



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BİTKİ TÜRLERİNDEN ELDE
EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN BİOKAPLAMA
MALZEMELERDE KULLANIMI**

Mihrap MASAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Aralık-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BİTKİ TÜRLERİNDEN ELDE
EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN BİOKAPLAMA
MALZEMELERDE KULLANIMI**

Mihrap MASAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sedat BOZARI

Aralık-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Mihrap MASAT tarafından hazırlanan “Farklı Bitki Türlerinden Elde Edilen Uçucu Yağların Biokaplama Malzemelerde Kullanımı” adlı tez çalışması 06/10/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA
Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

.....

Danışman

Doç. Dr. Sedat BOZARI
Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

.....

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Tülay ÖZHAN BAKIR
Bingöl Üniversitesi, Spor Bilimleri Fakültesi
Antrenörlük Eğitimi Bölümü

.....

Doç. Dr. Selçuk SAĞIR
FBE Müdürü

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu / / Tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi BAP birimi tarafından BAP-20-FEF-4902-02 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Mihrap MASAT
Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI BİTKİ TÜRLERİNDEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN BİOKAPLAMA MALZEMELERDE KULLANIMI

Mihrap MASAT

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sedat BOZARI

Geleneksel plastik ambalajların yol açtığı ekolojik ve çevresel sorunlar ile artan gıda güvenliği bilinci, alternatif ambalaj malzemelerine yönelimi arttırmıştır. Bu sebeple gerek gıdanın raf ömrünü uzatabilmek gerekse besin değerini korumak için çeşitli ambalaj malzemeleri geliştirilmektedir. Bu ambalajlardan biyobozunur karaktere sahip olup çevre kirliliğinin önleyen ve aynı zamanda gıdaların raf ömrünün uzamasına yardımcı olan biyokaplama malzemeleri öne çıkmaktadır. Bu çalışmada *Satureja hortensis*, *Origanum rotundifolium* ve *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel bitkilerinden elde edilen uçucu yağlarla biyokaplama malzemelerin geliştirilmesi amaçlandı. Üretilen kompozitlerin *E. intermedius*, *P. syringae* ve *L. monocytogenes* patojenlerine karşı aktiviteleri incelendi. Ayrıca biyokaplama filmlerinin FTIR analizleri yapılarak yüzeysel fonksiyonları değerlendirildi. Her üç uçucu yağın saf olarak uygulandığı patojenlere karşı 10-640 µL/mL dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri gözlemlendi. Uçucu yağlarla hazırlanan malzemelerin kaplama yapılmadan uygulandıkları mikroorganizmaların gelişimini *P. syringae* dışında engellediği, fakat bu etkinin saf uygulamaya göre düşük olduğu tespit edildi. Hazırlanan kompozitlerin daldırma yöntemiyle uygulandıkları gıdalarda 24 saat sonunda bakteriyel yükü (log CFU/g) önemli sayılabilecek derecelerde düşüremedikleri belirlendi. Mikrobiyal aktiviteler karşılaştırıldığında en yüksek aktivitenin saf halde yapılan uygulamalarda en düşük aktivitenin ise kaplama işlemlerinde gerçekleştiği görüldü.

2023, 59 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Biyokaplama, FTIR, Gıda Katkı Maddeleri, Patojen, Raf Ömrü, Uçucu yağlar

ABSTRACT

MS THESIS

THE USE OF ESSENTIAL OILS OBTAINED FROM DIFFERENT PLANT SPECIES IN BIOCOATING MATERIALS

Mihrap MASAT

Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Sedat BOZARI

The ecological and environmental problems caused by traditional plastic packaging and the increasing awareness of food safety have increased the trend towards alternative packaging materials. For this reason, various packaging materials are being developed both to extend the shelf life of food and to preserve its nutritional value. Among these packages, bio-coating materials, which have biodegradable characteristics and prevent environmental pollution and help to extend the shelf life of foods, stand out. The aim of this study was to develop bio-coating materials with essential oils obtained from *Satureja hortensis*, *Origanum rotundifolium* and *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. The activities of produced bio-coating against *E. intermedium*, *P. syringae*, and *L. monocytogenes* pathogens were examined. Additionally, the surface functionalities of bio-coating films were assessed through FTIR analyses. Statistically significant antimicrobial activity was observed at doses ranging from 10 to 640 µL/mL when each of the three essential oils was applied in pure form against the pathogens. It was found that the materials prepared with essential oils inhibited the growth of the microorganisms to which they were applied without coating, except *P. syringae*, but this effect was lower than the pure application. It was determined that the prepared composites did not significantly reduce the bacterial load (log CFU/g) at the end of 24 hours in the foods they were applied by dipping method. When comparing microbial activities, it was observed that the highest activity occurred in applications done in pure form, while the lowest activity occurred in coating processes.

2023, 59 Page

Keywords: Antimicrobial, Biocoating, Essential oils, FTIR, Food Additives, Pathogen, Shelf Life

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenerek, her aşamada bana rehberlik eden, bilgi ve tecrübeleriyle destek olan, öğrencisi olmakla her zaman gurur duyacağım çok değerli hocam Doç. Dr. Sedat BOZARI' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin uygulamalı kısımlarında yine değerli bilgileriyle bana ışık tutan ve aydınlatan değerli hocalarım Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ, Dr. Sefa IŞIK ve Doç. Dr. Zeynal TOPALCENGİZ'e çok teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgileriyle bana tecrübeler kazandıran Muş Alparslan Üniversitesi Biyoloji Bölümündeki tüm hocalarıma emekleri için teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar aşamasında yardımlarıyla destek olan sevgili Eren AYDIN'a ve değerli arkadaşım Dilan YURTDAS'a, yanımda olmasa da desteğini hep hissettiğim sevgili arkadaşım Ceylan AK'a teşekkür ederim.

Her türlü iş ve işlemlerde yardımcı olan Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü personeline ve bütün hayatım boyunca büyük bir sabır ve alaka ile beni destekledikleri için aileme en içten dileklerimle şükranlarımı arz ederim.

Mihrap MASAT
MUŞ-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Gıdaların Raf Ömrünü Etkileyen Faktörler.....	3
1.1.1 Sıcaklığın etkisi.....	3
1.1.2 Su aktivitesinin etkisi	3
1.1.3 Gaz kombinasyonlarının etkisi.....	4
1.1.4 Işığın etkisi	4
1.1.5 pH'nin etkisi.....	4
1.2 Gıdalarda Kullanılan Katkı Maddeleri	5
1.2.1 Aroma ve renklendiriciler	5
1.2.2 Besinlerin görünüş, şekil ve kıvamını düzeltenler	5
1.2.3 Besin değerini koruyucu ve geliştiriciler	6
1.2.4 Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar	6
1.2.4.1 Antimikrobiallar	6
1.2.4.2 Antioksidanlar	7
1.3 Raf Ömrünün Belirlenmesi	7
1.4 Raf Ömrünün Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	7
1.4.1 Direkt metot	8
1.4.2 İndirekt metot	8
1.4.2.1 Hızlandırılmış testler.....	8
1.4.2.2 Mikrobiyal tahminleme modelleri	8
1.5 Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	8
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	10
2.1 Bazı Gıda Patojenleri ve Etkileri.....	12
2.1.1 <i>Pseudomonas syringae</i>	13
2.1.2 <i>Enterobacter intermedium</i>	13
2.1.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	13
2.2 Bitkilerde Bulunan Antimikrobiyal ve Antioksidan Bileşikler.....	14
2.2.1 Organik Asitler.....	14
2.2.2 Fenolik Bileşikler	15
2.2.3 Uçucu Yağlar	15
2.3 <i>Satureja hortensis</i> L.	16
2.4 <i>Lavandula x intermedia</i> Emeric ex Loisel	17

2.5 <i>Origanum rotundifolium</i> Boiss.	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	21
3.1 Materyal	21
3.1.1 Bitki materyali.....	21
3.1.2 Kullanılan mikroorganizmalar	21
3.1.3 Kullanılan ekipmanlar	21
3.2 Yöntem.....	22
3.2.1 Uçucu yağların elde edilmesi	22
3.2.2 Mikroorganizmaların hazırlanması	22
3.2.3 MIC (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerinin hesaplanması.....	23
3.2.4.Disk difüzyon yöntemi.....	23
3.2.5 Biyokaplama filmi üretimi	23
3.2.6 Biyokaplama malzemesinin gıdaya uygulanması	24
3.2.7 Seçici besiyerlerin hazırlanması ve bakteri ekim aşaması	25
3.2.8 Biyokaplama filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi	26
3.2.9 FTIR analizleri	27
3.2.10 İstatistiksel analiz	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	28
4.1 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	28
4.2 Kaplama Filmlerinin Etkisinin Belirlenmesi	35
4.2.1 <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri.....	35
4.2.2 <i>Origanum rotundifolium</i> uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri.....	36
4.2.3 <i>Lavandula x intermedia</i> uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri.....	36
4.3 Kaplama Malzemelerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	37
4.4 FTIR Analiz Sonuçlar	38
4.4.1 Yüzeysel fonksiyonel grup analiz sonuçları	38
4.4.2 Üretilen biyoplastik ürünlerin mikroskopik görüntüleri	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
5.1 Öneriler	47
KAYNAKLAR.....	49

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
µL	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
°C	: Santigrat derece
pH	: Hidrojen kuvveti
cm ⁻¹	: Dalga sayısı

Kısaltmalar

AFB ₁	: Aflatoksin B ₁
CFU	: Colony Forming Unit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
g	: gram
MAP	: Modifiye atmosferde paketlenme
mg	: Miligram
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
MSG	: Monosodyum glutamat
MYO	: Meslek yüksekokulu
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
sp.	: Species
subsp.	: Subspecies
Tgaz	: Transglutaminaz
TSA	: Tryptic soy agar
TSB	: Tryptic soy broth
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>Satureja hortensis</i> 'in genel görünümü (Anonim, 2023b)	17
Şekil 2.2 <i>Lavandula x intermedia</i> 'nın genel görünümü (Foto:S.Bozarı,2023)	18
Şekil 2.3 <i>Origanum rotundifolium</i> BOISS. (Anonim, 2023a).....	19
Şekil 3.1 Clevenger hidrodistilasyon mekanizmasında <i>Thuja orientalis</i> uçucu yağlarının eldesi (solda)	22
Şekil 3.2 Kaplama işleminden önce yüzeysel sterilizasyonu yapılmış domateslerin steril kaplara alınması.....	24
Şekil 3.3 Daldırma yöntemiyle biyokaplama malzemesinin domates örneklerine uygulanması	25
Şekil 3.4 Uçucu yağ içeren ve içermeyen biyokaplama malzemesinin (5x5 mm) steril kabinde besiyerlerine eklenmesi	26
Şekil 4.1 <i>Satureja hortensis</i> esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. intermedius</i> , <i>P. syringae</i> bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseldeki sıralamaya göre yazılmıştır)	30
Şekil 4.2 <i>Origanum rotundifolium</i> esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. intermedius</i> , <i>P. syringae</i> bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseldeki sıralamaya göre yazılmıştır)	31
Şekil 4.3 <i>Lavandula x intermedia</i> 'dan esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. intermedius</i> , <i>P. syringae</i> bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseldeki sıralamaya göre yazılmıştır)	33
Şekil 4.4 <i>Satureja hortensis</i> (S), <i>Origanum rotundifolium</i> (O), <i>Lavandula x intermedia</i> (L) esansiyel yağlarını içeren ve içermeyen kaplama malzemelerinin uygulandıkları mikroorganizmalarda oluşturdukları zonlar.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan bitki patojenleri ve kaynakları	21
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan cihazlar	21
Çizelge 3.3 Uygulama yapılan domates meyvelerindeki kaplama durumu	24
Çizelge 4.1 <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri	29
Çizelge 4.2. <i>Origanum rotundifolium</i> uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri.....	32
Çizelge 4.3 <i>Lavandula x intermedia</i> uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri.....	34
Çizelge 4.4 <i>Satureja hortensis</i> uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri.....	36
Çizelge 4.5 <i>Origanum rotundifolium</i> uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri.....	36
Çizelge 4.6 <i>Lavandula x intermedia</i> uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri.....	37
Çizelge 4.7 Uçucu yağ içeren ve içermeyen jelatin örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri	37

1. GİRİŞ

Canlıların metabolik faaliyetlerini ve tüm yaşamsal aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için enerjiye ihtiyaçları vardır. Gereken bu enerjiyi yediğimiz besinlerden karşılarız. Bu nedenle beslenme canlılar için temel bir ihtiyaçtır. Teknolojinin gelişmesi, yaşam şeklimizin değişmesiyle birlikte beslenme alışkanlıklarımız da zamanla değişmiştir. Günümüzde çalışan kesimin artmasıyla pratik ve kolay hazırlanabilen gıdaların tüketimine olan talep de artmaya başlamıştır. Artan talepler gıda sektöründe gıdalarla birlikte tüketilebilecek ve gıdaların görünümünü cazip hale getirip lezzetini artırarak tüketicinin hoşuna gidecek şekilde çeşitli maddelerin eklenmesine sebep olmuştur (Karatepe ve Ekerbiçer, 2017).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne (TGK, 2020) göre, *“tek başına gıda olarak tüketilmeyen, gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya imalat sırasında kalıntı veya türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak ve düzeltmek amacıyla kullanılmasına izin verilen maddeler”* gıda katkı maddesi olarak tanımlanmaktadır.

Gıda katkı maddelerinin gıdalarda kullanımı eski çağlara dayanmaktadır. İnsanoğlu gıdaları uzun süre korumak için tuzlama, tütüleme, şeker ekleme veya aroma vermek için baharatlama gibi işlemler kullanmıştır (Boran, 2016). Çok eski zamanlara dayanan bu uygulamalar farklı toplumlarda farklı şekillerde gerçekleştirilmiştir. Örneğin, Mısırlılar ilk kez gıda boyalarını kullanmışlardır. Kızılderililer eti uzun süre saklayabilmek için dondurarak, Hunlar ise sucuk, pastırma veya kavurma yaparak uzun süre koruyabilmişlerdir (Boğa ve Binokay, 2010). Günümüzde de bu yöntemler kullanılmaya devam etmekle birlikte teknolojinin gelişmesiyle farklı yöntemler de geliştirilmekte ve kullanılmaktadır.

Gıda bozulmalarının temel nedenlerinden biri de gıdaların oksidasyonudur. Gıdanın tat, doku ve besin içeriğini olumsuz etkileyen oksidasyon süreci çürümeyle sonuçlanır. Orijinal özellikleri bozulmadan gıdaların raf ömrünü uzatmak için birçok katkı maddesi kullanılmaktadır. Bu besin maddelerinin raf ömrünü uzatmak ve buna sebep olan oksidasyonu engellemek için birçok sentetik antioksidan ve kimyasallar

kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların canlılar üzerinde kanserojen etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Bulca, 2014). Bu sentetik kimyasalların ve antioksidanların yerine bitkilerden elde edilen doğal bileşenler kullanılabilir. Özellikle bitkilerde bulunan uçucu yağ bileşenleri birçok tıbbi ilacın ham maddesidir. Bu aromatik bileşenler uçucu yağlar bakımından oldukça zengindir ve birçok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Bunlar dışında bitkilerden sentezlenen diğer sekonder bileşenler (flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, berberin) farklı biyolojik aktivite gösterebilmektedir (Karasu ve Öztürk, 2014).

Doymamış yağ asidi içerikli olan gıdalar lipit oksidasyonuna maruz kalarak bozulmalar gösterirler. Oksidasyonu geciktirmek için antioksidan içeriğe sahip bitki ve baharatlar kullanılan doğal yöntemlerdendir. Karanfil, zencefil, kekik, nane, adaçayı, zerdeçal kullanılan güçlü antioksidan içerikli bitkilerdir (Çoban ve Patır, 2010). Süt ve süt ürünlerindeki lipit oksidasyonunu geciktirmek için sarımsak, fesleğen, nane, kekik, biberiye gibi bitkilerin antioksidan bileşikleri kullanılmaktadır (Baladura ve Şimşek, 2014). Yiyeceklerin bozulmasıyla tadında, kokusunda, görünüşünde hatta yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu etkileri azaltabilmek için kullanılan yöntemlerden biri de ürünü kaplayan, onlarla tüketilebilen ve aynı zamanda ürünün raf ömrünü uzatabilen yaygın olarak kullanılan film/ambalaj teknolojisidir. Bu ambalajların yapımında da yaban mersini gibi güçlü etkiye sahip antimikrobiyal ve antioksidan içerikli uçucu yağ içeren aromatik bitkiler kullanılmaktadır. Uçucu yağlarda bulunan fenolik bileşikler, antioksidanlar film ve ambalajların yapısına katılarak bazı ürünlerin raf ömrünü uzatmada etkili olabileceği düşünülmektedir. (Çoban ve ark., 2018). Yenilebilir bu ambalajlar; polisakkarit, protein, lipitlerin başka bileşenlerle bir araya getirilerek oluşturulan daha karmaşık yapıları kompozit bazlı kaplamalardır. Polisakkarit bazlı kaplamalarda yosunlardan, fesleğenden, kaktüsten, *Aloe vera*'dan elde edilen bitki ekstraktları, protein bazlı kaplamalarda mısır, yer fıstığı, buğday, ay çiçeği, pamuk tohumundan elde edilen proteinler; lipit bazlı kaplamalarda ise doğal mum ve antioksidan etkiye sahip uçucu yağlar içeren bitki ekstraktları tercih edilir (Kozlu ve Elmacı, 2019). Taze sebze ve meyvelerin uzun ömürlü olması için modifiye atmosferde paketlenme (MAP) yöntemi de buna benzer bir yöntemdir. Bu yöntemde bir polisakkarit çeşidi olan kitosan ve bununla kombine edilmiş antioksidan etkiye sahip bitki bileşenleri kullanılmıştır (Öz ve Süfer, 2013).

Raf ömrü uzatımında kullanılan bir diğer yöntem son yıllarda uygulanan gıda ışınlama teknolojisidir. Işınlama teknolojisiyle, gıdalarda (özellikle su ürünleri, tavuk, et

ürünleri) gelişebilecek patojen bakterilerin, böcek yumurtası veya larvalarının genomunu tahrip edilerek gelişimleri önlenmektedir (Atasever ve Atasever, 2007).

1.1 Gıdaların Raf Ömrünü Etkileyen Faktörler

Gıda endüstrisinde ürünlerin raf ömrü, tüketiciye güvenli ve kaliteli ürünler sunma açısından büyük bir öneme sahiptir. Birçok faktör, gıdaların raf ömrünü etkileyebilir. Bu faktörlerin doğru bir şekilde anlaşılması ve yönetilmesi, gıda endüstrisi için hayati önem taşır. Raf ömrü, bir gıdanın güvenliği ve kalitesinin korunarak, belirtilen depolama koşullarında tutulabildiği sürenin uzunluğudur. Bir gıdanın raf ömrü; gıdanın üretildiği zaman başlar ve imalat süreci, ambalaj tipi, depolama koşulları, çevredeki gaz konsantrasyonları ve ürün içeriği gibi birçok faktörden etkilenir. Gıdaların raf ömrünü etkileyen değişkenler sıcaklık, basınç, pH, su aktivitesi, bağıl nem, metal iyonları, oksidasyon ve ışık şeklinde sıralanabilir (Armutak ve Bayındırlı, 1995).

