peroksit değerleri, kontrol numunelerindekinden anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur. İleri seviyelerdeki bozulma aşamalarında peroksit değerlerindeki azalmaların peroksit moleküllerinin kararsızlığından kaynaklanabileceğini ifade eden çalışmalar bulunmaktadır (Aubourg ve ark. 1989).

Çizelge 4.4. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Peroksit değerleri (N=3)

Buzdolabında depolama süresi (Günler)	**Peroksit değerleri (meq O_2 / kg yağ)**						**p değerleri**
	Kontrol	**Defne**	**Kekik**	**Kimyon**	**Nane**	**Rezene**	
0	7.81 ± 0.01	7.81 ± 0.01	7.81 ± 0.01	7.81 ± 0.01	7.81 ± 0.01	7.81 ± 0.01	
1	8.15 ± 0.01	8.04 ± 0.01	8.09 ± 0.01	8.12 ± 0.01	8.06 ± 0.01	8.07 ± 0.01	
3	8.52 ± 0.01	8.21 ± 0.02	8.39 ± 0.01	8.44 ± 0.02	8.34 ± 0.01	8.46 ± 0.01	
6	12.28 ± 0.01	10.03 ± 0.01	9.76 ± 0.01[a]	10.33 ± 0.01	10.41 ± 0.01[b]	9.88 ± 0.02[c]	0.011;0.022; 0.001
8	14.95 ± 0.01	13.64 ± 0.01	13.55 ± 0.01[a]	13.05 ± 0.01[d]	13.18 ± 0.01	13.47 ± 0.02	0.020; 0.011
10	16.63 ± 0.01	15.26 ± 0.01[e]	14.33 ± 0.01	15.88 ± 0.01[d]	15.91 ± 0.02	16.11 ± 0.01	0.007; 0.023
12	19.16 ± 0.02	17.76 ± 0.01	17.19 ± 0.01	18.57 ± 0.02[d]	19.04 ± 0.01	19.08 ± 0.01	0.021
14	15.90 ± 0.01	14.72 ± 0.01[e]	14.35 ± 0.01[a]	14.56 ± 0.01[d]	14.88 ± 0.01	14.23 ± 0.02	0.033; 0.004; 0.007
16	13.86 ± 0.01	13.50 ± 0.01	13.01 ± 0.01	13.09 ± 0.01	13.12 ± 0.01	13.24 ± 0.01	
Korelasyon Katsayıları	0.987	0.966	0.962	0.965	0.963	0.957	

4.7. Karabalıkların Tiyobarbitürik Asit İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

TBA değeri, lipit oksidasyonu sonucu meydana gelen malonaldehitin miktarını veren oksidasyonun önemli bir göstergesidir (Fan vd. 2009, Özen vd. 2011). Karabalığın buzdolabında saklanması sırasında oluşan tiyobarbitürik asit içerikleri Çizelge 4.5' de gösterilmiştir.

Hem kontrol hem de antioksidan filmlerle paketlenmiş karabalık örneklerinde tiyobarbitürik asit konsantrasyonları depolama sırasında 12 gün boyunca sürekli olarak artmıştır. Depolama süresi ile tiyobarbitürik asit konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Tiyobarbitürik asit konsantrasyonlarındaki belirgin artış, oksidatif bozulma olduğunu göstermektedir. Kontrol grubundaki tiyobarbitürik asit konsantrasyonları diğer örneklerdekilerden daha yüksek bulunmuştur. Bu da, filmlerdeki antioksidanların, ikincil oksidasyon üzerinde daha koruyucu bir etki oluşturduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Tiyobarbitürik asit değerleri (N=3)