1.1.1 Sıcaklığın etkisi

Sıcaklık, gıdalardaki biyokimyasal tepkimeleri etkileyerek bozulmalara neden olabilir. Sıcaklıkla birlikte gıdalarda mikroorganizma aktivitesi ve üremesi, oksidasyon-reduksiyon olayları, enzimatik parçalanmalar artar. Sıcaklık azalınca gıdaların yapısında bulunan enzimlerin aktivasyonu azalacağından raf ömrü uzamış olur (Gökmen ve Öztan, 1995). Bununla birlikte yüksek sıcaklıklarda su kaybıyla birlikte gıdalarda renk değişimlerinin olduğu fakat ürünlerin raf ömürlerinin bu şekilde artabileceği vurgulanmıştır (Doğan ve ark., 2014). Yüksek sıcaklık sadece işlenmemiş gıdalarda değil işlenmiş gıdalarda da koruyucu etki gösterebilmektedir. Örneğin kızartılmış tavuk ürünlerinin kızartma sıcaklıklarının enfekte edilen mikroorganizmaların buluşma oranını etkilediği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Wang ve ark., 2020).

1.1.2 Su aktivitesinin etkisi

Su buharının kısmi basıncının saf suyun buhar basıncına oranına su aktivitesi denir. Gıdalardaki su aktivitesinin artması mikroorganizmaların faaliyetlerini artırarak bozulmalara yol açar. Bu durumu engellemek için gıdada bulunan suyu dondurup bağlayarak enzimatik faaliyetler azaltılır. Böylece mikroorganizmaların çoğalmasının önüne geçilmiş olur ve gıda bozulması yavaşlar (Gökmen ve Öztan, 1995). Mikroorganizma gelişimini tetikleyen su veya nemin etkisini minimize etmek için

dondurma işleminde nem tutucu filtrelerin de raf ömrü üzerine pozitif etkilerinin olduğu görülmüştür (Çolak ve ark., 2011).

1.1.3 Gaz kombinasyonlarının etkisi

Gazların depolanmış gıdalar üzerine etkileri, buldukları oranlara bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin, ham olarak toplanmış gıdaların olgunlaşması için nitrojen, anaerobik saldırılara karşı korunmaları için oksijen, patojen saldırıları ve bazı kalite özelliklerinin artması için ise karbonmonoksitin gerekli olduğu vurgulanmıştır (Arah ve ark., 2015). Öte yandan gıda maddeleri ve havadaki oksijen arasında tepkimeler ve etkileşimler meydana gelebilir. Oksidasyon olarak bilinen bu durumda oksijen, besinlerin yağ, protein ve karbonhidrat içeriklerine etki ederek kalitelerinin düşmesine sebep olur. Ayrıca bazı bakır ve demir gibi metal iyonları, sıcaklık, su aktivitesi, ışık oksidasyonu hızlandıran faktörlerdir. Oksidasyon sonucunda besinlerde renk, tat ve koku değişimi, toksik ürün oluşumu, besleyici içeriklerinin azalması gibi etkiler gözlemlenir (Çakmakçı ve Gökalp, 1992). Oksidasyon besinlerin vakumlanmasıyla sınırlandırılabilir veya oksidasyonu önlemek için antioksidanlar kullanılabilir. Serbest oksijenin bloke edilmesi dışında gıdayla temasının kesilmesi de raf ömrüne etki etmektedir. Konservelerde bu durum göz önüne alınarak işlemler yapılmaktadır. Oksijen aynı zamanda aerobik mikroorganizmaların gelişimini sağladığından gıdalarla temasının kesilmesi önem arz etmektedir.

1.1.4 Işığın etkisi

Yiyeceklerin UV, radyasyon ve görünür ışıklara maruz kalmasıyla yapısında bulunan vitaminlerin, proteinlerin, renklerinin bozulmasına ve oksidasyona sebep olarak tatlarının azalmasına sebep olur. Bu yüzden yiyeceklerin saklandığı depolarda oksidasyonu yavaşlatmak için fazla ışıklandırmadan kaçınılmalıdır. Işık oksidasyon tepkimeleri için gerekli enerjini kaynağıdır (Koçak ve Halkman, 2006).

1.1.5 pH'nin etkisi

Besinlerin raf ömrünü etkileyen faktörlerden birisi de pH değeridir. pH özellikle gıdalarda oluşan mikroorganizmalarının çoğalmasını önleyerek raf ömrünün uzamasını sağlar. Bazı mikroorganizmalar pH'nin düşük olduğu asidik ortamlarda gelişemezler. Bakteriler böyle ortamlarda gelişim göstermezken küf ve maya gibi organizmalar düşük pH'ye dayanıklı olduklarından bu tür besinlerin bozulmasına sebep olabilir. Çoğu

bakterinin pH 4,5 altı ile 9,0 üzerinde gelişemedikleri, küf ve mayaların ise 1,5 pH altı ile 8,0 pH üstünde gelişemedikleri belirtilmiştir (Koçak ve Halkman, 2006). Renk ve doku üzerinde etkisi olan pH değerinin gıdadaki pigmentleri etkilediği bunun yanı sıra gıdanın işlenmesi sırasında; denatürasyon, jelleşme, enzimatik aktiviteler, mikroorganizmaların büyümesi ve ölümü, bakteri sporlarının çimlenmesi veya inaktivasyonu gibi kimyasal reaksiyonlar ile birçok olay ve süreci etkileyebileceği vurgulanmıştır (Andrés-Bello ve ark., 2013).

1.2 Gıdalarda Kullanılan Katkı Maddeleri

Gıdalarda kullanılan katkı maddeleri besin öğelerinin kaybını önlemek, besinin kalitesini artırmak, ziyan olmasını önlemek, görünüşünü güzelleştirip renk vermek, kokusunu, tadını hoşla gidecek şekilde yapmak ve raf ömrünü uzatmak için kullanılır. Temel halde herhangi bir katkı maddesi içermeyen gıdalar işlenip başka bir gıdaya dönüştürülmek istendiğinde farklı katkı maddelerinin kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde sayıları 2500'ü aşan katkı maddelerinin kullanımları kabul görmüş olsa da tamamıyla tartışmasız oldukları söylenemez (Branen ve ark., 2001). Gıdalarda kullanılan katkı maddelerinin bazıları doğal bazıları ise sentetik olarak üretilmiş bir takım maddelerden oluşmuştur (Özkaya, 2004).

1.2.1 Aroma ve renklendiriciler

Ürünü daha cazip bir hale getirmek için sakkarin veya monosodyum glutamat (MSG) gibi aroma arttırıcı maddeler kullanılır. MSG bulantı, baş dönmesi, çarpıntı; çocuklarda üşüme veya titremeye sebep olabilir (Boğa ve Binokay, 2010). Gıdalarda tartrazin, eritrosin, indigotin gibi boya maddeleri kaybolan rengi kazandırmak, tüketiciye beğendirmek veya renksiz bir maddeyi renklendirmek için kullanılır (Karatepe ve Ekerbiçer, 2017). Sentetik renklendiriciler ya tam sentez ile ya da öncül gıdaların modifikasyonu ile elde edilir (König, 2015).

1.2.2 Besinlerin görünüş, şekil ve kıvamını düzeltenler

Kıvam arttırıcılar, gıdaların kıvamını ve tekstürünü iyileştirmek için kullanılırlar. Örneğin, jeller, emülgatörler, stabilizatörler gibi maddeler kıvam arttırıcı olarak kullanılır. Kıvam arttırıcılar, gıdalara istenen yapıyı vererek ürünlerin daha iyi bir doku ve hissiyat sağlamasına yardımcı olur (Imeson, 2011). Emülsifiyeler (lesitin, mono ve digliseritler), berraklaştırıcılar, kristalleri ve topaklanmayı önleyiciler, stabilizörler, kıvam arttırıcılar

(nişasta, pektin, gamarabik, aljinat), mayalanmayı sağlayan ajanlar bu amaçla kullanılan maddelerdendir (Özkaya, 2004).

1.2.3 Besin değerini koruyucu ve geliştiriciler

Gıdaların besin kalitesini iyileştirmek veya sürdürmek için gıdalara vitaminler, mineraller, amino asitler, yağ asitleri gibi bileşikler eklenmektedir. Örneğin, işleme sırasında kaybolan maddelerin yerine B1, B2, niasin, A ve D gibi vitaminler eklenerek besinler geliştirilebilir (Erkan, 2010). Bu katkı maddelerinin başka bir kullanımı da gıdadaki beslenme durumunu iyileştirmek veya besinsel yetersizliği düzeltmek için olabilir (Swanson ve Evenson, 2002).

1.2.4 Kaliteyi koruyarak raf ömrünü uzatanlar

Gıdaların besin kalitesi içerdikleri bileşenlerle ölçülür. Yapısındaki karbonhidrat yağ, protein ve vitamin gibi bileşenlerin yoğunluğu ve çeşitliliği endojen kaynaklı etkileşimlerle değişebilir. Bu tür bozulmaların en büyük nedeni mikrobiyal bozulmalardır. Bunun için kullanılan katkı maddeleri aşağıdaki gibidir.

1.2.4.1 Antimikrobiyaller

Gıda katkı maddelerinin önemli bir sınıfını oluşturup gıdaların bozulmasına sebep olan maya, küf, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmanın gelişimini, faaliyetini engelleyen maddelerdir. Kullanılan maddelerin özellikleri, antimikrobiyal spektrumları, gıdalardaki antimikrobiyal etkinlikleri ve etki mekanizmaları önem arz etmektedir (Davidson ve Juneja, 1990). En yaygın kullanılan antimikrobiyaller nitrit, nitrat, sorbik asit, benzoik asit ve tuzları, propiyonik asit ve tuzları, asetik asit, laktatlar, natamisin, lizozim, sülfite ve kükürtdioksittir. Nitrit ve nitrat bileşikleri et, balık, bazı peynirlerde lipid oksidasyonunu engelleyici olarak; benzoik asit ve tuzları turşu, margarin, meyve suyu, ketçap ve reçelde küf ve mayalara karşı koruyucu olarak; kükürtlü bileşikler, kuru meyvelerin renginin ve tadının korunmasında mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak kullanılmaktadır. Sorbik asit ve tuzları düşük asidik özeliğinden dolayı kek, peynir, balık, ketçap, margarin ve soslarda kullanılmaktadır (Öztürkcan ve Sıla, 2017). Propiyonik asit ve tuzları fırıncılık ürünlerinde, peynirlerde, incir, kiraz, üzüm ve fasulyede küf çoğalmasını geciktirmek için kullanılan antimikrobiyallerdir.

Son yıllarda kimyasal içerikli koruyucuların en aza indirgenmiş olduğu ürünler tercih edilmektedir. Buda yeni tip doğal hayvansal, bitkisel ve mikroorganizma kökenli

antimikrobiyallerin kullanım olasılıklarının değerlendirilmesini artırmıştır. Özellikle hayvansal kökenli olan lizozim enzimi Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri hücrelerinin parçalanmasını sağlar. Tarçın, karanfil, kekik gibi bitkilerde bulunan sinnamik, ferulik, gallik asit gibi fenolik bileşiklerin *Listeria monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmüştür. Ayrıca bazı bakterilerin metabolizma ürünleri diğer patojen bakterilerin ve küflerin gelişmesini önlemiştir. Örneğin; laktik asit bakterileri bakteriyosin ürettikleri için birçok fermente üründe koruyucu olarak kullanılabilirler (Arslan, 2011).

1.2.4.2 Antioksidanlar

Besinlerin raf ömrünü uzatmak için kullanılan koruyuculardan biri de antioksidanlardır. Antioksidanlar özellikle lipit ve lipit içeren gıdalardaki oksidasyonu geciktirerek ransit tat oluşumunu, renk değişimini ve besin değerinin azalmasını engelleyerek gıda bozulmalarının önüne geçer. Temelde antioksidanlar oksidasyonu geri çevirmezler gıdalara eklenerek oksidasyonu geciktirirler. Antioksidanlar yapay ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki grupta sınıflandırılır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

1.3 Raf Ömrünün Belirlenmesi

Raf ömrü bir gıdanın belirli koşullar altında üretim ve paketlemeden sonra tanımlanmış depolama koşulları altında güvenli ve kullanıma uygun kalacağı süre olarak tanımlanmaktadır (Man, 2015). Raf ömrü süresi ürün satışı gönderilmeden önce üreticiler tarafından belirlenir. Raf ömrü süresi her ürün için farklılık göstermektedir. Peynir, balık, et, sebze-meyveler, fırıncılık ürünleri, dondurulmuş ürünler için farklı bekleme koşulları ve raf ömrü süreleri belirlenmektedir. Sıcaklık, nem, oksijen, ışık, ambalajlama yöntemleri ve depolama koşulları gibi çevresel faktörler gıdaların raf ömrüne etki eden faktörlerdendir (Özdemir, 1998).

1.4 Raf Ömrünün Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Gıdaların üzerinde bulunan kullanım tarihi ve son tüketim tarihi tüketiciye gıdanın raf ömrü hakkında bilgi verir. Gıdaların son tüketim tarihinin bilinebilmesi için gıdalarda bozulmaya sebep olan faktörler ve bu faktörlerin etkisinin iyi bilinmesi gerekir. Bu faktörlerden bazıları sıcaklık, nem, ışık ve oksijendir. Ayrıca gıdanın kendi yapısına ait iç faktörler de raf ömrünü etkiler. Gıdalardaki bozulma fiziksel, kimyasal veya

mikrobiyolojik olabilir (Armutak ve Bayındırlı, 1995). Raf ömrünün tespit edilmesinde direkt ve indirekt metot olmak üzere iki ana yöntem vardır.

1.4.1 Direkt metot

Direkt metotta ürünün gerçek zamanlı raf ömrü test edilir. Yani ürünün normal satış ortamında bekletilerek oluşabilecek fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin izlenerek belirlenmesidir. Çabuk bozulan ürünlerde raf ömrünün tespiti için bu yöntem kullanılırken, bozulması uzun süren konserve, makarna gibi ürünlerde bekleme süresi uzun olacağından zorluklarla karşılaşılabilir (Özdemir, 1998).

1.4.2 İndirekt metot

Bu metot bozulması uzun süren ürünlerin raf ömrünü tespit etmek için geliştirilmiş matematiksel modellemelerden yararlanılan bir dizi testlerden oluşur. İndirekt metotta hızlandırılmış testler ve tahminleyici mikrobiyolojik model yöntemleri bulunur (Zorba ve ark., 2005).

1.4.2.1 Hızlandırılmış testler

Bu metodun çalışma prensibi gıdanın bozulmasına sebep olan sıcaklık, nem, ışık gibi parametrelerin ürünü bozacak ölçüde değiştirerek bozulma süresinin hızlandırılmasıdır. Bu açıdan direkt metoda göre daha kısa sürede sonuç verir. Bu testlerin yapılabilmesi için ürünün içeriği, fiziksel yapısı, ambalaj yapısı ve bozulma koşulları hakkında tüm bilgilere sahip olunması gerekir. Hızlandırılmış raf ömrü testlerinde raf ömrü süresi Arrhenius veya Q10 denkleminde hesaplanmaktadır (Koçak ve Halkman, 2006).

1.4.2.2 Mikrobiyal tahminleme modelleri

Gıdalardaki mikroorganizmaların gelişiminin tahmin edilebilmesi için geliştirilmiş matematiksel modellemelerdir. Bu modelde raf ömrünün belirlenebilmesi için mikroorganizmaların sıcaklık, pH, su aktivitesi, koruyucu katkı maddeleri gibi çevresel faktörler karşısında üreme ilişkisi ve üreme davranışları tahmin edilerek raf ömrü belirlenir (Şentürk, 2020).

1.5 Gıda Katkı Maddelerinin Sağlık Üzerine Etkileri

Gıdalara katılacak katkı maddeleri sentetik, bitki veya hayvan kaynaklı maddelerdir. Bu katkı maddeleri gıda üretimine katılmadan önce birçok toksikolojik

testten geçirilmektedir. Testler neticesinde gıdalara katılacak olan katkı maddesinin miktarı belirlenmektedir. Bu durum ülke politikalarıyla güvence altına alınmaktadır. (Sumner ve Eifert, 2002). Ancak her ne kadar toksikolojik testlerden geçirilmiş olsa da gıda katkı maddelerinin bir kısmı bazı hastalıklara sebep olmaktadır. Bu durumla ilgili çalışmalar maalesef istenilen düzeye ulaşamamıştır. Bunun sebebi ise çalışmaların doğrudan insanlarla yapılamamasıdır. Deneysel hayvanlarıyla yapılan çalışmalar ise insanlardaki etkilerini gösterecek düzeye ulaşamamıştır (Şen ve ark., 2017). Sosis, sucuk gibi et ürünlerinde renk tutucu olarak kullanılan nitrit ve nitrat tuzlarının nitrozamin oluşumuna sebep olarak kanser riskini artırdığı belirlenmiştir. Gıdalara katılan renklendirici maddelerin çocuklarda davranış ve nörolojik bozukluğa yol açtığı hiperaktiviteyle ilişkilendirilmiştir (Boran, 2016). Benzer katkı maddelerinin özellikle çocukların endokrin sistemlerinde bozulmalara neden olabileceğine dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Trasande ve ark., 2018). Yukarıda bahsedilen nitritli bileşenlerin ve antibakteriyel ajan olarak kullanılan sodyum metabisülfid, sodyum sorbat, sodyum benzoat gibi bileşenlerin genotoksik olabilecekleri vurgulanmıştır (Şen ve ark., 2017). Özellikle sodyum metabisülfidin hücre canlılığını düşürdüğü ve apoptozisi tetiklediği vurgulanmıştır (Alimohammadi ve ark., 2021).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Gıda endüstrisi, verim-maliyet hesaplarını dikkate alarak üretilen gıdaların kalitesini ve raf ömrünü artırmak için sürekli olarak yeni yöntemler aramaktadır. Bu arayışta, biyokaplama (biyobozunur kaplama) teknolojisi, gıdaların yüzeylerine uygulanan ince bir film tabakası olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Biyokaplama, gıdaların yüzeyine uygulanan doğal veya sentetik biyobozunur kaplama maddelerin kullanılmasıyla, gıdaları dış etkenlerden (oksijen, nem, mikroorganizmalar, ışık vb.) kaynaklanan bozulmaya karşı korur. Biyokaplama, gıdanın kalitesini ve raf ömrünü artırmak için bir bariyer oluşturur ve aynı zamanda besin kaybını azaltabilir. Bu malzemeler kapladıkları gıdanın oksidasyonuna engel olarak besin içeriğini koruyabilir (Rojas-Graü ve ark., 2007). Raf ömrünü uzatmak için geliştirilen teknolojilerden biri de bitki metabolitlerinin biyokaplama malzemesi olarak kullanılmasını sağlayan buluşlardır. Bitkilerin doğal savunma mekanizmalarının bir parçası olarak ürettikleri sekonder metabolitler kendileri dışında da kullanılma potansiyeline sahiptirler (Nazzaro ve ark., 2013). Bununla ilgili literatürde birçok çalışmaya rastlamak mümkündür.