Buzdolabında depolama süresi (Günler)	Tiyobarbiturik asit değerleri (mg malonaldehit / kg örnek)						p değerleri
	Kontrol	Defne	Kekik	Kimyon	Nane	Rezene	
0	0.476 ± 0.01	0.476 ± 0.01	0.476 ± 0.01	0.476 ± 0.01	0.476 ± 0.01	0.476 ± 0.01	
1	0.504 ± 0.01	0.498 ± 0.01	0.481 ± 0.01	0.499 ± 0.01	0.480 ± 0.01	0.482 ± 0.01	
3	0.613 ± 0.01	0.533 ± 0.01[a]	0.525 ± 0.01[b]	0.552 ± 0.01[c]	0.492 ± 0.01[d]	0.497 ± 0.01	0.015; 0.046; 0.025; 0.028
6	0.676 ± 0.02	0.564 ± 0.01[a]	0.540 ± 0.01[b]	0.575 ± 0.01[c]	0.507 ± 0.01[d]	0.515 ± 0.01[e]	0.027; 0.017; 0.047; 0.039; 0.001
8	0.762 ± 0.02	0.572 ± 0.01	0.548 ± 0.01[b]	0.622 ± 0.01	0.535 ± 0.01	0.540 ± 0.01	0.008
10	0.769 ± 0.02	0.620 ± 0.02[a]	0.564 ± 0.01	0.661 ± 0.02[c]	0.544 ± 0.01	0.552 ± 0.01	0.004; 0.032
12	0.863 ± 0.02	0.659 ± 0.02[a]	0.579 ± 0.01[b]	0.684 ± 0.02[c]	0.555 ± 0.01	0.564 ± 0.01[e]	0.001; 0.001; 0.047; 0.006
Korelasyon Katsayıları	0.988	0.986	0.972	0.993	0.990	0.996	

4.8. Karabalıkların Sülfidril İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Proteinlerin okside olması ile sülfidril grupları molekül içerisinde veya moleküller arasında disülfit bağları oluşturmaktadırlar ve sülfidril gruplarının miktarı oksidasyonun ilerlemesine bağlı olarak giderek azalmaktadır. Bu nedenle gıdalarda toplam sülfidril miktarının belirlenmesi, proteinlerde meydana gelen oksidasyonun düzeyini anlamada yararlı olmaktadır (Soyer vd. 2010). Proteinlerde ortaya çıkan oksidasyon, sülfidril miktarlarında azalmaya (Martinaud ve ark. 1997), enzimatik aktivitenin ortadan kalkmasına (Stadtman 1990) ve protein çözünürlüğünde de azalış göstermesine (Decker ve ark. 1993) sebep olur. Serbest radikaller tarafından proteinlerin oksidasyona maruz bırakılması süresince, sülfidril grupları disülfitlere (S-S) ve diğer okside ürünlere dönüşür ve -SH miktarında azalma görülür (Dean ve ark. 1997). Karabalığın buzdolabında saklanması sırasında oluşan sülfidril içerikleri Çizelge 4.7' de gösterilmiştir.

Hem kontrol hem de antioksidan filmlerle paketlenmiş karabalık örneklerinde bulunan sülfidril içeriği, soğuk depolama boyunca sürekli olarak azalmıştır. Depolama süresi ile sülfidril içeriği arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Kontrol gruplarında, toplam sülfidril içeriğindeki azalma, örneklerdekilerden daha yüksek bulunmuştur. Literatürde proteinlerin -SH gruplarının antioksidanlara asimile olması ile oluşan serbest radikalleri yakalayabildikleri ve depolama sırasında daha fazla oksidasyonun oluşmasını önleyebildikleri belirtilmektedir.

Çizelge 4.6. Karabalığın soğuk depolanması sırasındaki Sülfidril İçeriği değerleri (N=3)