Yapılan çalışmalarda sağlık açısından da önemli etkiye sahip çörek otunun uçucu yağlarından timohidrokinon, timol ve karvakrolün gıda oksidasyonunu engellemede güçlü antioksidan etkiye sahip oldukları görülmüştür (Bulca, 2014). Tereyağında meydana gelen oksidasyonu önlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 22 bitki çeşidinden elde edilen ekstraktların birçoğunun oksidasyonu engellediği görülmüştür (Kardil, 2016). Üzüm çekirdeği tozunun çiğ ve pişmiş dana eti köftelerde antioksidan kapasite ve lipit oksidasyonuna etkisi araştırılmış, üzüm çekirdeğinde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesi tespit edilmiş, dana kıymalarına 3 farklı oranda eklenerek 30 gün boyunca depolanmış ve lipit oksidasyonunu önlediği görülmüştür (Arslan, 2019). Ayçiçek yağının raf ömrünün uzatılmasıyla ilgili yapılan bir çalışmada sitrik asit ve fosforik asitin antioksidan etkisi incelenmiş, yağ numunelerine 1'den 1000 ppm'e kadar sitrik asit ve fosforik asit eklenmiştir. Bu çalışma sonucunda sitrik asitin antioksidan etkiye sahip olduğu ancak fosforik asitin antioksidan etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Targan ve ark., 2008). Bitkisel özlerin hayvansal gıda maddelerinde de aktivite gösterebileceği ifade edilmiştir. Örneğin, sardalya kıymasının oksidasyonu üzerine biberiye ekstraktı uygulandığı bir çalışmada oksidasyonun 5 ay geciktiği gözlemlenmiştir. Tavuk sosislerine biberiye ekstraktı ilave edilerek 3 farklı sıcaklıkta incelenmiş ve tüm sıcaklıklarda antioksidan etkisinin yüksek olduğu görülmüştür. Tavuk

eti üzerine uygulanan biberiye ekstraktının lipit oksidasyonunu belirli düzeyde önlediği belirlenmiştir (Çoban ve Patır, 2010).

Sadece oksidasyonu değil bazı durumlarda antimikrobiyal aktivite gösterebilecekleri de vurgulanmıştır. Örneğin kekik ekstraktları uygulanarak vakum paketlenen gökkuşağı alabalığı filetoalarının 21 günlük depolama sürecinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal değişimleri incelenmiştir. Bu süreçte ekstraktların mikroorganizma gelişimini sınırlandırdığı görülmüştür (Akarsu, 2016). Kitosanla beraber kekik ve biberiye uçucu yağlarının kaplanmasıyla fermente edilen sucuklarda küf ve mikroorganizma gelişimi araştırılmıştır. Bu çalışmada 12 gün boyunca depo edilen sucuklarda yüzey kaplamalarının küf gelişimini önlediği ve raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir (Küçükkaya, 2018). Aromatik bileşenler dışında fenolik bileşenlerin de aktivite gösterebileceği ifade edilmiştir. Örneğin zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen fenolik bileşiklerin biber salçası üzerindeki mikrobiyolojik gelişmelere etkisi araştırılmış bu bileşiklerin salçadaki mikroorganizmaları azalttığı ve güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Eraslan, 2017).

Doğal bileşenler kullanılarak üretilen biyobozunur malzemelerin sayısı günümüzde gittikçe artmaktadır. Özellikle nanokapsülasyon yöntemi gelecekte birçok alandaki çalışma için oldukça umut vericidir. Etken madde şeklinde izole edilmiş esansiyel içeriklerle yapılan çalışmalarda elmanın raf ömrünün mantar gelişimine karşı maksimum oranda arttığı rapor edilmiştir (da Rocha Neto ve ark., 2019). Özellikle β -cycloextrins ile birlikte kullanılan uçucu yağların balık etinin raf ömründe 4 gün fazladan artış sağladığı belirlenmiştir (Navarro-Segura ve ark., 2019). Biyokapsülasyonun yanı sıra uçucu yağların enkapsülasyonu ile de biyolojik aktivite gösteren materyallerin üretildiği literatürde belirtilmiştir. Örneğin bazı renklendiriciler, hidrojenize bitkisel yağlar ile enkapsüle edilerek tavuk butlarında, balıklarda ve benzeri et ürünlerinde kaplama materyali olarak kullanılmıştır (Popplewell ve Porzio, 2001). Mikroenkapsülasyon yapılmış balık yağlarının oksidasyona karşı dayanıklılığı üzerine antioksidanların ve nemin etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada antioksidan içermeyen enkapsülasyonların oksidasyona karşı dayanıklılığının daha fazla olduğu belirlenmiştir (Baik ve ark., 2004). Bu durum her bileşenin biyolojik aktiviteye sahip olamayacağını aksine bozulmayı hızlandırabileceğini göstermektedir. Yine sodyum klorür ve bitkisel yağların kaplama olarak kullanıldığı enkapsülasyonda renk bozulmalarının, ransiditenin, su tutma ve maya gelişiminin kontrol edildiği gözlemlenmiştir (Barbosa-Cánovas ve ark., 2005).

Uçucu yağlar dışında kullanılan diğer doğal bileşenlerin de önemli sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. Örneğin; kitosan ve maltodeskrinin kullanılarak tütsü aromasını enkapsüle edildiği kaplama materyallerinin patojenlere karşı etkisinin olduğu belirlenmiştir (Saloko ve ark., 2014). Bir başka çalışmada kitosan ile enkapsüle edilmiş tarçın yağının enkapsüle edilmemiş tarçın yağına kıyasla dondurulmuş domuz etinde daha etkili antioksidan ve antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Hu ve ark., 2015). Öte yandan mikroorganizmaların hedef canlıda hedef doku ya da organda aktifleştirilmesine dair mikroorganizma kapsülasyonu ile ilgili çalışmalar da mevcuttur (Kınık ve ark., 2003).

Bifidobacterium bifidum'un aljinat, pektin ve peynir altı suyu jeli ile kaplandığı bir çalışmada *Bifidobacterium* türlerinin *in vitro* koşullarda canlılık sürelerinin arttığı gözlemlenmiştir (Emel ve Erginkaya, 2010). Transglutaminaz (TGaz) enzimi kullanılarak yapılan bir çalışmada, ısıl işlem uygulamadan yani probiyotiklere zarar vermeden daha düşük sıcaklıklarda kapsülleme işlemi gerçekleştirilmiştir (Lorenzen ve ark., 1998). Bu şekilde üretilen kapsüllerin insan bağırsak sisteminde sindirilebildiği gösterilmiştir (Lorenzen ve ark., 2002). TGaz enzimi gıdaların besin değerini arttırmada, su tutma kapasitesini ve bazı fonksiyonel özelliklerini iyileştirmede bir avantaj olarak kullanılabilir (Soper ve Thomas, 2000). TGaz enzimi ile enkapsüle edilen balık yağları mikrokapsüller haline getirilerek ışık, nem ve oksijenden koruyarak koku oluşumu, tat bozulması ve aynı zamanda oksidasyon önlenerek depolama ömrünün uzadığı gözlemlenmiştir (Koç ve ark., 2008). Balık yağının, laktoz ve pullulan ile mikroenkapsülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada laktozun pullulana göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Her iki kaplama materyali de depolama sırasında, nişastanın kullanıldığı kontrol örneğine göre oksidasyona karşı daha iyi bir koruma sağlamıştır (Koç ve ark., 2008).

2.1 Bazı Gıda Patojenleri ve Etkileri

Gıda patojenleri insan sağlığı için ciddi risklere neden olan enfeksiyon veya zehirlenmeye neden olabilen mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar gıdalarda verim ve kaliteyi düşürüp gıda güvenliği ve halk sağlığı için ciddi tehditler oluşturur (Doyle ve ark., 2020). Gıdalarda bulunan patojen mikroorganizmalar arasında *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* türleri, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter sp.* ve *Staphylococcus aureus* gibi birçok tür

bulunur. Çalışmada kullanılan bazı örnekler ve neden oldukları kayıplara ilişkin çalışmalara aşağıda yer verilmiştir.

2.1.1 *Pseudomonas syringae*

Ülkemiz bitki hastalıkları yönünden yüksek bir potansiyele sahiptir. Gram negatif bir bakteri olan *P. syringae* özellikle domates, fasulye, mısır ve biber gibi bitkilerde etkili olan bir patojendir (Soylu ve ark., 2006). Bakteriye benek hastalığı etmeni olarak bilinen söz konusu mikroorganizma fasulye bitkisinde de yaprak yanıklarına neden olmaktadır (Topal, 2023). Filosfer tabakasına yayılabilen bu patojen stoma ve yara gibi açıklıklardan girerek çeşitli virülans mekanizmalarını devreye sokabilir (Xin ve ark., 2018). Buda gıdalarda verim ve kalite kaybına neden olmaktadır.

2.1.2 *Enterobacter intermedium*

Enterobacteriaceae familyasına ait olan bu tür gram negatif, spor oluşturmeyen, çubuk şeklinde ve fakültatif anaerobik özelliklere sahiptir. *Enterobacter* cinsine ait bazı bakteri suşları patojenik etkiye sahiptir ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde solunum, idrar yollarında enfeksiyona neden olabilirler (Gaston, 1988; Grimont ve Grimont, 2006). Bu familyanın bilinen en eski türleri veba basili *Yersinia pestis* ve tifo basili *Salmonella*'dır (Farmer ve ark., 2010).

2.1.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria cinsine ait mikroorganizmalar gram pozitif, kokobasil şekilli, spor ve kapsül bulundurmayan mikroorganizmalardır. Geliştikleri sıcaklık 30-37 °C'dir. Son güncellemelere göre 8 türü bulunan *Listeria*'nın enfeksiyonlarda ilk akla gelen türü *L. monocytogenes*'tir. İnsanlarda gıda kaynaklı "Listeriosis" denilen hastalığa sebep olmaktadır ve menenjit, septisemi, endokarditis, ensefalitis, hamilelerde düşük gibi belirtilerle ortaya çıkmaktadır (Ekici ve ark., 2004) Özellikle et, çiğ sebze, süt ve süt ürünlerinde bulunur (Evirgen, 2005). Kontamine gıda ürünlerinin tüketimi yoluyla insana bulaşan bu tür toprakla temas halinde yetiştirilen bitkilerde de patojenik etki gösterir. 1981 yılında Kanada'da ticari amaçlı üretilen lahanalar (Maritime Coleslaw) için kullanılacak olan lahanaların yetiştirilmesinde *Listeria* bulaşmış koyunlardan gelen gübreler kullanılmış, lahanada yaprak kontaminasyonuna yol açarak bir salgına sebep olmuştur. Bu olayda 41 vaka ve 7 ölüm kaydedilmiştir (Garner ve Kathariou, 2016).

2.2 Bitkilerde Bulunan Antimikrobiyal ve Antioksidan Bileşikler

Bitkiler fenolik asit, flavonoid, terpenoid, vitamin, organik asitler ve uçucu bileşikler gibi birçok doğal antioksidan ve antimikrobiyal madde içermektedirler (Baladura ve Şimşek, 2014). Bu bileşikler gıdaların raf ömrünü uzatmak, lezzet arttırmak (Sinki ve Gordon, 2002), tatlandırmak (Salminen ve Hallikainen, 2002) için gıda sektöründe kullanılabilir. Günlük kullanımlarının yanı sıra bilimsel çalışmalarda da etkisi kanıtlanan bu bileşenlerle ilgili oldukça fazla çalışma mevcuttur. Özellikle aromatik içerikli bitkiler hem aromalarından dolayı hem de daha yüksek oranda biyolojik aktiviteye sahip olduğundan tercih edilmektedirler. Örneğin, kekik ve karanfilden elde edilen uçucu yağlarla kitosan içerikli yenilebilir film hazırlanan bir çalışmada, önceden *Listeria monocytogenes* ile kontamine edilmiş kaşar dilimlerine kaplanmış kekik içeren bileşenlerin yüksek oranda aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Torlak ve Nizamlıoğlu, 2009; Ertürk ve ark., 2010).

Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşenler özetle aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

2.2.1 Organik Asitler

Organik asitler gıdaların hidrojen iyonu konsantrasyonunu değiştiren antimikrobiyal ajanlardır. Yapılan araştırmalarda limon, soğan, nar, turp gibi sebze ve meyvelerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu, bu etkinin meyve ve sebzelerin yapısında bulunan organik asitlerden kaynaklandığı belirlenmiştir. Meyve ve sebzelerde süksinik asit, sitrik asit, malik asit, tartarik asit, kinik asit, askorbik asit gibi pek çok organik asit bulunmaktadır (Şengün ve Öztürk, 2018).

Organik asitlerin etki mekanizması asidin türüne, konsantrasyonuna, sıcaklığa pH ve mikroorganizmanın yapısına bağlı olarak değişebilir. Hücre zarından kolaylıkla difüze olabilen organik asitler hücre içinde iyonlarına ayrılarak sitoplazmanın pH değerini düşürür. Böylece hücrede bulunan enzimlerin, proteinlerin yapısı bozularak hücrenin geçirgenliği artar ve proton itici güç bozularak hücre içerisinde substrat girişi engellenerek mikroorganizmanın ölümüne sebep olur (Şengün ve Öztürk, 2018). Bu antimikrobiyallerin bağlanabilmeleri için lipofilik olmaları, suda çözünebilmeleri ve hücre duvarını geçebilmeleri gerekmektedir (Öz ve Süfer, 2013).

Organik asitlerden biri olan asetik asit özellikle bakterilere karşı daha fazla antimikrobiyal etkiye sahip olup patojen bakterilere karşı çok etkilidir. Ayrıca asetik asit

ve sitrik asit sebze konservelerinde, soslarda, mayonezlerde, ketçaplarda ve etin olgunlaştırılmasında kullanılır. Tartarik asit ise genellikle meyvelerin bulunduğu işlenmiş gıdalarda kullanılır (Coşkun, 2006).

2.2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitkilerde bulunan antioksidan özelliğe sahip sekonder metabolitlerdir. Suda çözünebilen bu bileşikler meyve ve sebzelerde yüksek oranda bulunur. Sağlık üzerinde olumlu etkiye sahiptirler ve patojenlere, olumsuz iç ve dış faktörlere karşı koruyucudurlar. Fenolik bileşikler polifenoller olarak da adlandırılır (Meral ve ark., 2012). Fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Fenolik asitler hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitleri içeren gruplardır. Fenolik bileşikler hidroksil gruplarına sahiptirler ve hidrojen verici olarak davranırlar. Bu sayede serbest radikal temizlenmesini sağlayarak tekli oksijen atomlarının oluşmasını engelleyerek redoks potansiyelini düşürürler. Böylece mikroorganizma gelişimini sınırlandırılırlar. Fenolik bileşiklerin hidroksil grupları proton değiştirici olarak hareket eden elektronların etkisini bozarak bakterilerin hücredeki yönetim eğilimini azaltırlar ve böylece hücre ölümüne neden olurlar (Şengün ve Öztürk, 2018).

Bazı fenoliklerin *Clostridium botulinum*'un A ve B tiplerinin oluşturduğu sporlara karşı etkili olduğu, küflere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür (Coşkun, 2006).

2.2.3 Uçucu Yağlar

Bitkilerde bulunan uçucu yağlar mikroorganizmalara karşı savunma amaçlı üretilen; antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip, bitkilerin tomurcuk, yaprak, meyve, tohum gibi farklı kısımlarından elde edilen, ticari amaçlı ve gıda sektöründe kullanılan aromatik yağlardır (Şengün ve Öztürk, 2018). Bu yağların gıdalardaki mikroorganizmaların gelişim hızlarını düşürdüğü ve geniş antimikrobiyal spektruma sahip olduğu görülmüştür. Özellikle fenolik grup içerenlerin daha etkili oldukları belirlenmiştir (Öz ve Süfer, 2013).

Uçucu yağların etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin lipofilik özelliklerinden ve kimyasal yapılarından kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Uçucu yağlar hücre membranını parçalar ve hücre içeriğinin dışarıya sızmasına sebep olarak hücrenin ölmesine yol açar (Bayaz, 2014). Bu yağlar ayrıca hücresel enerji sistemine müdahale ederek, proton hareket gücünü bozarak

veya hidrofobik etkiye sahip olmalarından dolayı hücre geçirgenliğini artırarak da hücrenin ölümüne yol açmaktadır. Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerinde etkili olan uçucu yağlar aynı zamanda antioksidan etkiye sahip olduklarından lipid oksidasyonunu geciktirerek veya durdurarak gıdaların raf ömrünün uzamasını sağlamaktadır (Şengün ve Öztürk, 2018). Yapılan çalışmalarda uçucu yağların antibakteriyel, antifungal etkisinden başka antiviral etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (Bayaz, 2014). Antioksidan etkiye sahip uçucu yağların bulunduğu biberiye, kekik, nane, karanfil, zerdeçal ve adaçayı gibi bitki ve baharatların çoğu *Lamiaceae* familyasına aittir. Bu bitkilerde bulunan karnosol, karvakrol, timol ve eugenol gibi yağlar güçlü antioksidan etkiye sahip olduklarından gıda sektöründe oksidasyonu geciktirmek için oldukça yaygın kullanılır (Çoban ve Patır, 2010).

Uçucu yağları en fazla bulduran bitki familyalarından biri *Lamiaceae* familyasıdır. Birçok türünde esansiyel yağ barındıran bu familyaya ait ve çalışmamızda kullanılan türler aşağıda sunuldu.

2.3 *Satureja hortensis* L.

Lamiaceae familyasına ait birçok bitki uçucu yağ bileşenleri bakımından oldukça zengindir ve birçok alanda kullanılmaktadır. Bu familyaya ait olan *Satureja* cinsinin dünyada 235, Türkiye’de ise 14 türü bulunmaktadır (Katar ve Aytaç, 2019). Bu cinse ait *Satureja hortensis* (Şekil 2.1) tek yıllık ve otsu olup, halk arasında kekik olarak bilinmekle birlikte “sater, geyik otu, anık, çibriska” olarak da bilinir (Nimet, 2021). Bu bitkinin uçucu yağ içeriklerinde bulunan fenol türevi olan karvakrol ve timol antibakteriyel, antioksidan, antifungal ve inteksidal etkiye sahip olduğundan ön plana çıkmıştır (Bozhöyük ve ark., 2015). *S. hortensis*'ten elde edilen bazı içeriklerin kuluçkalık tavuk yumurtalarının dezenfeksiyonu için kullanıldığı bir çalışmada klorid grubu dezenfektanlarına karşı %2 ve %4'lük bitki ekstraktlarının alternatif olarak kullanılabilceği belirlenmiştir (Ergün ve ark., 2023). Yapılan diğer bir çalışmada *Satureja hortensis*'in antitümör etkisi araştırılmış, Ehrlich asit tümöründen kaynaklanan tümör yükünü azalttığı (150 mg/kg/gün) tespit edilmiştir (Çakmak, 2012).



Şekil 2.1 *Satureja hortensis*'in genel görünümü (Anonim, 2023b)

Fasulyede verim ve kalite kaybına yol açan *P. syringae*, *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* patojenlerine karşı *Satureja* türlerinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraktlarının antibakteriyel etkinliği araştırıldığı çalışmada, bu yağların, kullanılan mikroorganizmalarda önemli inhibisyon zonları oluşturduğu ve aynı zamanda hastalık şiddetini düşürdüğü, hatta *S. cuneifolia* ve *S. spicigera* türlerinden elde edilen uçucu yağların hastalık gelişimini % 100 engellediği tespit edilmiştir (Dönmez ve ark., 2020). Yine aynı grubun yapmış olduğu diğer bir çalışmada fasulyede yaprak yanıklarına neden olan fuskanların *Satureja* türlerinden elde edilen uçucu yağlarla önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Dönmez ve ark., 2022).

S. hortensis bitkisinden elde edilen uçucu yağların farklı konsantrasyonlarıyla elde edilen kitosan filmlerinin kalınlığının, mekanik ve morfolojik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada uçucu yağ içerikli filmlerin antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri tespit edilmiştir. Uçucu yağların konsantrasyon düzeyi arttıkça bu özelliklerin önemli ölçüde arttığı da tespit edilmiştir (Fezyoğlu, 2016).