Buzdolabında depolama süresi (Günler)	**Sülfidril içeriği (µmol / g protein)**						**p değerleri**
	Kontrol	**Defne**	**Kekik**	**Kimyon**	**Nane**	**Rezene**	
0	0.747 ± 0.01	0.747 ± 0.01	0.747 ± 0.01	0.747 ± 0.01	0.747 ± 0.01	0.747 ± 0.01	
1	0.486 ± 0.01	0.628 ± 0.01	0.703 ± 0.01[a]	0.698 ± 0.01[b]	0.672 ± 0.01[c]	0.629 ± 0.01	0.006; 0.027; 0.003
3	0.478 ± 0.01	0.590 ± 0.01	0.519 ± 0.01	0.518 ± 0.01	0.581 ± 0.01	0.537 ± 0.01[d]	0.027
6	0.456 ± 0.01	0.521 ± 0.01	0.513 ± 0.01[a]	0.474 ± 0.01	0.506 ± 0.01	0.529 ± 0.01[d]	0.004; 0.002
8	0.454 ± 0.01	0.502 ± 0.01[e]	0.488 ± 0.01	0.467 ± 0.01	0.484 ± 0.01	0.498 ± 0.01	0.003
10	0.415 ± 0.01	0.493 ± 0.01[e]	0.486 ± 0.01	0.450 ± 0.01	0.448 ± 0.01	0.425 ± 0.01	0.013
12	0.389 ± 0.01	0.411 ± 0.01[e]	0.477 ± 0.01	0.439 ± 0.01	0.426 ± 0.01	0.407 ± 0.01	0.001
Korelasyon Katsayıları	-0.757	-0.945	-0.854	-0.885	-0.960	-0.933	

4.9. İstatistiksel Analizler

Tüm analizler Windows için SPSS sürüm 22.0 (Chicago, II., ABD) ile yapıldı ve $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Veriler varyans (ANOVA) ve ardından Bonferroni'nin post hoc testi ile analiz edildi. İncelenen faktörler arasındaki ilişkiyi bulmak için Pearson korelasyon katsayısının hesaplanması kullanıldı.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gerek balık, gerek tavuk, gerekse de kırmızı etin bozulmadan korunması için günümüz şartlarında çok sayıda yöntem bulunmaktadır. Kurutma, dondurma, tuzlama, vakumlama, koruyucu katkı kimyasalları (nitrat, nitrit, benzoat, sorbat vb.) ekleme ve bazı bitkilerin antioksidan etkilerinden yararlanma bu yöntemlerden bazılarıdır.

Kurutma yönteminde ya pişirerek ya da sucuk gibi gölgede veya güneşte kurutarak ortamdaki nemin uzaklaşması ile mikrobiyolojik etkilerin önüne geçilebilir. Dondurma yönteminde ise bir dondurucuya ihtiyaç duyulur. Sonrasında etin çözünmesi için de uzun bir süre beklemek ya da mikrodalga fırın ile çözdürmek gerekir. Tuzlama yaparak kurutma en eski yöntemlerden biridir. Hem susuz ortam sayesinde, hem de mikrobiyal etkilerin üreyemeyeceği bir ortam haline getirildiğinden bozulma olmadan koruma sağlanmaktadır. Ancak, çok tuzlu olacağından kardiyovasküler (kalp - damar rahatsızlığı) ve hipertansiyon problemlerine yol açacağı için çok fazla tercih edilmemektedir. Koruyucu katkı kimyasalları ekleme yönteminde ise sodyum ve potasyum nitrat, sodyum ve potasyum nitrit, sodyum benzoat, potasyum sorbat gibi kimyasallar yine mikrobiyolojik etkilerin önüne geçebilse de methemoglobinemi, kanser vb. bazı önemli hastalıklara maruziyet vereceğinden dolayı pek tercih edilmemesi gereken bir metottur. Pastırma gibi bazı işlenmiş etleri çemen ile muamele etme yöntemi, çemendeki bir takım baharatların antioksidan etkileri sayesinde ve yine kurutma yöntemi destekli bir muhafaza metodudur. Bazı bitkilerin antioksidan etkilerinden yararlanılan yöntemde de, ya bitki direk ete muamele edilmekte, ya bitkinin sabit yağı veya uçucu yağı yine direk muamele edilmekte, ya da dolaylı yolla etki ettirerek, antioksidan etkili maddelerin yenilebilir filmlere eklenmesi suretiyle 4^{o}C'de buzdolabında bekletilmesi sayesinde muhafaza sağlanmaktadır. Bu yöntemle, çözünmeyi bekleme, mikrodalga fırın gibi maliyetli cihazları bulundurma, tuzlama ile bazı hastalıklara davetiye çıkarma, çemen sosu ile bazı insanları rahatsız etme endişesi ile baş başa kalma, koruyucu katkı kimyasalları ile sağlığımızı riske atma gibi durumları saf dışı bırakabiliriz.

Fenolik bileşikler içerdikleri OH^- gruplarından dolayı serbest radikalleri ortadan kaldırma etkisine sahiptir. Fenolik bileşikler antioksidan aktivitelerini hidrojen vererek gösterirler. Bu bağlamda önemli bir antioksidan kaynağı oldukları ortadadır. Bitkilerin

yapılarında önemli oranda bulunmaları nedeniyle bitki bazlı antioksidan aktivite çalışmalarının öncelikli maddeleri arasındadır.

Farklı 5 uçucu yağ kullanılarak formüle edilen izole soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin balık kıymaları üzerindeki etkilerinin belirlendiği bu çalışmada, antioksidan olarak filmlere ilave edilen kekik, nane, defne, kimyon ve rezene uçucu yağlarının sarımsak, biberiye, nar çekirdeği, susam ve çörekotu uçucu yağlarına oranla (toplam fenolik madde miktarı ve DPPH radikal süpürme etkisi) yüksek antioksidatif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

İnsanların en önemli ve ilk çağlardan bu yana vazgeçemediği besin kaynaklarının başında gelen balıketinin, sağlıklı beslenmede ne kadar etkili ve önemli bir yeri olduğu yapılan araştırmalardan da anlaşılmaktadır. Balığın beyin gelişiminden kalp damar sağlığına, diyabetin önlenmesinden bağışıklık sisteminin güçlenmesine kadar birçok faydasının olduğu bilinmektedir.

Kontrol (yağsız) grubu ve uçucu yağ ilaveli izole soya proteini bazlı yenilebilir film ile sarılmış karabalık kıyması numunelerinde oleik asit düzeyleri incelendiği zaman kontrol grubu ile sarılı balık kıymalarında gün geçtikçe oleik asit düzeylerinde belirgin bir artış görülmektedir. Uçucu yağ ilaveli olanlarda ise 3. güne kadar oleik asit miktarlarında ilk (0. gün) güne nazaran bir miktar azalma görülmekte ve sonrasında tekrar artmaktadır. Bu da bize uçucu yağ ilaveli izole soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin balık kıyması numunelerinde 3 güne kadar antioksidan etki sayesinde koruma sağladığı sonrasında ise bir miktar arttırsa da yağsız yenilebilir filmlere kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir.

Peroksit düzeyleri bakımından incelendiğinde ise gün geçtikçe artan bir grafik görülse de 12. günden sonra tekrar azalma yönlü bir grafik ile karşılaşıyoruz. Bunun dışında oleik asit seviyelerinde olduğu gibi yine kontrol grubu izole soya proteini bazlı yenilebilir film ile sarılı karabalık kıyması numunelerine oranla uçucu yağ ilaveli yenilebilir filmlerin daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.

12 günlük 4^{o}C buzdolabında bekletme gerçekleştirildiğinde tiyobarbitürik asit konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Ayrıca uçucu yağ ilaveli numunelerin kontrol grubundakilerden daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç bize filmlerdeki antioksidanların, ikincil oksidasyon bakımından daha koruyucu bir aktivite oluşturduğunu göstermiştir.

Sülfidril miktarları açısından baktığımızda 10. güne kadar bütün numunelerde bir artış gözlenmektedir. 10. günden sonra ise azalmaya başlamaktadır. Uçucu yağ ilaveli örneklerde yine kontrol grubuna kıyasla tüm günlerde daha fazla sülfidril içermektedir. Bu sonuçlar da bize uçucu yağların lipit oksidasyonunu önlemesi açısından olumlu yönde katkı yaptıklarını göstermektedir.