2.4 *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel

Lamiacea familyasında bulunan bir diğer bitki yarı çalimsı formda ve çok yıllık olan lavantadır. Çoğu Akdeniz orjinli 39 kadar lavanta türünden ticari değeri dünyada en yüksek olanlar Lavander (*L. angustifolia* Mill. = *L. officinalis* L. = *L. Vera*), Lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel) (Şekil 2.2) ve Spike lavander (*Lavandula*

spica) türleridir (Nimet ve Baydar, 2011). İçerdikleri uçucu yağ bakımından parfüm, kozmetik ve ilaç sanayinde kullanılırlar. Uçucu yağ bileşenlerinde bulunan monoterpenlerden linalool yatıştırıcı, linalil asetat ise uyuşturucu etkiye sahiptir (Nimet ve Baydar, 2013). Uçucu yağ bileşenlerinin oranları bitkilerin bulunduğu lokasyonlara göre değişmektedir (Katar ve ark., 2020).



Şekil 2.2 *Lavandula x intermedia*'nin genel görünümü (Foto:S.Bozari,2023)

Lavandula x intermedia ile yapılan bir çalışmada türün uçucu yağının bazı yabancı ot ve tarla bitkilerine karşı allelopatik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağların düşük dozlarda (3 µl ve 0,5 kg 'da¹) horozibiği, yabani hardal, buğday, ayçiçeği ve nohut gibi yabancı otların çimlenmesini engellediği belirlenmiştir (Karaman ve ark., 2014). Benzer şekilde bu yağların mısır (*Zea mays* L.)'ın çimlenme ve fide gelişimini olumsuz etkilediği belirlenmiştir (Binbir ve ark., 2021).

2.5 *Origanum rotundifolium* Boiss.

Aynı familyaya ait olan *Origanum rotundifolium* (Şekil 2.3) Türkiye genelinde “yuvarlak mercan” ya da “dağ kekiği” olarak adlandırılır. Doğu Karadeniz, Erzurum-Kars bölgesinde yayılış gösteren bu tür çok yıllık, çalimsı, taç yaprakları beyaz veya soluk pembe şeklindedir (Dikbas ve ark., 2009). *Origanum* cinsine ait çok sayıda tür içerdikleri

zengin esansiyel yağ bakımından antimikrobiyal, balgam söktürücü, gaz giderici gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir ve geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Marrelli ve ark., 2018).



Şekil 2.3 *Origanum rotundifolium* BOISS. (Anonim, 2023a)

Yaygın yaprak dökücülerden biri olan *Lepitopdera* larvalarına karşı *O. rotundifolium* uçucu yağların kontrol grubuna göre test edilen tüm larva dönemlerinde öldürücü etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Kesdek ve ark., 2013). Aynı esansiyel yağların insan lenfositlerinde oksidatif stres indükleyici olan Aflatoksin B₁ (AFB₁)'e karşı antagonistik etkileri araştırılmış ve bu yağın AFB₁'in mutajenik etkilerini baskıladığı tespit edilmiştir (Ceker ve ark., 2013).

Bitkisel uçucu yağların sahip oldukları bu özellikler çoğunlukla katkı maddesi olarak kullanımlarının önünü açmıştır. Fakat eklendikleri gıdada tat ve dokuyu değiştirmeleri ise de javantajlı bir durum oluşturmaktadır. Tat ve dokuyu değiştirmeden raf ömrünü uzatmak için ise kaplama, paketlenme, dondurma işlemleri tercih edilmektedir. Her gıdanın dondurulmaya uygun olmadığı düşünüldüğünde kaplama ve paketlenme işlemleri daha dikkat çeken yöntemler arasına girmektedir. Gelişen teknolojiyle beraber gıdaların raf ömrü daha çok sentetik kaplama malzemeleriyle yapılmaktadır. Fakat raf ömrünü uzatmak için kullanılan kimyasal maddelerin uzun vadede olumsuz etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Söz konusu sentetik maddelerin olumsuz etkileri doğal biyobozunur bileşenlerin kullanımının önünü açmıştır. Buradan yola çıkılarak mevcut çalışmada *S. hortensis*, *O. rotundifolium* ve *Lavandula x intermedia* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların gıda patojeni olan *E. intermedius*, *P. syringae* ve *L. monocytogenes* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri ile bu uçucu yağlarla oluşturulan biokaplama malzemelerin domates meyvelerinde söz konusu

bakterilere karşı koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmada uçucu yağ içeren ve içermeyen biyokaplama malzemelerinin FTIR analizleride yapılarak yüzeyfonksiyonları da karşılaştırılmıştır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki materyali

Çalışmada kullanılan esansiyel yağların elde edildiği bitkilerden *Satureja hortensis*, Bingöl ili Genç ilçesi Servi kırsalından toplanmıştır. *Origanum rotundifolium* Erzurum ili Aşkale ilçesinden ve *Lavandula x intermedia* ise Muş Alparslan üniversitesi kampüsünden toplanmıştır. Uçucu yağlı veya yağsız kaplama jelatin filmin uygulandığı domatesler ticari olarak satın alındı.

3.1.2 Kullanılan mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan bitki patojenleri, Muş Alparslan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü laboratuvarından temin edildi. Kullanılan mikroorganizmaların detaylı bilgileri Çizelge 3.1’ de sunuldu.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan bitki patojenleri ve kaynakları

No	Mikroorganizma Adı	İzole edildiği bitki
1	<i>Listeria monocytogenes</i>	Domates
2	<i>Enterobacter intermedium</i>	Çilek
3	<i>Pseudomonas syringae</i>	Domates

3.1.3 Kullanılan ekipmanlar

Çalışma, Muş Alparslan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı ile Teknik Bilimler MYO Gıda Laboratuvarlarının altyapıları kullanılarak gerçekleştirildi. Kullanılan ekipman listesi Çizelge 3.2’de sunuldu.

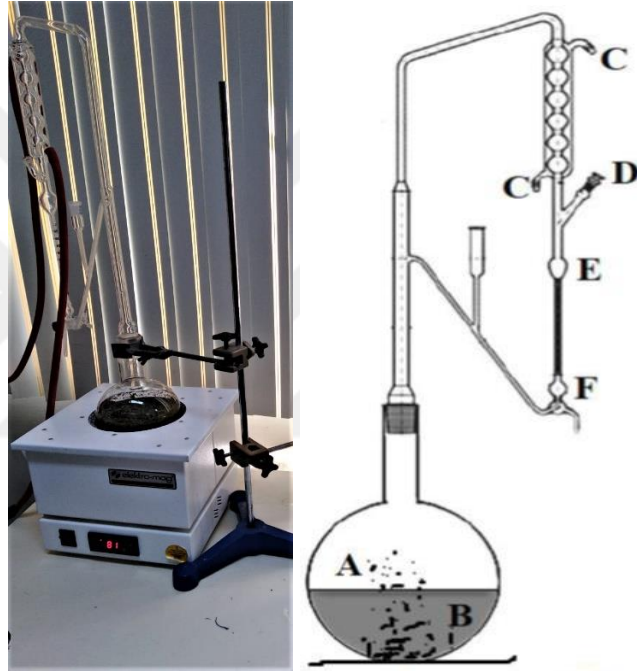
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan cihazlar

No	Kullanılan Cihazlar	Marka
1	Blender	Waring
2	Buzdolabı	Arçelik
3	Derin Dondurucu	Vestel
4	Clevenger	Borosil
5	Çalkalayıcı	Thermoshake
6	Steril Kabin	Mikrotest
7	Otoklav	Nüve
8	Hassas Terazî	And GR-200 Japon
9	İnkübatör	Nüve
10	Otomatik Pipetler	Thermo
11	Manyetik Karıştırıcı	Nüve
12	Mikrodalga Fırın	Arçelik
13	Saf Su Cihazı	Nüve
14	Santrifüj	Centrion
15	Soğutmalı Santrifüj	Shimadzu
16	Spektrofotometre	Shimadzu

3.2 Yöntem

3.2.1 Uçucu yağların elde edilmesi

Satureja hortensis, *Origanum rotundifolium* ve *Lavandula x intermedia* bitkileri toplandıktan sonra gölgelik alanda kuruyuncaya kadar bekletildi. Kurutulan bitki örnekleri blender ile toz haline getirilip her bir örnekten yaklaşık 50 g tartılarak clevenger aparatına yerleştirildi (Şekil 3.1). Hidrodistilasyon yöntemiyle 8 saat boyunca elde edilen uçucu yağlar kullanılacağı zamana kadar +4 °C'de bekletildi (Bozarı, 2011). Bu yöntemde sıvıların kaynama noktasındaki farklardan yararlanılarak damıtma işlemi yapıldı.



Şekil 3.1 Clevenger hidrodistilasyon mekanizmasında *Thuja orientalis* uçucu yağlarının eldesi (solda) (A) Örneği, (B) Suyu, (C) Soğuk su giriş ve çıkışlarını, (D) Yoğunlaşmamış gazlar için havalandırma deliğini, (E) Ekstrakt biriktirme ünitesini (F) Ayırma vanası (sağda)

3.2.2 Mikroorganizmaların hazırlanması

Elde edilen uçucu yağların çeşitli gıdalarda bozulmaya neden olan *Enetrobacter intermedius*, *Pseudomonas syringae*, *Listeria monocytogenes* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesi test edildi. Stok bakteri kültürlerinden alınan mikroorganizmalar Tryptic Soy Agar (TSA)'ya çizgi ekim şeklinde yayılarak uygun sıcaklıkta (25-38 °C) 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonra besiyerlerinde oluşan kolonilerden 1-2 tanesi steril özeyle alınarak Tryptic Soy Broth (TSB)'ye aktarıldı ve tekrar gelişmeleri için uygun sıcaklıkta (25-38 °C) inkübasyona bırakıldı. Gelişen mikroorganizmalar antimikrobiyal çalışmada kullanıldı.

3.2.3 MIC (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerin hesaplanması

Uçucu yağların etkin dozlarını belirlemek için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) testi gerçekleştirildi (Akarca ve Tomar, 2018). Etkili konsantrasyonları belirlemek için %10 Dimetilsülfoksit (DMSO) ile başlangıç dilüsyonu 1/1 (v/v) hacim olacak şekilde seri dilüsyonlar şeklinde hazırlandı. Sıvı besiyerine ekilen mikroorganizmalara azalan dozlarda uçucu yağlar eklendi. Mikroorganizmalar uygun gelişme sıcaklıklarında inkübasyona bırakıldı. İnkübe edilen mikroorganizmaların gelişmeye başladıkları ilk dozlar MIC değeri olarak değerlendirildi (Dadaşoğlu, 2016).

3.2.4.Disk difüzyon yöntemi

Satureja hortensis, *Origanum rotundifolium* ve *Lavandula x intermedia*'dan elde edilen uçucu yağların antibakteriyel aktivitelerinin tayini için seçilen mikroorganizmalara (*Enterobacter intermedius*, *Pseudomonas syringae*, *Listeria monocytogenes*) uygulama disk difüzyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Uçucu yağlardan 640, 320, 160, 80, 40, 20, 10 µL/mL dozlarında stok çözeltiler hazırlandı. Daha önce TSB'ye ekimi yapılan bakteriler 10^8 oranında dilüe edildi. Dilüsyon yapıldıktan sonra mikroorganizmalardan 100'er µL alınıp TSA (Tryptic Soy Agar) besiyerine ekim gerçekleştirildi. Uçucu yağlar yedi farklı dozda steril disklerle 5 µL/disk olacak şekilde emdirildi. Negatif kontrol olarak DMSO, pozitif kontrol olarak penisilin (30µg), kanamisin(30µg) ve vankomisin(30µg) antibiyotikleri kullanıldı. Hazırlanan örnekler 25-38 °C'ye ayarlanmış etüvde 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, oluşan zon çapları ölçülerek kaydedildi. Tüm çalışmalar steril kabinde ve 3 paralelli şekilde gerçekleştirildi.

3.2.5 Biyokaplama filmi üretimi

Biyokaplama malzeme için ticari olarak satın alınan sığır jelatini, sorbitol ve gliserol kullanıldı. Son hacim saf suyla 10 mL şeklinde olacak şekilde 0,8 g sığır jelatini, 0,12 g sorbitol ve 0,12 g gliserol tartılarak cam behere alındı. Hazırlanan karışım manyetik ısıtıcıda 180 rpm hızında 45 °C' de 10 dakika karıştırıldı. Bu şekilde elde edilen sade jelatin filmi soğuduktan sonra (40-45 °C) belirlenen gıdaya uygulandı. Uçucu yağ içeren jelatin filmi elde etmek için ise aynı yöntemle hazırlanan örneğe, soğuduktan sonra +4 °C' de bekleyen uçucu yağlardan %2 olacak şekilde uçucu yağ ve 40 µL tween 20 eklendi.

3.2.6 Biyokaplama malzemesinin gıdaya uygulanması

Hazırlanan biyomalzemenin aktivitesini ölçmek için domates üzerinde denemeler gerçekleştirildi. Kaplama işlemi yapılmadan önce kullanılan domatesler %10'luk çamaşır suyuyla 30 dk çalkalayıcıda karıştırılarak yüzeysel sterilizasyonları sağlandı. Daha sonra steril saf suyla 3-4 kez yıkayıp tekrar çalkalayıcıda 10-15 dk steril saf suyla çalkalandı.

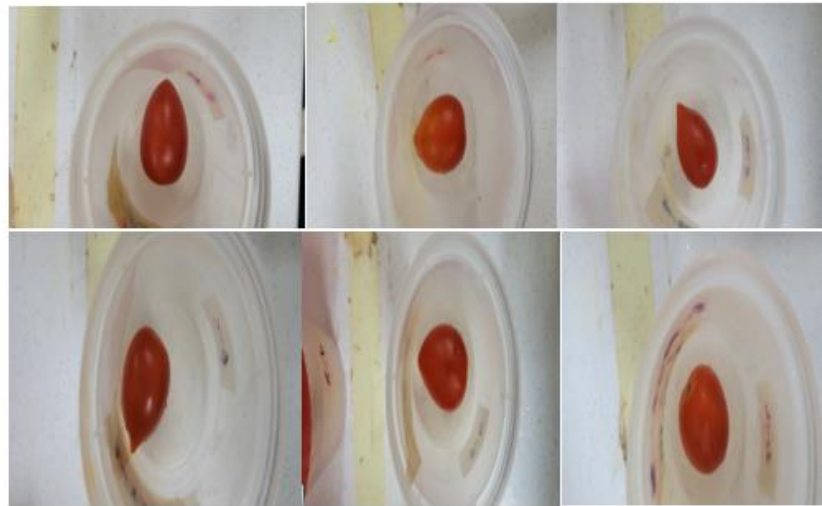
Kaplama işlemi için toplamda altı grup belirlenerek her grup için üç domates kullanıldı. Kaplama işlemi için deney serisi aşağıdaki gibi tasarlandı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Uygulama yapılan domates meyvelerindeki kaplama durumu

Grup No	Mikroorganizma içermeyen			Mikroorganizma içeren		
	Kaplamasız	Jelatin	Jelatin+Esansiyel Yağ	Kaplamasız	Jelatin	Jelatin+Esansiyel Yağ
1	+					
2			+			
3		+				
4						+
5					+	
6				+		

+: İlgili grupta uygulama yapılan domates örneklerinin içerdiği bileşimler

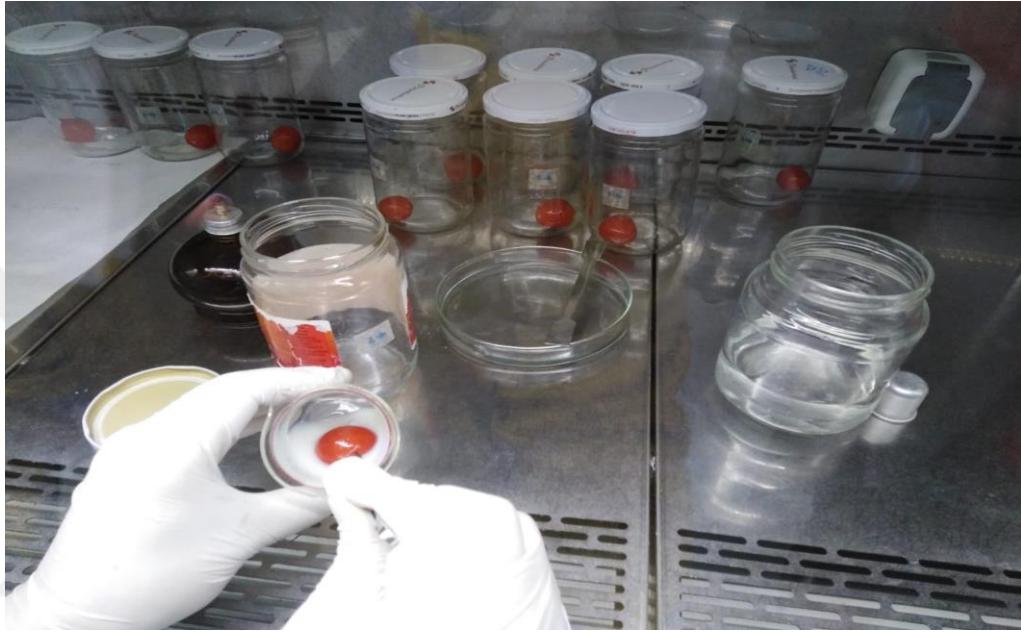
Kaplama işleminden önce tüm domatesler steril bir şekilde tartılarak ilk ağırlıkları belirlendi ve steril kaplara alındı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Kaplama işleminden önce yüzeysel sterilizasyonu yapılmış domateslerin steril kaplara alınması

Steril kaplara alınan domatesler önceden hazırlanılan uçucu yağ içeren (2. ve 4.grup) ve uçucu yağ içermeyen (3. ve 5. grup) jelatinlerle muamele edildi. Kaplama işlemi daldırma yöntemiyle gerçekleştirildi (Şekil 3.3). Her kaplama işleminden sonra son ağırlıklar tartılarak kullanılan malzeme miktarı kaydedildi. Kaplama işleminden sonra bütün örnekler steril kabinde 24 saat kurumaya bırakıldı.

Steril kabinde 24 saat kurumaya bırakılan örneklerden 4.,5. ve 6.gruplardaki domateslere önceden hazırlanmış *Enetrobacter intermedius*, *Pseudomonas syringae*, *Listeria monocytogenes* patojenleri bulaştırıldı. Bulaştırma işlemi için sıvı kültür ortamında yetiştirilen bakterilerden 10^5 konsantrasyonda seyreltilen mikroorganizmalar kullanıldı. Mikroorganizma bulaştırılan örnekler 24 saat etüvde (25-38 °C) inkübasyona bırakıldı. Çalışmalar üç tekrarlı gerçekleştirildi.