Tüm sonuçlar dikkate alındığında öne çıkan en önemli nokta bütün analizlerde uçucu yağ ilaveli yenilebilir filmlerle sarılan karabalık örneklerindeki değerlerin uçucu yağ eklenmeyen kontrol gruplarına kıyasla daha olumlu sonuçlar verdiğidir. Dolayısıyla yağ hidrolizinin yavaşlatılmasında ve oksidatif stabilitenin arttırılmasında doğal antioksidanlı yenilebilir filmlerin etkinliği görülmüştür.

Yenilebilir film ve kaplamalar lipit oksidasyonun önlenmesinde, ürün kalitesinin korunmasında ve geliştirilmesinde önemli oranda ümit vadeden teknolojilerdir. Bununla birlikte üzerinde durulması gereken, araştırılması elzem konuların başında gelmelidir. Nitekim insan sağlığına etki edebilen klasik stoklama yöntemlerinin yerine, yenilebilir film kullanımının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Dünyada Hatay bölgesinde bol miktarda bulunup kalan bölgelerde fazla bulunmayan karabalığın bu yöntemle birlikte ihracatı ve yurt içi dağıtımının arttırılabilmesi açısından katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Albertos, I., Martin-Diana, A. B., Burón, M. and Rico, D. 2019. Development of functional bio-based seaweed (Himanthalia elongata and Palmaria palmata) edible films for extending the shelflife of fresh fish burgers. **Food Packaging and Shelf Life**, 22, 100382.

Alen-Ruiz, F., Garcia-Falcon, M.S., Perez-Lamela, M.C., Martinez-Carballo, E., & Simal- Gandara, J., 2009. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines. **Food Chemistry**, 113, 53-60.

Appendini, P. and Hotckiss, J.H., 2002. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 3, 113-126.

Baldwin, E.A., Nisperos- Carriedo, M.O. and Baker, R.A., 1995. Use of Edible Coatings to Preserve Quality of Lightly and Slightly Processed Products. **Critical Reviews in Food and Nutrition**, 35 (6), 509-524.

Barthet, V. J., Gordon, V., & Daun, J., 2008. Evaluation of a colorimetric method for measuring the content of FFA in marine and vegetable oils. **Food Chemistry**, 111, 1064–1068.

Baron, C.P., Kjærsgård, I.V.H., Jessen, F., Jacobsen, C. 2007. Protein and lipid oxidation during frozen storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 8118-8125.

Beddows, C.G., Jagait, C., & Kelly, M.J., 2000. Preservation of α-tocopherol in sunflower oil by herbs and spices. **International Journal of Food Science and Nutrition**, 51, 327–339.

Bhale, S.D., Xu, Z., Prinyawiwatkul, W., King, J.M., & Godber, J.S., 2007. Oregano and rosemary extracts inhibit oxidation of long-chain n-3 fatty acids in men-haden oil. **Journal of Food Science**, 72, C504–C508.

Botsoglu, N.A., Govaris, A., Giannenas, I., Papageorgiou, G., 2007. The Incorporation of Dehydrated Rosemary Leaves in the Rations of Turkeys and Their Impact on the Oxidative Stability of the Produced Raw and Cooked Meat. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 58: 312-320.

Bradenburg, A.H., Weller, C.L., and Testin, R.F., 1993. Edible films and coatings from soy protein. **Journal of Food Science**, 53, 989-998.

Brody, A.L., 2005. Active packaging becomes more active. **Food Technology**, 59 (12), 82-84.

Campbell-Plat, G., 1995. Fermented meats-a world persrective. "*Fermented Meats"*, Ed. Campbell-Plat, G. and Cook, P.E. s. 39-52, **Chapman and Hall, Newyork**, NY.

Cao, Y.M. and Chang, K.C., 2001. Edible films prepared from water extract of soybeans. **Journal of Food Science**, 67 (4); 1449-1454.