Şekil 3.3 Daldırma yöntemiyle biyokaplama malzemesinin domates örneklerine uygulanması

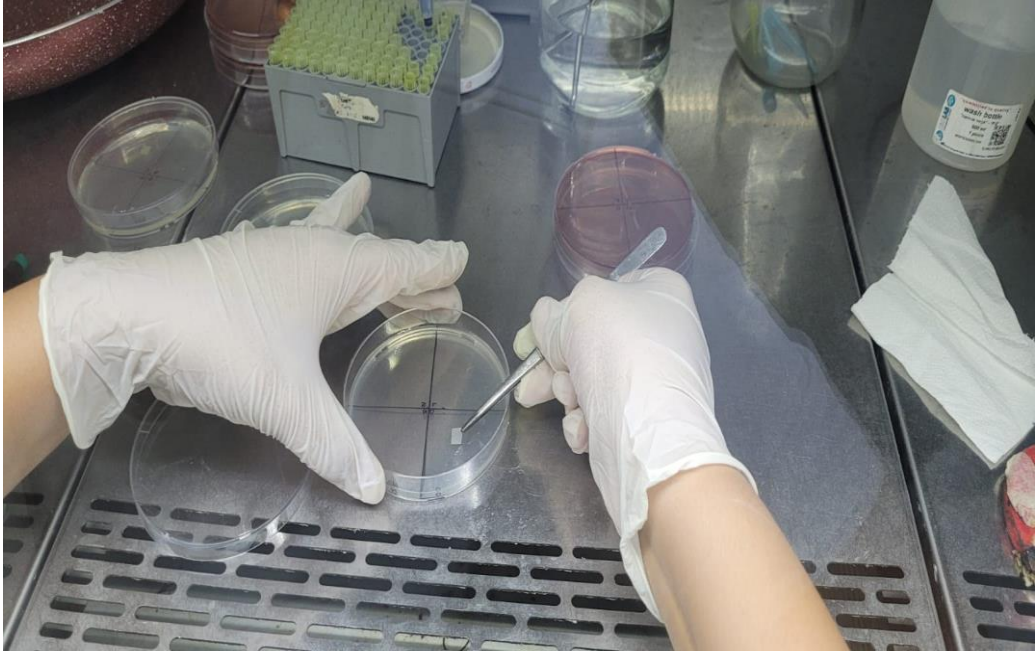
3.2.7 Seçici besiyerlerin hazırlanması ve bakteri ekim aşaması

Uygulama gruplarındaki patojenik aktiviteyi belirlemek için kullanılan her mikroorganizma için selektif besiyerleri tercih edildi. *Enetrobacter intermedius* için MacConkey agar, *Pseudomonas syringae* için *Pseudomonas* agar, *Listeria monocytogenes* için Palcam agar kullanıldı. Tüm katı besiyerleri üretici prosedürlerine göre hazırlandı. Besiyerlerine aktarılan mikroorganizmalar şu şekilde hazırlandı. Uygulama yapılan domateslerin muhafaza edildiği steril kaplara her domatesin ağırlığının 9 katı kadar pepton eklendi. Ağzı kapatılan kavanozlar 1 dk boyunca karıştırıcıda karıştırıldı. Peptonla yıkanan örneklerden 1 mL alınarak 9 mL steril peptona eklendi. 10^4 oranında seyreltilen kültürden 100 μ L alınarak daha önce hazırlanan seçici katı besiyerlerine steril drigaskiyle yayıldı. Yayma işleminden sonra örnekler mikroorganizma türüne göre uygun sıcaklık ve zamanda (25-38 °C) (24-48 saat) inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde oluşan mikroorganizma kolonileri sayıldı.

3.2.8 Biyokaplama filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

Biyokaplama malzemesinin gıdaya uygulanmadan tek başına antimikrobiyal aktivitesinin tespiti için çalışmada kullanılan uçucu yağları içeren (*Satureja hortensis*, *Origanum rotundifolium* ve *Lavandula x intermedia*) üç farklı jelatin ve uçucu yağ içermeyen normal jelatin hazırlandı. Uçucu yağ içeren ve içermeyen bu dört farklı jelatin daha önce belirlenen içeriklere göre hazırlandı. Hazırlanan dört farklı jelatin yapışmayan bir zemine dökülerek bir gün steril ortamda kurumaya bırakıldı.

Ekim aşamasında kullanılan her mikroorganizma için selektif katı besiyerleri (*Pseudomonas* agar, *MacConkey* ve *Palcam* agar) hazırlandı. Hazırlanan besiyerlerine sıvı kültürden (TSB) alınan bakteriler peptonla bir kez (10^8) seyreltildi. Seyreltilen örnekten 100 μ L alınarak besiyerine eklendi ve steril drigaskiyle yayıldı. Yayma işleminden sonra steril ortamda bir gün kuruması beklenen 4 farklı jelatin 5x5 mm olacak şekilde kesilerek dört bölgeye ayrılmış besiyerlerine aktarıldı. Her bir bakteri ve uçucu yağ içeren veya içermeyen jelatinler için bu işlemler 3 paralelli şekilde tekrarlandı. Jelatinler eklendikten sonra her bir besiyeri uygun koşullarda inkübe edildi. Negatif kontrolde %10'luk DMSO kullanıldı. Pozitif kontrol grubunda vankomisin, kanamisin ve penisilin antibiyotikleri kullanıldı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Uçucu yağ içeren ve içermeyen biyokaplama malzemesinin (5x5 mm) steril kabinde besiyerlerine eklenmesi

3.2.9 FTIR analizleri

Satureja hortensis, *Lavandula x intermedia* ve *Origanum rotundifolium* uçucu yağlarıyla ve uçucu yağ kullanılmadan hazırlanan normal biyokaplama malzemelerin yüzeylerindeki fonksiyonel grupları belirlemek için FTIR (Fourier Transform Infrared Spectra) analizi gerçekleştirildi. Ölçümler 4000- 400 cm^{-1} aralığında Agilent marka cihaz ile gerçekleştirildi. Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında hizmet alımı ile gerçekleştirilen ölçümler, bir numune için 32 kez ölçülerek kaydedildi. Elde edilen bulgular Orijin pro 2023b programıyla grafiğe döküldü.

3.2.10 İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS V22 paket programı kullanıldı. Örnekler arasındaki anlam dereceleri OneWay ANOVA ile test edildi. Veri grupları arasındaki önemli düzeydeki ($P<0,05$) farklılıklar ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada kullanılan antibiyotikler şu özelliklere sahiptir. *Amycolatopsis orientalis* bakterisinin fermantasyonuyla oluşan vankomisin gram pozitif bakterilerde hücre çeperinin sentezini inhibe eden bir antibiyotiktir (Öncül, 2010). Farklı mikroorganizmalardan elde edilen penisilin bakterilerin hücre duvarının oluşumunu yapısındaki β -laktam halkası yardımıyla engelleyerek aktivite gösterir (Yocum ve ark., 1980). *Streptomyces kanamyceticus* bakterisinden izole edilen kanamisin ise prokaryotik ribozomların 30 S alt birimine bağlanarak yanlış aminoasitlerin senteze katılmasını sağlar ve böylece fonksiyonel olmayan proteinlerin oluşmasına, dolayısıyla translasyonun inhibisyona uğramasına neden olur (Anonoim, 2023). Antimikrobiyal aktivite için iki temel etki mekanizmasından bahsedilebilir. Bunlar, hücre duvarının yapısal bozulması ve metabolik yolların baskılanması şeklindedir.

4.1 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Üç farklı patojen bakteriye *Satureja hortensis*, *Origanum rotundifolium*, *Lavandula x intermedia* türlerinden elde edilen uçucu yağlar yedi farklı konsantrasyonda uygulandı ve önemli antimikrobiyal sonuçlar gözlemlendi. *Satureja hortensis* uçucu yağının, 640 ve 320 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozlarının *E. intermedius* ve *L. monocytogenes* bakterilerinde pozitif kontrolde kullanılan penisilin, kanamisin ve vankomisin antibiyotiklerine göre istatistiki olarak önemli düzeyde aktivite gösterdiği tespit edildi. En yüksek antimikrobiyal aktivite *Listeria monocytogenes* 'e karşı gözlemlendi. 48 saatlik bekleme periyodu sonunda ise *E. intermedius* ve *P. syringae* örneklerinde zon çapları genellikle küçülürken *L. monocytogenes* 'te genel bir artış gözlemlendi (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

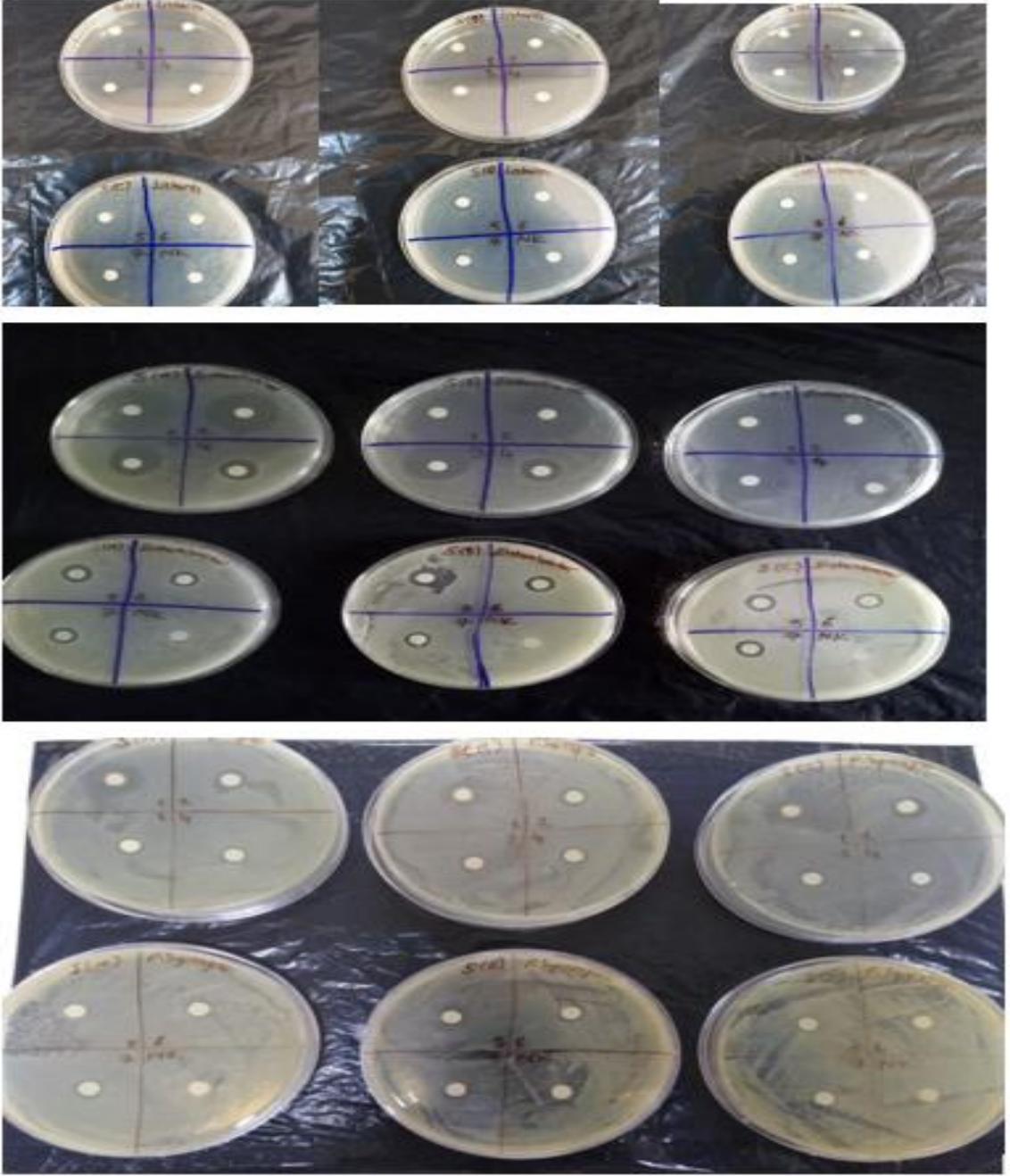
Antibiyotiklerle karşılaştırıldığında *S. hortensis* uçucu yağlarının *E. intermedius* ve *L. monocytogenes* bakterilerinde 640 ve 320 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozlarında güçlü, 160-80 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozlarında ise benzer istatistiksel sonuçlar gösterdiği belirlendi (Çizelge 4.1). Daha düşük dozlarda ise antimikrobiyal aktivite görülmekle beraber pozitif kontrole göre etkinin azaldığı gözlemlendi. *P. syringae* 'ye karşı ise antimikrobiyal aktivite görülmekle beraber pozitif kontrole göre daha az inhibisyon zonu oluştuğu tespit edildi. 48 saat sonucunda tekrar incelenen sonuçların 24 saatlik süre sonucunda elde edilen verilere benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Uygulanan bazı dozların bu süreçte zon çapında artış gösterdiği belirlense de genel olarak zon çapında azalma tespit edildi.

Çizelge 4.1 *Satureja hortensis* uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri

Bakteri	640 µL/mL	320 µL/mL	160 µL/mL	80 µL/mL	40 µL/mL	20 µL/mL	10 µL/mL	NK DMSO (10%)	Pen(30µg)	Pozitif Kontrol Kan(30µg)	Van(30µg)	MIC *Kon
24. Saat												
<i>Enterobacter intermedius</i>	36,3±4,3 ^e	28,3±2,6 ^{de}	17,6±1,3 ^{bc}	15,0±1,1 ^{bc}	11,6±0,6 ^b	9,6±0,6 ^b	9,6±0,6 ^b	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{bc}	18,6±0,6 ^{bc}	23,00±0 ^{cd}	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	45,0±0 ^f	38,3±3,5 ^f	20,3±1,3 ^{de}	14,3±0,6 ^{bcd}	8,0±1 ^{abc}	10,3±3,3 ^{bcd}	5,3±2,7 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{de}	18,6±0,6 ^{de}	23,00±0 ^e	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	15,0±1,1 ^{bcd}	10,0±0,5 ^{bcd}	9,0±0 ^{abc}	8,3±0,6 ^{abc}	6,6±0,3 ^{ab}	6,6±0,3 ^{ab}	6,3±0,3 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{de}	18,6±0,6 ^{de}	23,00±0 ^e	5 µL/mL
48. Saat												
<i>Enterobacter intermedius</i>	34,3±3,5 ^g	29,6±1,7 ^{fg}	16,3±0,6 ^{bcd}	12,3±0,6 ^{bcd}	9,6±0,6 ^{bcd}	8,0±0,5 ^{abc}	7,3±0,3 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{de}	18,6±0,6 ^{de}	23,00±0 ^{ef}	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	45,0±0 ^d	39,6±2,6 ^d	23,0±0 ^c	14,3±0,6 ^{bc}	7,3±0,3 ^{ab}	6,6±0,3 ^{ab}	6,3±0,3 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^c	18,6±0,6 ^c	23,00±0 ^c	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	11,6±0,6 ^{bc}	8,3±0,3 ^{ab}	7,0±0 ^{a b}	7,0±0 ^{a b}	6,0±0 ^{ab}	6,0±0 ^{a b}	5,7±0,2 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{cd}	18,6±0,6 ^{cd}	23,00±0 ^d	5 µL/mL

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur.

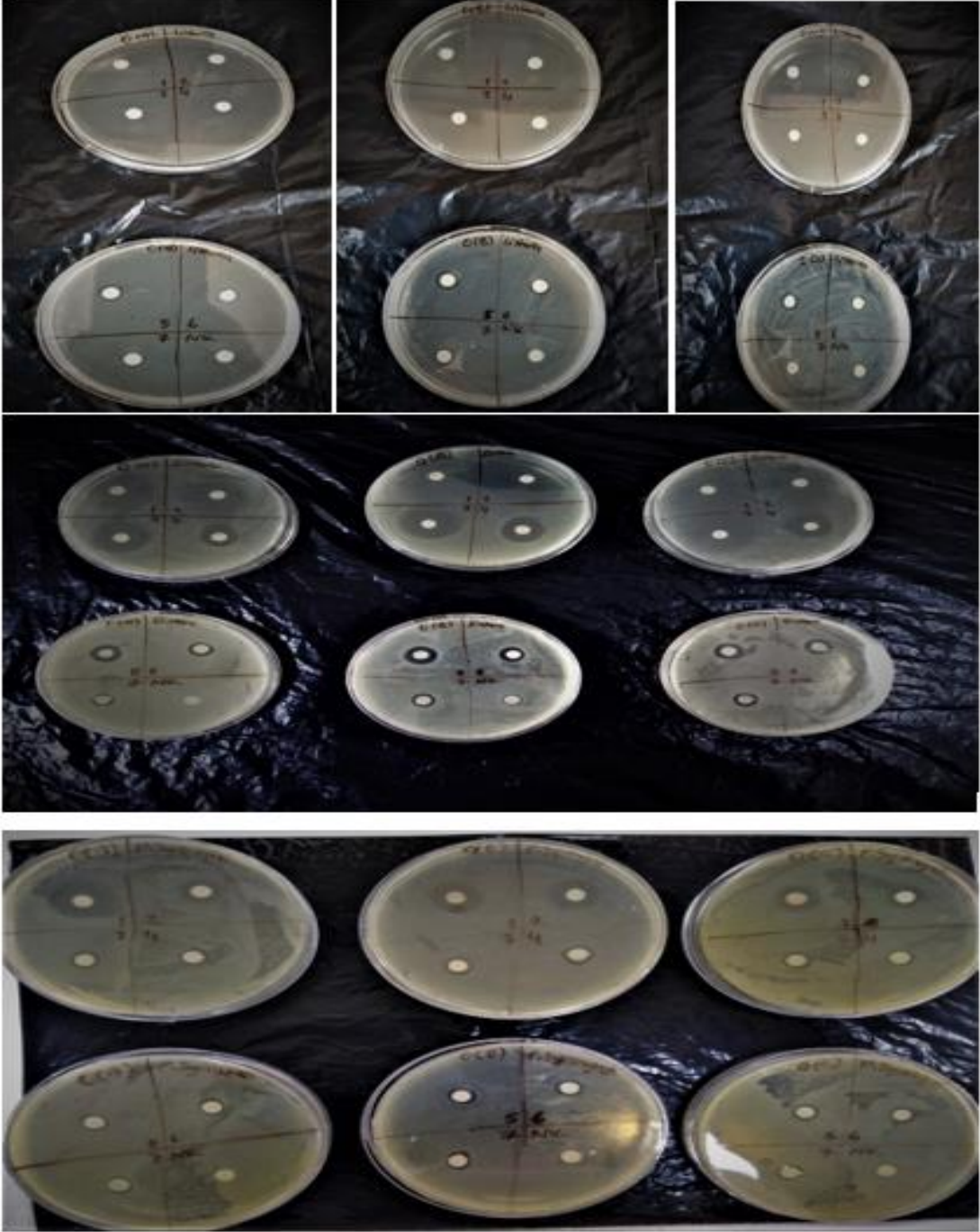
* Kon: Konsantrasyon, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol Pen: Penisilin, Kan: Kanamisin, Van: Vankomisin



Şekil 4.1 *Satureja hortensis* esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (*L. monocytogenes*, *E. intermedius*, *P. syringae* bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseledeki sıralamaya göre yazılmıştır)

Origanum rotundifolium uçucu yağının 640 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dozunda *E. intermedius* ve *L. monocytogenes* bakterilerinde vankomisin hariç diğer pozitif kontrollere göre güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlendi. Daha düşük dozlarda bile (40,20,10 $\mu\text{L}/\text{mL}$) söz konusu mikroorganizmalara karşı kanamisin ve penisilin antibiyotiklerine benzer aktivite gösterdiği belirlendi. *P. syringae*'ye karşı ise aktivite gösteren uçucu yağların pozitif kontrollere göre aktivitelerinin daha düşük olduğu tespit edildi. 48 saatlik inhibisyon zonları incelendiğinde *Origanum rotundifolium* uçucu yağının yüksek

dozlarda (640,320 ,160, 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$) *E. intermedius* ve *L. monocytogenes* bakterilerinde inhibisyon zonunu ilk ölçüme göre önemli düzeyde artırdığı belirlendi. *P. syringae*' de ise etkinin azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).