Cardoso, L. G., Santos, J. C. P., Camilloto, G. P., Miranda, A. L., Druzian J. I. and Guimaraes, A. G. 2017. Development of active films poly (butylene adipate co-terephthalate) – PBAT incorporated with oregano essential oil and application in fish fillet preservation. **Industrial Crops & Products**, 108,388-197.

Chen, J.Y., Latshaw, J.D., Lee, H.O. and Min, D.B., 1998. Alfa Tocopherol Content and Oxidative Stability of Egg Yolk as Related to Dietary Alfa-tocopherol. **Journal of Food Science**, 63: 1-4.

Cho, S.Y. and Rhee, C., 2002. Sorption Characteristics of Soy Protein Films and their Relation to Mechanical Properties. **Lebensm.-Wiss. u.-Technology**, 35; 151–157.

Cho, S.Y., Park, J.W., Batt, H.P. and Thomas, R.L., 2007. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. **Lebensm.-Wiss. u.-Technology**, 40; 418–423.

Cooksey, K., 2005. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. **Food Additives and Contaminations**, 22(10), 980–987.

Csavas, I., 1994, Status and perspectives of cultiring catfishes in East and Southeast Asia. **Workshop on the biological bases of siluriformes**, Montpellier, France.

Cutter, N.C., 2006. Oppurtunities for bio-based packaging Technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. **Meat Science**, 74, 131-142.

Dance-Barnes, S.T., Kock, N.D., & Moore, J. E., 2009. Lung tumor promotion by curcumin. **Carcinogenesis**, 30, 1016-1023.

Dean, R., T., Stocker, R. and Davies, M. J., 1997. Biochemistry and pathology of radicalmediated protein oxidation. **Journal of Biochemistry**, 324, 1-18.

Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A. and Voilley, A., 1998. Edible Films and Coatings: Tommorrow's Packagings: A.Review. **Critical Reviews in Food Science**, 384 (4); 299 313.

Decker, E. A., E. A., Xiong, X. L., Calvert, J. T., Crum, A. D. and Blanchard, S. P., 1993. Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 41,186-189.

Devlighere, F., Vermeiren, L. and Debevere, J., 2004. New preservation Technologies: possibilities and limitations. Int. **Dairy Journal**, 14; 273-285.

Dong, Z., Xu, F., Ahmed, I., Li, Z. and Lin, H. 2018. Characterization and preservation performance of active polyethylene films containing rosemary and cinnamon essential oils for Pacific white shrimp packaging. **Food Control**, 92,37-46.

Dopico-Garcia, M.S., Castro-Lopez, M.M., Lopez-Vilarino, J.M., Gonzalez-Rodriguez, M.V., Valentao, P., Andrade, P.B., et al., 2011. Natural Extracts as Potential Source of Antioxidants to Stabilize Polyolefins. **Journal of Applied Polymer Science**, 119: 3553-3559.

Ehsani, A., T., Hashemi, M., Afshari, A., Aminzare, M., Raeisi, M. And Tayebeh, Z. 2020. Effect of different types of active biodegradable films containing lactoperoxidase system or sage essential oil on the shelf life of fish burger during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, 117, 118633.

Ersoy, B., 2001. Karabalık (Calarias gariepinus Burchell,1822) ve sarıbenli (Barbus luteus Heckel,1843) köftelerinin dondurularak muhafazası süresince oluşan duyusal, fiziksel ve kimyasal değişikliklerin incelenmesi. **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Anabilim Dalı**, Antakya.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. **Food Chemistry**, 115, 66–70.

Fiorentino, A., Ricci, A., Dabrosca, B., Pacifico, S., Golino, A., Piccolella, S., Monaco, P., 2008. Potential Food Additives from Carex Distachya Roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56: 8218-8225.

Gennadios, A. and Weller, C.L., 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, 44 (10), 63-69.

Gennadios, A. and Weller, C.L., 1991. Edible films and coatings from soymilk and soyprotein. **Cereal Foods World**, 36 (12), 1004.

Gennadios, A., Brandenburg, A. H., Weller, C. L. and Testın, R. F., 1993a. Effect of pH on properties of edible wheat gluten and soy protein isolate films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 41; 1835–1839.