Şekil 4.2 *Origanum rotundifolium* esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (*L. monocytogenes*, *E. intermedius*, *P. syringae* bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseldeki sıralamaya göre yazılmıştır)

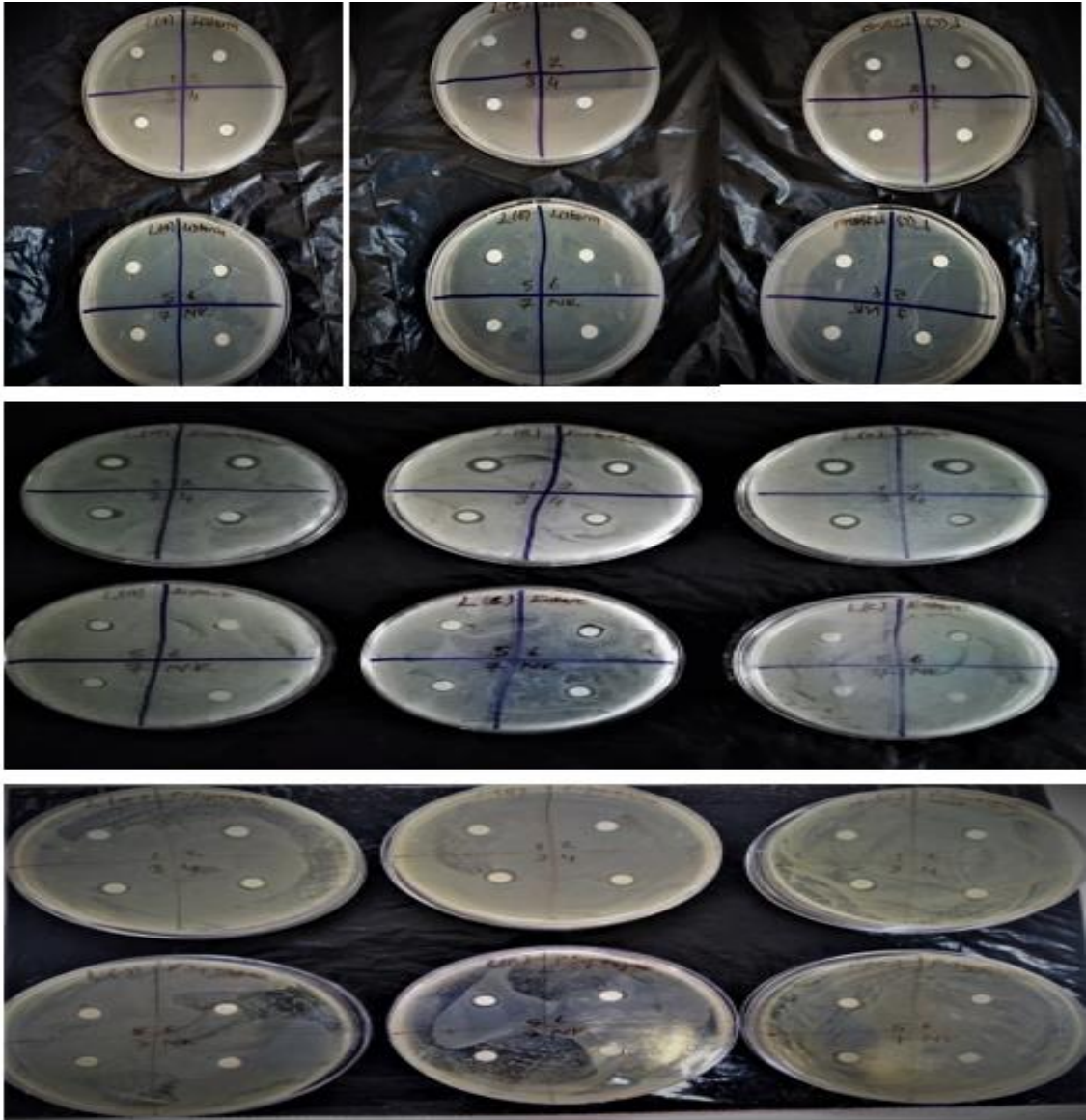
Çizelge 4.2 *Origanum rotundifolium* uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri

Bakteri	640 µL/mL	320 µL/mL	160 µL/mL	80 µL/mL	40 µL/mL	20 µL/mL	10 µL/mL	NK DMSO (10%)	Pen(30µg)	Pozitif Kontrol Kan(30µg)	Van(30µg)	MIC *Kon
24. Saat												
<i>Enterobacter intermedius</i>	31,0±1,1 ^e	17,6±4,3 ^{bcd}	26,3±2,4 ^{de}	16,3±1,7 ^{bcd}	13,0±0 ^{bc}	11,0±0 ^b	10,0±0,5 ^b	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{bcd}	18,6±0,6 ^{bcd}	23,00±0 ^{cde}	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	41,6±3,3 ^e	33,0±6,4 ^{de}	30,3±0,6 ^d	18,3±0,6 ^{bc}	10,3±0,6 ^{ab}	9,0±0 ^{ab}	7,6±0,6 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{bc}	18,6±0,6 ^{bc}	23,00±0 ^{cd}	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	15,0±1,5 ^{bcd}	11,0±0 ^{abc}	8,0±0,5 ^{a b}	7,3±0,3 ^{a b}	7,3±0,3 ^{ab}	6,2±0,5 ^{ab}	6,6±0,3 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{cd}	18,6±0,6 ^{cd}	23,00±0 ^d	5 µL/mL
48. Saat												
<i>Enterobacter intermedius</i>	35,6±2,9 ^e	25,6±0,6 ^d	25,0±1,1 ^d	16,3±0,6 ^{bcd}	11,6±0,6 ^{bc}	9,6±0,6 ^{abc}	8,0±0,5 ^{ab}	2,00±2 ^a	17,1±6,8 ^{bcd}	18,6±0,6 ^{cd}	23,00±0 ^d	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	45,0±0 ^f	41,0±0 ^{ef}	35,0±0 ^{de}	29,0±0 ^{cd}	8,6±0,3 ^a	7,3±0,3 ^a	6,3±0,3 ^a	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^b	18,6±0,6 ^b	23,00±0 ^{bc}	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	13,3±0,3 ^{bcd}	9,3±0,8 ^{bc}	7,3±0,3 ^{ab}	7,3±0,3 ^{ab}	7,0±0 ^{a b}	6,6±0,3 ^{ab}	6,0±0 ^{ab}	0,00±0 ^a	17,1±6,8 ^{cde}	18,6±0,6 ^{de}	23,00±0 ^e	5 µL/mL

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur

* Kon:Konsantrasyon, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol Pen: Penisilin, Kan: Kanamisin, Van: Vankomisin

Lavandula x intermedia uçucu yağlarının uygulandığı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği fakat bu etkinin uygulanan antibiyotiklerle benzer veya daha düşük seviyede olduğu belirlendi. Vankomisin antibiyotiğine göre tüm uygulama dozlarının istatistiki olarak anlamlı ve düşük seviyede aktivite gösterdiği belirlendi. En düşük antimikrobiyal aktivite *P. syringae*'ya karşı ölçülürken uygulanan tüm dozların antibiyotiklere göre istatistiki olarak anlamlı ve düşük düzeyde aktivite gösterdiği görüldü. 48 saat sonucunda antimikrobiyal etkinin çoğunlukla azaldığı tespit edildi. (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *Lavandula x intermedia*'dan esansiyel yağının uygulandığı mikroorganizmalarda zon oluşumu (*L. monocytogenes*, *E. intermedium*, *P. syringae* bakterileri. Yukarıdan aşağıya görseldeki sıralamaya göre yazılmıştır)

Çizelge 4.3 *Lavandula x intermedia* uçucu yağlarının farklı zaman aralıklarında ve farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri

Bakteri	640 µL/mL	320 µL/mL	160 µL/mL	80 µL/mL	40 µL/mL	20 µL/mL	10 µL/mL	NK DMSO (10%)	Pen(30µg)	Pozitif Kontrol Kan(30µg)	Van(30µg)	MIC **Kon/*DD
<i>Enterobacter intermedius</i>	13,0±0 ^{bde}	11,0±0 ^{bcd}	9,0±0 ^{abcd}	5,3±2,7 ^{ab}	6,3±0,6 ^{abc}	7,0±1,1 ^{abc}	8,6±5,5 ^{abcd}	0,0±0 ^a	17,1±6,8 ^{cde}	18,6±0,6 ^{de}	23,0±0 ^e	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	9,0±0 ^{ab}	7,6±0,6 ^a	7,0±0 ^a	3,0±3 ^a	7,0±0 ^a	7,0± ^a	4,6±2,3 ^a	0,0±0 ^a	17,1±6,8 ^{bc}	18,6±0,6 ^c	23,0±0 ^e	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	5,2±0 ^a	5,7±0,2 ^a	7,0±1,1 ^a	7,0±0,5 ^a	6,6±0,6 ^a	6,0±0, ^a	6,0± ^a	0,0±0 ^a	17,1±6,8 ^b	18,6±0,6 ^b	23,0±00 ^b	5 µL/mL
48. Saat												
<i>Enterobacter intermedius</i>	10,3±0 ^{bcd}	9,0±0 ^{abc}	7,6±0,3 ^{ab}	6,6±0,3 ^{ab}	6,0±0 ^{ab}	5,9±0,5 ^{ab}	4,0±2 ^{ab}	0,0±0 ^a	17,1±6,8 ^{cde}	18,6±0,6 ^{de}	23,0±0 ^e	5 µL/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	7,3±0,3 ^a	8,3±1,3 ^a	7,0±0,5 ^a	7,6±0,8 ^a	6,6±0,3 ^a	6,3±0,3 ^a	6,0±0 ^a	0,0±0 ^a	17,1±6,8	18,6±0,6 ^b	23,0±0 ^b	5 µL/mL
<i>Pseudomonas syringae</i>	5,4±0,2 ^a	6,3±0, ^a	6,6±0,3 ^a	6,3±0,3 ^a	5,7±0,2 ^a	5,2±0 ^a	5,2±0 ^a	0,0±0 ^a	17,1±6,8 ^a	18,6±0,6 ^a	23,0±0 ^a	5 µL/mL

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur

* Kon:Konsantrasyon, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol Pen: Penisilin, Kan: Kanamisin, Van: Vankomisi

Origanum rotundifolium uçucu yağının en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *L. monocytogenes*, en düşük aktiviteyi *P. syringae* üzerinde gösterdiği tespit edildi. İlgili yağın *S.hortensis* ve Lavandula uçucu yağlarına oranla *P. syringae* bakterisine tüm dozlarda daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2).

4.2 Kaplama Filmlerinin Etkisinin Belirlenmesi

In vitro antimikrobiyal aktiviteleri belirlenen uçucu yağların, kaplama malzemelerindeki etkisini belirlemek için; domates meyveleri daldırma yöntemiyle kaplandı. Daha sonra mikroorganizma uygulanan kaplanmış domatesler inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik inkübasyon periyodundan sonra domates örnekleri ağırlıklarının 9 katı peptonla yıkanarak patojenlerin arındırılması gerçekleştirildi. Peptonla yıkanan her bir örnekten alınan solüsyon, muhtemel mikroorganizma varlığını tespit etmek için önceden hazırlanan katı besiyerlerine ekildi. Gelişim sürecinden sonra örneklerdeki toplam bakteri yükü gram başına düşen koloni sayısı ile belirlendi. Değerler log CFU/g (Colony Forming Unit/gram) şeklinde hesaplandı.

4.2.1 *Satureja hortensis* uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri

Altı grup şeklinde tasarlanan kaplama örneklerinin bakteri yükleri, her bir uçucu yağ için üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. *E. intermedius* uygulamalarında, *S. hortensis* uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin yağ içermeyen malzemeye göre daha az sayıda bakteri gelişimine izin verdiği gözlemlendi. Fakat aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edildi. Kaplama yapılmayan örneklerdeki patojen yükü, uçucu yağlarla hazırlanan örnekteki kadar tespit edilip istatistiksel olarak aynı sonuçlar verdiği gözlemlendi. *L. monocytogenes* patojeniyle bulaştırılan örneklerdeki yüklerinin de *E. intermedius*'a benzer sonuçlar verdiği tespit edildi. Öte yandan *P. syringae* uygulamalarında yağlı ve yağsız hazırlanan kaplama malzemelerinin kontrol amaçlı olan gruptan (İşlemsiz+Bakteri) daha fazla bakteri yüküne sahip olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.4). Sonuç olarak *Satureja hortensis* yağlarıyla hazırlanan kaplama malzemelerinin bakteri yükünü düşürmediği bazı örneklerde daha fazla bulaşmaya neden oldukları gözlemlendi.

Çizelge 4.4 *Satureja hortensis* uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri

Mikroorganizma	İşlemsiz (log CFU/g)	EO+Jelatin (log CFU/g)	<i>Satureja hortensis</i>			İşlemsiz+Bakteri
			Jelatin (log CFU/g)	EO+Jelatin+Patojen (log CFU/g)	Jelatin+Patojen (log CFU/g)	
<i>Enterobacter intermedius</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	2,6±1,3 ^b	4,8±0,3 ^b	2,5±1,2 ^b
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	1,39±1,3 ^a	2,38±1,2 ^a	2,28±1,1 ^a
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	3,2±0,1 ^c	2,3±1,1 ^{bc}	1,0±1 ^{ab}

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur

4.2.2 *Origanum rotundifolium* uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri

Origanum rotundifolium uçucu yağlarıyla hazırlanan kaplama malzemesiyle örtülen domates meyvelerinin üç farklı patojene karşı bakteriyel yükleri Çizelge 4.5'te sunuldu. Elde edilen sonuçlara göre kaplanmayıp mikroorganizma bulaştırılan hiçbir örnekte patojen gelişimi gözlenmedi. Aksine gerek uçucu yağlarla gerekse yağsız jelatin örneklerinde patojen gelişimi gözlemlendi. Yağlarla hazırlanan jelatine göre *P. syringae* ve *E. intermedius*'un yağsız jelatinde daha fazla geliştiği aradaki farkın ise istatistiki olarak önemli sayılabileceği tespit edildi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 *Origanum rotundifolium* uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri

Mikroorganizma	İşlemsiz (log CFU/g)	EO+Jelatin (log CFU/g)	<i>Origanum rotundifolium</i>			İşlemsiz+Bakteri
			Jelatin (log CFU/g)	EO+Jelatin+Patojen (log CFU/g)	Jelatin+Patojen (log CFU/g)	
<i>Enterobacter intermedius</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	2,4±1,2 ^b	4,9±0,2 ^c	0,0±0 ^a
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	2,1±1,0 ^b	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	2,2±1,0 ^b	4,2±0,2 ^c	0,0±0 ^a

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur.

4.2.3 *Lavandula x intermedia* uçucu yağıyla hazırlanan kaplama malzemesinin bakteriyel yükleri

Lavandula uçucu yağıyla oluşturulan kaplama malzemelerinin etkisi analiz edildiğinde kontrol örneklerinin jelatinli örneklere göre daha az patojen biriktirdiği tespit edildi. *E. intermedius* uygulamasında yağlarla hazırlanan kaplama malzemesinin yağsız

örneklere oranla daha az sayıda koloni gelişimine izin verdiği görülse de aradaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu sonucuna varıldı (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 *Lavandula x intermedia* uçucu yağlarıyla hazırlanmış biyokaplama malzemelerinin uygulandığı domates örneklerindeki patojen yükleri

Mikroorganizma	İşlemsiz (log CFU/g)	<i>Lavandula x intermedia</i>				İşlemsiz+Bakteri
		EO+Jelatin (log CFU/g)	Jelatin (log CFU/g)	EO+Jelatin+Patojen (log CFU/g)	Jelatin+Patojen (log CFU/g)	
<i>Enterobacter intermedius</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	3,4±1,7 ^b	4,9±0,03 ^b	3,8±0,04 ^b
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	2,1±1,05 ^b	2,2±1,1 ^b	1,0±1,0 ^{ab}
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	0,0±0 ^a	3,2±0,1 ^c	2,3±1,1 ^{bc}	1,0±1,0 ^{ab}

Aynı satırda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur.

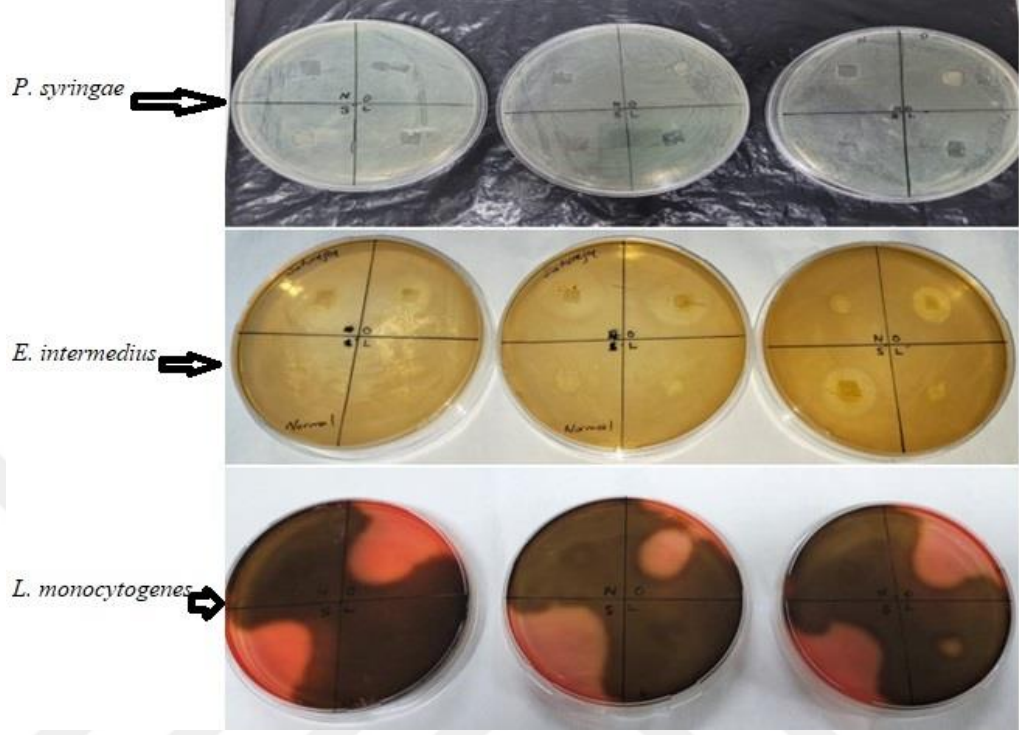
4.3 Kaplama Malzemelerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Saf olarak uygulandıklarında kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösteren uçucu yağların, domates meyvesiyle kaplanan örneklerdeki verilerine göre düşük seviyede aktivite gösterdikleri belirlendi. Uygulanan yağların kaplama malzemelerde patojen yükünü çoğunlukla düşüremediği gözlemlendi. Olası sebeplerini belirlemek üzere hazırlanan kaplama malzemelerinin domates meyvesine uygulanmadan antimikrobiyal etkileri ölçüldü. Üç farklı uçucu yağ kullanılarak hazırlanan kaplama malzemeleri ile uçucu yağ içermeyen kaplama malzemelerinin uygulandığı mikroorganizmalara karşı gösterdiği aktivite Çizelge 4.7’de sunuldu. Elde edilen verilere göre *L. monocytogenes* mikroorganizmasına karşı lavanta yağı ile hazırlanan kaplama malzemenin herhangi bir yağ içermeyen kaplama malzemesiyle istatistiki olarak benzer aktivite gösterdiği belirlendi. *O. rotundifolium* yağlarıyla hazırlanan kaplama malzemesi en yüksek oranda aktivite gösterirken bu değer pozitif kontrol ve *S. hortensis* içeren kaplamayla istatistiki olarak benzer aktivite gösterdiği belirlendi. Benzer şekilde *Enterobacter intermedius*’a karşı bir aktivite gözlenmişken *Pseudomonas syringae*’ye karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gözlenmedi (Şekil 4.4).

Çizelge 4.7 Uçucu yağ içeren ve içermeyen jelatin örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri

	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Enterobacter intermedius</i>
Yağsız Kaplama	0±0 ^a	0±0 ^a	5,6±2,9 ^a
<i>S. hortensis</i> +Kaplama	19,3±1,8 ^b	0±0 ^a	20,3±2,4 ^b
<i>O. rotundifolium</i> + Kaplama	21,3±0,3 ^b	0±0 ^a	17±2 ^b
<i>Lavandula x intermedia</i> + Kaplama	2,3±2,3 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
Negatif Kontrol	0±0 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a
Penisilin	21,0±7,9 ^b	21,0±7,9 ^b	21,0±7,9 ^b
Kanamisin	16,7±1,9 ^b	16,7±1,9 ^b	16,7±1,9 ^b
Vankomisin	23,0±0 ^b	23,0±0 ^b	23±0 ^b

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı fark yoktur



Şekil 4.4 *Satureja hortensis* (S), *Origanum rotundifolium* (O), *Lavandula x intermedia* (L) esansiyel yağlarını içeren ve içermeyen kaplama malzemelerinin uygulandıkları mikroorganizmalarda oluşturdukları zonlar

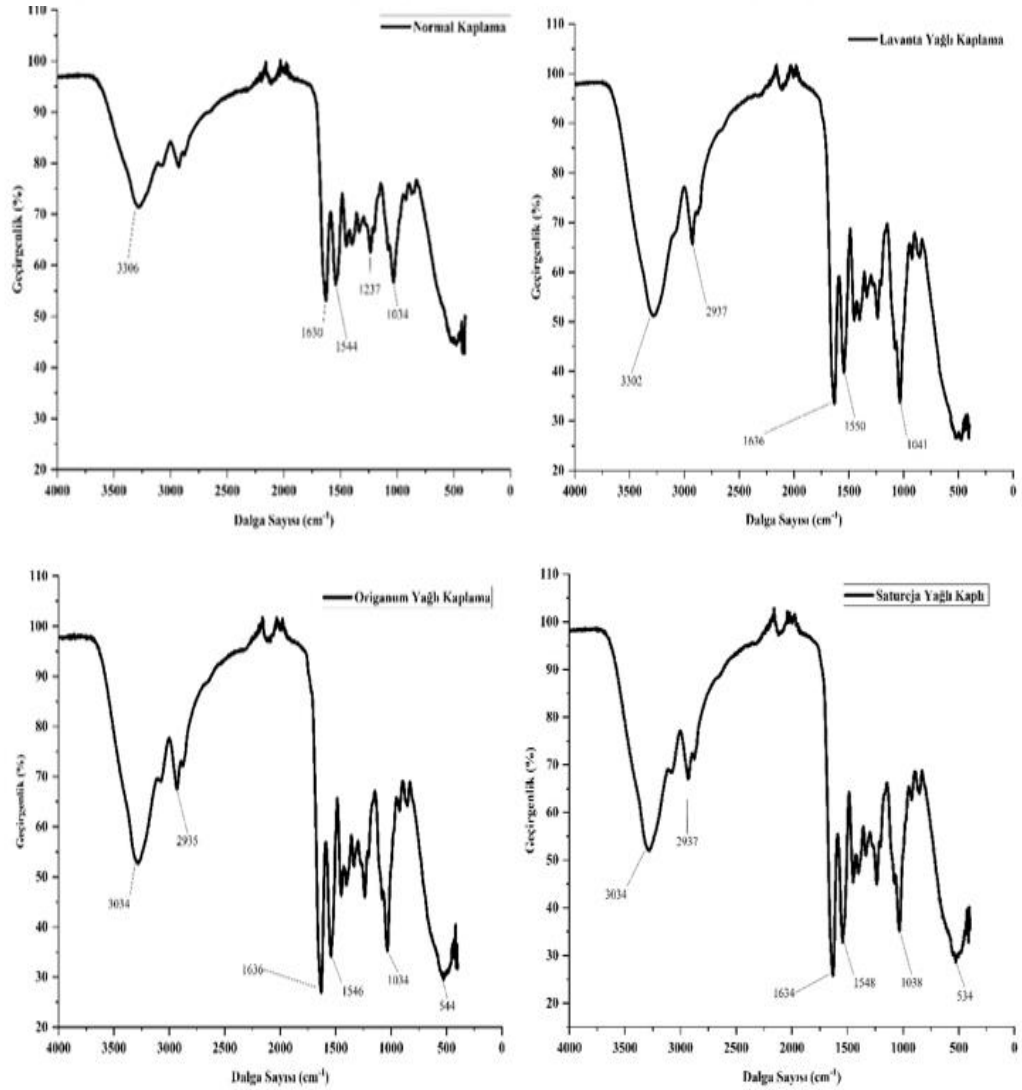
4.4 FTIR Analiz Sonuçlar

4.4.1 Yüzeysel fonksiyonel grup analiz sonuçları

Yüzeysel fonksiyonel grup analiz sonuçları literatürde belirtilen IR spektra ilişki çizelgesine göre değerlendirildi. FTIR verilerine göre grafiklerdeki dalga sayısı 500 ile 3500 cm^{-1} arasında piklere neden oldu. Yüzeysel moleküllerinin yapısal türevleri bu şekilde belirlendi. FTIR analizlerinde 600 ile 1.400 dalga sayısı arasındaki bölgeler elde edilen pikler karbon-karbon, karbon-oksijen ve karbon-azot arasındaki tekli bağları ifade eder. 1.600 ila 1.800 arasındaki pikler karbon-karbon, karbon-oksijen ve karbon azot arasındaki ikili bağları ifade ederken, 2.000 ile 2.500 arasındaki dalga sayısına sahip pikler ise karbon-karbon, karbon-azot arasındaki üçlü bağları ifade etmektedir. 2.500 ile 3.500 arasındaki pikler ise oksijen-hidrojen arasındaki bağlanmaları ifade etmektedir

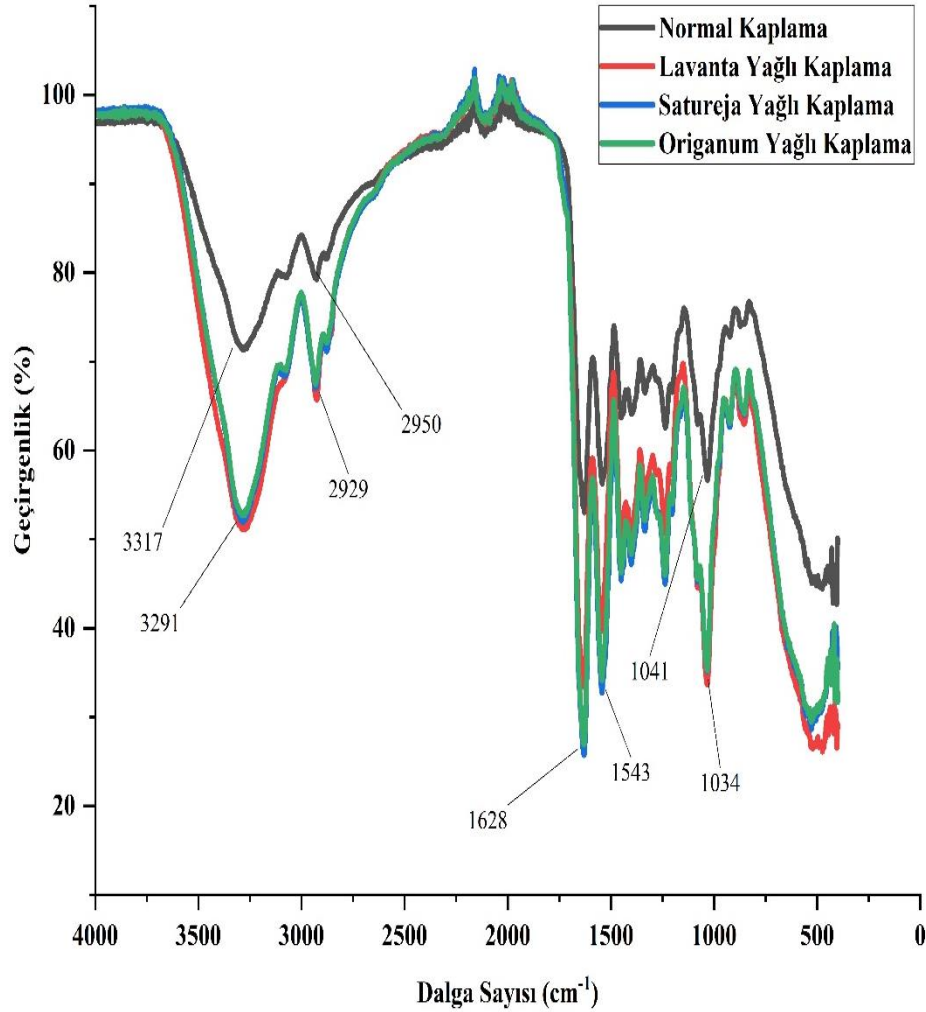
(İlgar, 2023). Çalışmada üretilen biyokaplama malzemelerinin FTIR spektrumları aşağıda sunuldu (Şekil 4.5).

Gerek uçucu yağ kullanılmadan gerekse kullanılarak üretilen kaplama malzemelerinin FTIR analizleri sonucunda genellikle 3500 ile 1000 cm^{-1} dalga sayısı arasında bağlara sahip oldukları gözlemlendi. Bu bağların çoğunlukla karbon-karbon, karbon oksijen ve karbon azot arasındaki ikili bağlar olduğu söylenebilir. Ayrıca 3300 cm^{-1} civarındaki piklerden, üretilen malzemelerin yüzeyinde oksijen-hidrojen bağlarının olabileceği (Beşergil, 2023) tespit edildi. Üretilen tüm malzemelerin benzer aralıklarda piklere sahip olduğu fakat oluşan bağ sayılarının uçucu yağlar kullanılarak hazırlanan malzemelerde daha yoğun olduğu gözlemlendi (Şekil 4.6)



Şekil 4.5 Üretilen kaplama malzemelerinin FTIR grafiği

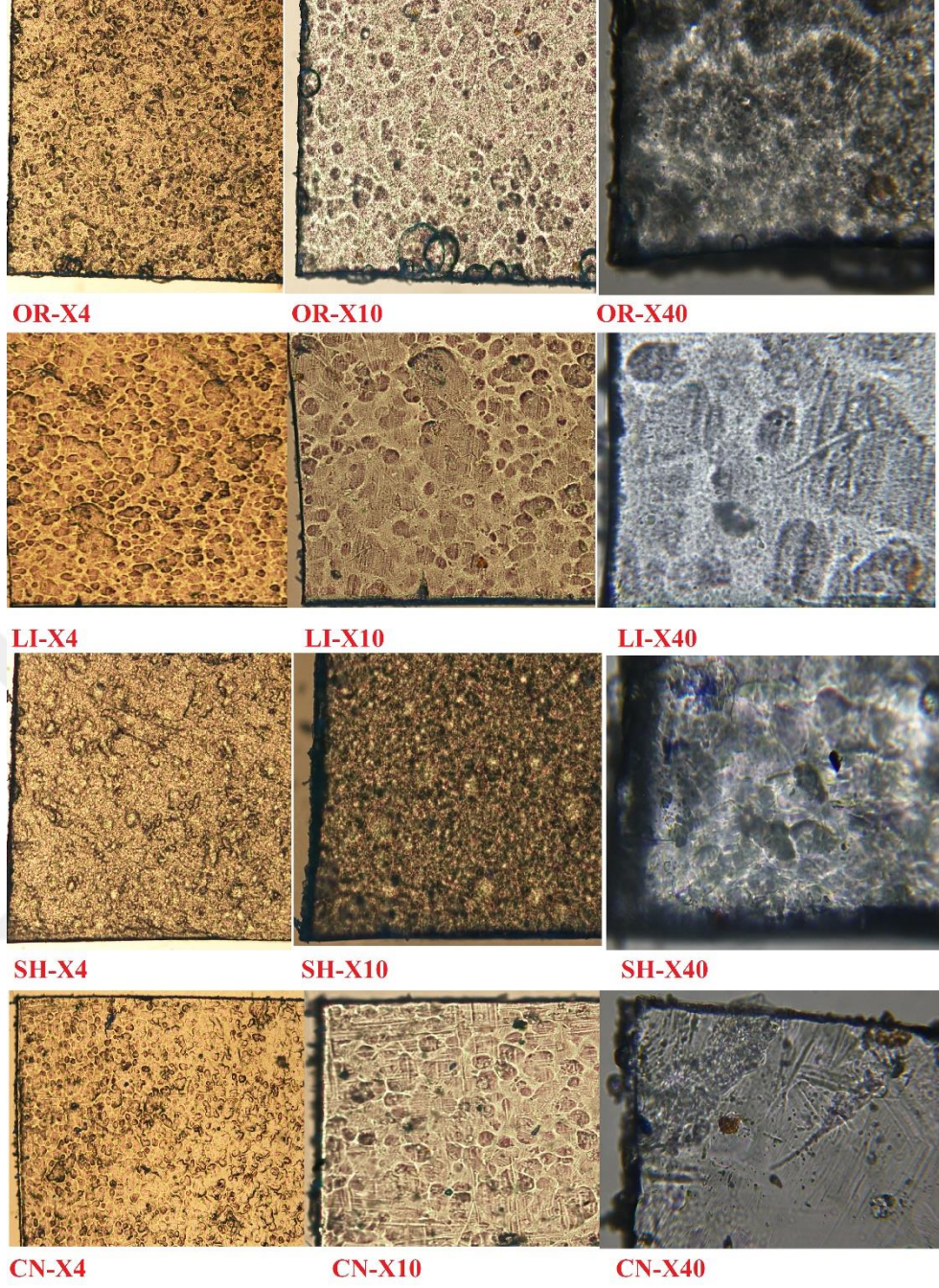
Üretilen kaplama malzemelerinin karşılaştırmalı grafiğinde dalga geçirgenliğinin uçucu yağlarla üretilen örneklerde kontrol örneğine göre yüksek olduğu fakat dalga sayısının ise neredeyse örtüştüğü belirlendi. Uçucu yağlarla hazırlanan malzemeler kendi içinde yüksek oranda benzerlik gösterdi (Şekil 4.6.)



Şekil 4.6 Üretilen tüm kaplama malzemelerinin FTIR grafiği

4.4.2 Üretilen biyoplastik ürünlerin mikroskopik görüntüleri

Satureja hortensis, *Lavandula x intermedia* ve *Origanum rotundifolium* uçucu yağlarıyla üretilen biyokaplama malzemeleri oda koşullarında kurutulduktan sonra +4°C’de muhafaza edildi. Üretilen malzemelerin Olympus CX21 marka mikroskopla çekilmiş görüntüleri şekil 4.7’de sunuldu. Uçucu yağlarla hazırlanan örneklerin yüzeylerinde kabacıklar veya oyuklar mevcutken kontrol örneğinin nispeten daha düz olduğu belirlendi.



Şekil 4.7 Uçucu yağlarla hazırlanan biyokaplama malzemeler ve kontrol örneklerinin mikroskop görüntüleri (OR: *Origanum rotundifolium*, LI: *Lavandula x intermedia*, SH: *Satureja hortensis*, CN: Kontrol, X4:40 kat büyütme, X10: 100 kat büyütme, X40: 400 kat büyütme)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Gıdalarda raf ömrü, maruz kalınan biyotik ve abiyotik faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Gıdalarda bu süreyi uzatmak için oksidasyonu engellemek, mikroorganizma faaliyetlerini önlemek ve koruyucu paketleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Lambert ve ark., 1991). Bu yöntemlerden bazıları kimyasal ve sentetik olmakla birlikte, tüketiciler tarafından en çok tercih edilenler doğal olanlardır. Gıda sanayisinde raf ömrünü uzatmada yaygın olarak kullanılan plastik ambalajlar petrol kaynaklı olduğundan ve uzun süre parçalanmadığından dolayı çevre kirliliğine sebep olmaktadır (Çelik ve Tümer, 2016). Bu durum herkes tarafından her ne kadar bilinse de alternatif olmayışı kullanımlarının önüne geçememektedir (Block ve ark., 2019). Bu bileşenlerden özellikle hidrokarbon türevli olanların doğrudan ve dolaylı olarak insan sağlığını etkilediği bilinmektedir. Söz konusu petrol türevlerinin deri ve göz tahrişi, sinirsel rahatsızlıklar ile stres gibi olumsuz durumlara neden oldukları tespit edilmiştir (Kuppusamy ve ark., 2016). Diğer taraftan aromatik hidrokarbonların da akuatik ekosistemler başta olmak üzere insan sağlığına zarar verdikleri bilinmektedir. Düşük miktarlarda gösteremedikleri etki, canlıdaki akümülyasyonla beraber yerini toksisiteye bırakmaktadır (Rajmohan ve ark., 2019). Söz konusu bileşenlerin gıdalarla doğrudan temasları ise daha olumsuz sonuçlar doğurabilir. Gıdalarda bulunan organik bileşenlerin petrol türevleriyle bağ yapma, yapısal değişimlere maruz kalma ya da bozulma gibi senaryolarla karşı karşıya kalmaları kaçınılmazdır.

Hem artan çevre sorunlarının önüne geçebilmek hem de gıdayı sentetik maddelerden uzaklaştırmak için biyobozunur yapıda ürünler üretmek önem arz etmektedir. Biyobozunur malzemelerin doğada çözünür olmasını sağlayan içerikler nişasta, selüloz, protein, polilaktik asit ve kitosan gibi maddelerdir. Gıda sanayisinde ve birçok alanda biyokaplamaların kullanımıyla birlikte çevre kirliliğinin önüne geçilmesi düşünülmektedir (Kılınç ve ark., 2017). Bu hedef doğrultusunda üretilecek materyallerin biyolojik bozunma süreleri, doğal ve koruyucu nitelikte olmaları önem arz etmektedir. Doğal olma özellikleri göz önüne alındığında üretilecek kaplama malzemelerinin bitkisel, bakteriyel veya hayvansal olması beklenir. Bunların arasından ise hem çevre dostu hem de daha kolay ulaşılabilecek ürünlerin kaynak olarak seçilmesi gerekir. Kaplama malzemelerinin üretim aşamasında farklı kaynaklardan faydalanmak mümkündür. Burada üzerinde durulması gereken husus maliyeti düşürmek ve kaplamaya özgünlük katacak etken maddelerin kolay bir şekilde eldesi olmalıdır. Tüm bunlar göz önüne

alındığında bitkisel kaynaklar hem elde ediliş şekilleri hem de diğer kaynaklara göre daha az maliyetli olacağından tercih sebebi olabilirler. Nitekim buna yönelik oldukça fazla çalışma yürütülmektedir. Gerek bitkisel organlarla gerekse bitkisel metabolitlerin kullanılarak oluşturulduğu malzemelerin sayısı her geçen gün artmaktadır. Örneğin; muzgillerden abaka bitkisinin lifleriyle hazırlanıp arılardan elde edilen balmumuyla kaplanmış kapların, gıdaların korunmasında kullanılabilecek alternatif ürünler olduğu vurgulanmıştır (Jahroo ve ark., 2021). *Malva sylvestris* ve *Lallemantia iberica* türlerinden elde edilen bileşenlerin; beraber kullanımıyla hindi etlerinin oksidatif hasarlara karşı korunabileceği ve böylece bu kaplama malzemesinin yenilebilir bir kaplama olma potansiyeline sahip olduğu yapılan diğer bir çalışmayla ortaya konmuştur (Mojarradi ve ark., 2023). Üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağların çilek meyvelerinin uzun süre koruduğu (Viscusi ve ark., 2022), tarçın yağıyla üretilen kaplama malzemesinin balık filetolarında, 15 günlük süre boyunca bakteri yüklerini azaltıp koruyucu olabilecekleri (Andevari ve Rezaei, 2011), balık yağından elde edilen kaplama malzemelerinin ise karideslerin raf ömrünü 10 güne kadar arttırabileceği (Jiang ve ark., 2011) gibi birçok çalışmaya rastlamak mümkündür (Eser ve Doğruer, 2022).