Gennadios, A., Hanna, M.A. and Kurth, L.B., 1997. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 30 (4), 337-350.

Gontard, N., Guılbert, S. and Cuq, J.L. 1992., Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Proces Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, 57 (1); 190-195.

Gontard, N., Thibault, R., Cuq, B. and Guilbert, S., 1996. Influence of Relative Humidity and Film Composition on Oxygen and Carbondioxide Permeabilities of Edible Films. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 44; 1064-1069.

Guillard, V., Broyart, B., Bonazzi, C., Guilbert, S. and Gontard, N., 2003. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: Experimental and mathematical study. **Journal of Food Science**, 68 (7); 2267-2277.

Guillen, M. ve Goicoechea, E., 2008. Formation of Oxygenated Alpha, Beta Unsaturated Aldehydes and Other Toxic Compounds in Sunflower Oil Oxidation at Room Temperature in Closed Receptacles. **Food Chemistry**, 111: 157-164.

Han, J., 2000. Antimicrobial food packaging. **Food Technology**, 54, 56-65.

Houhoula, D.P., Oreopoulou, V., & Tzia, C., 2004. Anti-oxidant efficiency of oregano in frying and storage of fried products. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 106, 746–751.

Karagöz, Z. ve Candoğan, K., 2007. Et teknolojisinde antimikrobiyal ambalajlama. **Gıda**, 32 (3), 113-122.

Karnasuta, J., 1993, Current status of aquaculture in Thailand. **AADCP Workshop Proceedings on Genetics in Aquaculture and Fisheries Management**, 31-33.

Kerry, J.P., O'Grady, M.N., and Hogan, S.A., 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. **Meat Science**, 74, 113-130.

Kester, J.J. and Fennama, O., 1986. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, 40 (12), 47-52.

Koca, O., (2017). Doğal ortamdan yakalanan karabalık (*Clarias Gariepinus*, Burchell, 1822) yavrularının kültüre alınması ve gelişiminin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi**. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**.

Kodal, B., 2008. Antioksidan özellikteki yenilebilir filmlerin sığır kıymasının oksidatif stabilitesine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. **Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**.

Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos-Carriedo, M., 1994. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. **Technomic Publishing Co.Inc. Lancaster, Basal**, 379 s.

Krochta, J.M. and De Mulder-Johnston, C., 1997. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology**, 51(2); 61-74.

Lazarus, C.R., West, R.L., Oblinger, J.L. and Palmer, A.Z., 1976. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. **Journal of Food Science**, 41, 639-641.

Liu, Q., Lanari, M.C. and Schaefer, D.M., 2000. A review of dietary vitamin E Supplementation for improvement of beef quality. **J. Anim. Sci.**, 73, 3131-3150.

Lopez-de-Dicastillo, C., Alonso, J., Catala, R., Gavara, R., Hernandez, M.P., 2010. Improving the Antioxidant Protection of Packaged Food by Incorporating Natural Flavonoids into Ethylene-vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58: 10958-10964.

Martinaud, A., Mercier, T., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P. and Renerre, M., 1997. Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 45, 2481-2487.

Mastromatteo, M., Conte, A., & Del Nobile, M.A., (2010). Combined use of modified atmosphere packaging and natural compounds for food preservation. **Food Engineering Reviews**, 2(1), 28-38.

McCarthy, T. L., Kerry, J. P., Kerry, J. F., & Buckley, D. J., 2001. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork. **Meat Science**, 57(2), 177-184.

McHugh, T.H., 2000. Protein lipid interactions in edible films and coatings. **Nanrung**, 44(3), 148-151.

Murphy, R. R., Renfroe, M., Brevard, P. B., & Gloeckner, J. W., 2009. Cooking does not decrease hydrophilic antioxidant capacity of wild blueberries. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 2(s2), 88-98.

Narin, G., 2003. Gölbaşı gölünde (Hatay) bulunan Clarias Gariepinus (Burchell, 1822) (Karabalık)'ın büyüme ve üreme özellikleri. **Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.

Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L. and Lacroix, M., 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 52 (18): 5598 5605.

Ozen, T., Demirtas, İ., Aksit, H., 2011. Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of Thymus praecox subsp. skorpilii var. Skorpilii. **Food Chemistry**, 124: 58–64.

Ozturk, G., (2009). Likopen içeren yenilebilir filmlerin sığır kıymasının oksidatif stabilitesine etkisi. **Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.

Park, H.J., 1996. Gas and mechanical barrier properties of carrageenan-based biopolymer films. **Food Science and Industry**, 23; 47-53.

Pereira de Abreu, D. A., Paseiro, P., Maroto, J., & Cruz, J.M., 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (Salmo salar L.). **Food Research International**, 43, 1277-1282.

Porcella, M.I., Sánchez, G., Vaudagna, S. R., Zanelli, M. L., Descalzo, A. M., Meichtri, L. H., Gallinger, M. M. and Lasta, J. A., 2001. Soy protein isolate added to vacuum-packaged *chorizos*: effect on drip loss, quality characteristics and stability during refrigerated storage. **Meat Science**, 5 (4); 437-443.

Pszczola, D.E., 2001. Antioxidants: From Preserving Food Quality to Quality of Life. **Food Technology**, 55(6): 51-59.

Ramos, M., Sanahuja, A.B., Peltzer, M., & Garrigos, M.C., 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. **Food Science and Technology**, 58(2), 470-477.

Rayner, M., Ciolfi, V., Maves, B., Stedman, P. and Mittal, G.S., 2000. Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods. **J Sci Food Agric.**, 80; 777-782.

Rooney, M.L., 1995. Active packaging in polymer films. In: **Active food packaging.** Rooney, M.L. (Ed.), Blackie Academic and Proffessional, London, pp. 74-110

Shahidi, F. and Rubin, L.J., 1987. Control of Lipit Oxidation in Cooked meats by combination of antioxidants and chelators. **Food Chemistry**, 23; 151-157.

Shaw, N.B, Monahan, F.J, O'Riordan, E.D. and O'Sullivan, M., 2002. Physical properties of WPI films plasticized with glycerol, xylitol, or sorbitol. **Journal of Food Science**. 67 (1); 164-167.

Soyer, A., Ozalp, B., Dalmis, U., Bilgin, V., 2010. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. **Food Chemistry**, 120, 1025–1030.

Stadtman, E. R., 1990. Metal-ion-catalysed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. **Free Radical Biology and Medicine**, 8, 315-325.

Swain, S.N, Biswal, S.M, Nanda, P.K and Nayak, P.L., 2004. Biodegredable soy-based plastics: Opportunities and challenges. **Journal of Polymers and the Environment**, 12 (1); 35-42.

Temiz, H. ve Yeşilsu, A.F., 2006. Bitkisel protein kaynaklı yenilebilir film ve kaplamalar. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 2; 41-50.

Teugels, G., 1984, The nomenclature of African Clarias species used in aquaculture. **Aquaculture**, 38, 373-374.

Tharanathan, R.N., 2003. Biodegradable fİlms and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, 14; 71-78.

Vartiainen, J., Motion, R., Kulonen, H., Rattö, M., Skytta, E. and Ahvenainen, R., 2004. Chitosan-coated paper: effects of nisin and different acids on the antimicrobial activity. **Journal of Applied Polymer Science**, 94, 986-993.

Vermeiren, L., Devlighere, F., Van Beest, M., de Kruijf, N. and Debevere, J., 1999. Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science and Technology**, 10, 77-86.

Weller, C.L., Gennaidos, A. and Saraiva, R.A., 1998. Edible blayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **LebensmWiss. U.-Technology**, 31(3), 279-285.

Yoshida, C.M.P., Antunes, A.C.B., Alvear, C. and Antunes, A. J., 2005. An absorption model for the thickness effect in hydrophilic films. **International Journal of Food Science and Technology**, 40 (1); 41-46.