Kaplama malzemeleri hazırlanırken özellikle antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösteren ürünlerin seçiminde bitkisel bileşenler başta gelir. Sekonder metabolit olarak üretilen birçok bitki bileşeninin bu özelliklere sahip olduğu bir gerçektir. Metabolitler farklı çeşitlerde olabilirken en etkili sekonder bileşenler olarak uçucu yağlar göze çarpmaktadır. Bundan yola çıkarak mevcut çalışmada uçucu yağ verimi ve biyolojik aktivitesi yüksek olan ve günümüzde birçok alanda kullanılan üç farklı bitki (*Satureja hortensis*, *Origanum rotundifolium*, *Lavandula x intermedia*) seçildi. Bu yağlarla hazırlanan kaplama malzemelerinin patojenlere karşı etkisi ise bitki ve insan patojenlerine karşı denendi. Gıdalarda bozulmaya sebep olan birçok mikroorganizma bulunmaktadır. Çoğunluk gıdaya bazen de gıdayla insanlara bulaşabilen bu mikroorganizmalar patojenite gösterip enfeksiyonlara neden olabilirler. Mevcut çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *Listeria monocytogenes*, bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ve yaşlılarda merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarına neden olabilmektedir (Lecuit, 2020). *Kluyvera intermedia* olarak yeniden sınıflandırıldığı (Sass ve Fisher, 2009) ifade edilen *Enterobacter intermedius* insan sindirim sisteminin normal florasının bir parçası olarak kabul edilirken yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, karın içi apselere, kan dolaşımı enfeksiyonlarına ve septik şoka neden olan nadir bir enfeksiyon ajanı olarak rapor edilmiştir (Thele ve ark., 2017). *Pseudomonas syringae* ise yaralı bitki

dokularından apoplasta inip hastalık yapan bitki patojeni olarak bilinmektedir (Xin ve ark., 2018).

Çalışmada kullanılan *Satureja hortensis* uçucu yağlarının test edilen mikroorganizmaların tamamında antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Kullanılan antibiyotiklerle karşılaştırıldığında *S. hortensis* uçucu yağlarının antibiyotiklere göre önemli derecede ve yüksek oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. Uçucu yağların sadece *P. syringae*'ye karşı vankomisin antibiyotiğiyle aynı değerlerde aktivite gösterdiği tespit edildi (Çizelge 4.1). Söz konusu bitkiden elde edilen uçucu yağların *Pseudomonas* cinsine ait türlerde düşük aktivite gösterebileceği önceki çalışmalarda da vurgulanmıştır (Koşçak ve ark., 2023). Fakat daha yüksek oranda ve saf olarak (2 µL) uygulamasına rağmen Abou Baker ve ark. (2020)'nin çalışmalarının aksine mevcut çalışmada daha yüksek değerlerde bakteriyel zon oluştuğu tespit edildi. Bu durum birçok çalışmada uçucu yağların içeriklerine ve bu içeriklerin bulunma oranına bağlı olarak ifade edilmektedir (Bozari, 2016). Öte yandan yüksek oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen; bu yağlarla hazırlanan kaplama malzemelerinin buna paralel etki göstermediği belirlendi (Çizelge 4.3). Hatta en düşük aktivitenin görüldüğü *Pseudomonas syringae* uygulamasında kontrole göre anlamlı sayılacak oranda daha fazla mikroorganizma geliştiği belirlendi. Yağsız kaplama uygulamalarının ise *P. syringae* dışında aktivite gösterdiği belirlendi (Çizelge 4.6). Yüzey fonksiyonel grubu sonuçlarında ise uçucu yağlarla üretilen örneklerin aynı dalga sayısında fakat daha fazla oranlarda bağlara sahip oldukları belirlendi. Aktivite gösterebilecek potansiyele sahip bağların kararlı hale geçmesi uçucu yağların etkinliğini azaltmış olabilir. Literatürde çalışmamızın aksine *Satureja hortensis* uçucu yağlarıyla üretilen biyokaplama malzemelerin artan uçucu yağ dozuna bağlı olarak daha opak, daha esnek ve daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Honarvar ve ark., 2021). Fakat çalışmamıza benzer şekilde, Akin ve ark. (2021) da türden elde edilen ekstraların kullanılarak antibakteriyel kaplama ürünlerinin geliştirilebileceğini ifade etmişlerdir. Öte yandan bu bileşenlerin antimikrobiyal etkileri dışında gıdalarda ağırlık kaybı ve doku bozulmalarını önlemede alternatif olabileceği vurgulanmıştır (Farnejad ve ark., 2022).

Origanum rotundifolium uçucu yağlarının test edilen mikroorganizmalara etkisi incelendiğinde *Satureja hortensis* uçucu yağlarına benzer bir aktivite tespit edildi. *P. syringae*'ye karşı tespit edilen antimikrobiyal etki antibiyotiklere göre anlamlı ölçüde düşük olarak belirlendi. *E. intermedius*'a karşı 640 µL/mL dozunda pozitif kontrole göre

anamlı ve yüksek oranda aktivite tespit edilirken *L. monocytogenes* patojenine karşı ise 640 -160 µL/mL dozlarında önemli farklılıklar tespit edildi (Çizelge 4.2). Özellikle *P. syringae* ve *E. intermedius*'a karşı söz konusu uçucu yağların mevcut çalışmaya benzer şekilde aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Çetin ve ark., 2011; Gormez ve ark., 2016). *O. rotundifolium* ile ilgili sınırlı sayıda çalışma varken bu cinse ait diğer türlerle ilgili oldukça fazla yayın bulunmaktadır. Söz konusu cinse ait türlerle yapılan çalışmalarda gram negatif olan *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi mikroorganizmalara karşı önemli aktivite sergiledikleri ifade edilmiştir (Aligiannis ve ark., 2001). Uçucu yağlarla hazırlanan kaplama malzemeleriyle muamele edilen domates örneklerinin *E. intermedius*'a karşı yağsız uygulamalara nazaran direnç gösterdiği ve bu farkın anlamlı olduğu görüldü (Çizelge 4.4). Diğer mikroorganizmalarda elde edilen sonuçlar arasında önemli bir fark gözlenmezken herhangi bir kaplama yapılmayan domates örneklerinde bakteri gelişimine rastlanmadı. Gıdaların çeşitli etmenlerle bozulmasını önleyen ve doğaya zarar vermeden kolayca çözünebilen koruyucu özelliğe sahip organik maddelerden biri olan ve *Origanum* cinsinden elde edilen esansiyel yağların gıda korumada kullanımlarıyla ilgili literatürde çok sayıda çalışma vardır. Fakat *Origanum rotundifolium* ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Diğer türlerle ilgili çalışmalar ise şöyledir. Örneğin; bir kekik türü olan *Origanum vulgare* bitkisinin içerdiği karvakrol ve timolün et ve et suyunda bulunan *L. monocytogenes*'in büyümesini engellemede etkili olduğu belirlenmiştir (Seaberg ve ark., 2003). Yine bu cinse ait türlerle yapılan çalışmada üretilen kaplama filmlerinin bakteri yükünü 14 günlük bekleme süresi sonunda kontrole göre düşürdükleri ifade edilmiştir (Torlak ve Nizamlioğlu, 2011). Bu türlere ait esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı gıda ve ziraat alanlarında kullanımları teşvik edilmektedir. Örneğin bu kekik uçucu yağlarıyla marine edilen kerevitler +4°C'de saklanarak besinde meydana gelen morfolojik ve duysal değişimler ve patojen yükleri hesaplanmıştır. Buna göre söz konusu mikroorganizmaların sayılarında azalma meydana geldiği saptanmıştır (Çoban, 2012). Yapılan diğer bir çalışmada iki farklı kekik türüne ait esansiyel yağlarla likopen içerikli soya bazlı yenilebilir film elde edilerek sığır etine uygulanan patojenlere belirlenmiştir (Candoğan, 2009). Domates uygulaması yapılmadan hazırlanan kaplama malzemelerinin *L. monocytogenes* ve *E. intermedius*'a karşı önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenirken *P. syringae*'ya karşı herhangi bir aktivite görülmedi. Yüzey fonksiyonel grupların kontrole benzer fakat daha fazla sayıda bağ yaptığı belirlendi. Saf halde ve kaplama malzemeleriyle birlikte hazırlanıp kurutulmuş örneklerde aktivite gösteren

uçucu yağların daldırma yöntemiyle gıda kaplamada yeterince aktivite gösterememesinin farklı nedenleri olabilir. İçerik olarak farklı bileşen taşıyan uçucu yağların ısı ile hazırlanan malzemeye eklenirken mikrobiyal aktivite gösteren bileşenlerinin uçmuş olma ihtimali mevcuttur. Nitekim konuyla ilgili yapılan çalışmalarda farklı sıcaklık düzeylerinin uçucu yağ bileşen sayısını etkilediği öne sürülmüştür (Arabhosseini ve ark., 2006). Öte yandan bileşenin homojen dağılmaması durumunda da ölçümlerde zorluklar yaşanabilmektedir. Çalışmamızda bazı uygulamalarda sonuç alınmamış olması bu şekilde açıklanabilir.

Çalışmamızda en düşük antimikrobiyal aktivite *Lavandula x intermedia* uygulamalarından elde edildi. Uygulandığı her üç bakteride de aktivite göstermesine rağmen pozitif kontrollerle karşılaştırıldığında bu etkinin istatistiki olarak oldukça düşük olduğu tespit edildi (Çizelge 4.3). Mevcut çalışmadan farklı olarak Tardugno ve ark. (2019) ve Jianu ve ark. (2013) bu türden elde edilen uçucu yağların önemli aktivitelerinin olduğunu savunmuşlardır. Hatta antimikrobiyal aktivite ile ilişkilendirilen linalol bileşeninin olmamasına rağmen aktivite görüldüğü rapor edilmiştir. Söz konusu çalışmalar incelendiğinde yüksek dozlarda uygulamalar yapıldığı ve pozitif kontrol kullanılmadığı görülmektedir. Dolayısıyla bitkiden elde edilen uçucu yağların aslında aktivite gösterdiği fakat diğer uçucu yağlar ve kontrole kıyaslandığında bu etkinin sınırlı kaldığı söylenebilir. Biyokaplama malzeme uygulamasında ise korucu bir etkisinin olmadığı belirlendi. Hatta *Pseudomonas syringae* gelişimini teşvik ettiği tespit edildi. Çalışmada kullanılan uçucu yağ oranı %2 olarak belirlenmiş ve uygulamalar bu şekilde gerçekleştirilmiştir. Fakat yapılan diğer çalışmalarda bu oranın arttıkça üretilen malzemenin mekanik değerleri, su geçirgenlik özelliklerinin iyileştiğini göstermektedir (Zhang ve ark., 2014). Kaplama malzemesinde kullanılan yağ oranının artmasıyla yüzey fonksiyonlarında yeni etkileşimlerin meydana geldiği ve gerek mekanik gerek mikrobiyal etkinliklerinin artacağı ifade edilmiştir (Hosseini ve ark., 2023). Literatüre göre düşük oranlarda kullanılan uçucu yağlarla hazırlanan filmlerin de antimikrobiyal aktiviteye neredeyse hiç sahip olmaması bu durumla açıklanabilir. Diğer bitkilere oranla daha fazla ticari öneme sahip olan *Lavandula* bitkisi içerdiği yağ bileşenleriyle gıda koruma dışında geleneksel tıpta, haşere kontrolünde, kozmetik ve parfümeride de kullanılmaktadır (Wells ve ark., 2018). *Lavandula angustifolia* bitkisinden elde edilen uçucu yağların fareler üzerinde tıbbi alanda denendiği bir çalışmada farelerde karın ağrısını azalttığı ve ödemi engellediği belirlenmiştir (Hajhashemi ve ark., 2003). Bir başka çalışmada *Lavandula bipinnata* uçucu yağının bakteri ve mantarlara karşı inhibe edici etkiye sahip olduğu

gözlemlenmiştir (Hanamanthagouda ve ark., 2010). Dolayısıyla türün biyolojik aktivitesinin değişkenlik gösterebileceği kanısına varılmıştır.

Yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılan bitkisel (mısır zeini, soya proteini, buğday gluteini) ve hayvansal kökenli (keratin, jelatin, kollajen) protein bazlı filmler; lipit, oksijen, karbondioksit ve aroma transferlerine karşı iyi bariyer özelliği göstermektedirler (Cutter, 2006). Ancak bu filmlerin mekanik özellikleri zayıf, su buharı geçirgenliği yüksek ve suya direnci azdır. Bu özelliklerinden dolayı diğer polimer bileşiklerle kompozit edilerek kullanılmaktadırlar (García ve ark., 2004). Beraber kompoze edildikleri bileşenlerle oluşturulacak bağlar kompozit malzemenin biyolojik veya mekanik özelliklerini etkileyebilir. Mevcut çalışmada kullanılan sığır jelatini de protein bazlı hidrofilik bir jelatindir. Bu özelliklerinden dolayı jelatinler su buharıyla temas ettiklerinde mekanik özellikleri de azalabilmektedir (Chiono ve ark., 2008). Polisakkarit ve jelatin bazlı filmlerde kullanılan gliserol ve sorbitol gibi plastikleştiricilerin de hidrofilik yapıda olması bu filmlerin protein ağ yapısını değiştirerek su buharı geçirgenliğini artırdığı belirlenmiştir (Al-Hassan ve Norziah, 2012). Ayrıca içerdiği hidrojen bağları sebebiyle oksijene karşı geçirgenliği az olan jelatinin bu plastikleştiriciler (gliserol) eklenince oksijene geçirgenliğinin arttığı görülmüştür (Herring ve ark., 2010). Yüzeydeki fonksiyonel grupların bağ yapması uçucu yağların etkinliğinin azalmasına neden olmuş olabilir. Bu durum önceki çalışmalarda da ifade edilmiştir. Uçucu yağların içerdiği fenolik bileşiklerin kararsız olduğu ve bozularak fenolik aldehitler oluşturabildiği; bu durumun uçucu yağların biyolojik aktivitesinin önüne geçebildiği belirlenmiştir (Oussalah ve ark., 2004).

Uygulama dozları, kompoze edildikleri malzemenin farklılığı dışında düşük aktivite görülmesinin bir diğer sebebi kaplama modeliyle ilgili olabilir. Daldırma yöntemiyle kaplanan domateslerin her bölgesinin yeterince kaplanmaması, sap bölgelerinin mekanik olarak farklı olması sayılabilir. Öte yandan kullanılan domates meyvelerinin taşıdıkları kimyasal pestisitler de mikrobiyal yükü etkilemiş olabilir.

5.1 Öneriler

İnsan nüfusunun ve yaşam şeklinin değişmesiyle birlikte gıdalarda kullanılan sentetik katkı maddelerinin de sayısı artmıştır. Bu katkı maddelerinin sağlık üzerinde olumsuz etkilerinin artması ve tüketicilerin doğal ürünlere yönelmesinden dolayı bitkisel ürünler ve bu ürünlerden elde edilen sekonder metabolitlerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Dolayısıyla bitkisel bileşiklerin gıdalarda kullanımının geliştirilmesine yönelik

çalışmalar da hızlanmıştır. Çünkü bitkisel ürünlerden elde edilen bileşikler, gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal ve antioksidan etki göstermeleri nedeniyle gıda güvenliğini sağlamada önemli bir potansiyel sunmaktadır. Gıdanın raf ömrünü uzatmada paketleme önemli bir yer tutmaktadır. Mevcut çalışmada bu durum göz önüne alınarak esansiyel yağ içeren doğal paketleme ürünlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre *in vitro* şartlarda önemli aktiviteler gösteren bileşenlerin kompozit malzeme üretimiyle bu aktivitesini belli ölçüde kaybettiği anlaşılmaktadır. Üretilen malzemenin gıdaya uygulanma aşamasında ise aktivitenin neredeyse tamamen ortadan kalktığı görülmektedir. Bu durumun esansiyel yağın elde edildiği bitkiden bitkiye ve uygulandıkları bakterilere göre değiştiği kanısına varılmıştır. Kullanılan uçucu yağlardan *O. rotundifolium* ile *S. hortensis* uçucu yağlarının en etkili içerikler olduğu, *P. syringae*'nin ise bu yağlara en dirençli mikroorganizma olduğu tespit edilip sonraki süreçlerde yürütülecek çalışmalarda bu durumun göz önünde bulundurularak dozların ve kompozit malzemelerin belirlenmesi önerilmektedir. Bununla birlikte esansiyel yağların bitkiden elde edilen miktarları düşünüldüğünde büyük ölçekte gıda ürünlerini paketlemede kullanımını oldukça zor olacaktır. Ayrıca uçucu özellikte olması gıdalarda etkisinin zamanla azalmasına sebep olacağından koruyucu özelliğini de yitirmesi göz önünde bulundurulmalıdır. Bu yüzden uçucu yağların etkisinin kaybolmasını önleyen çeşitli yöntemler geliştirilebilir. Gıda üzerinde kullanılacak bu bileşenlerin insanlar üzerinde alerjik veya toksik etkisi de dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abou Baker, D.H., Al-Moghazy, M., ElSayed, A.A.A. 2020. The in vitro cytotoxicity, antioxidant and antibacterial potential of *Satureja hortensis* L. essential oil cultivated in Egypt, *Bioorganic chemistry*, 95, 103559.
- Akarca, G., Tomar, O. 2018. Siyah ve Yeşil Çay İle Üretilen Kombucha Çaylarının Antimikrobiyal ve Antioksidatif Özellikleri, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* (14), 96-101.
- Akarsu, H. (2016), "Buzdolabında (+ 2±1° c) vakum paketlenerek depolanmış alabalık (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) filetolarının kalitesine farklı kekik (*Origanum onites* L.) ekstraktlarının etkisi", *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Su Ürünleri ...*,
- Akin, M., Sahin, B., Saki, N. 2021. Hydroxypropyl methyl cellulose-*Satureja hortensis* L. ethanol extract mixtures as antimicrobial coating for sutures, identification of phenolic acids by using LC-MS-MS and TLC techniques, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 44 (15-16), 733-740.
- Al-Hassan, A.A., Norziah, M. 2012. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers, *Food hydrocolloids*, 26 (1), 108-117.
- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species, *Journal of agricultural and food chemistry*, 49 (9), 4168-4170.
- Alimohammadi, A., Moosavy, M.-H., Doustvandi, M.A., Baradaran, B., Amini, M., Mokhtarzadeh, A., de la Guardia, M. 2021. Sodium metabisulfite as a cytotoxic food additive induces apoptosis in HFFF2 cells, *Food chemistry*, 358, 129910.
- Andevvari, G.T., Rezaei, M. 2011. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage, *International journal of food science & technology*, 46 (11), 2305-2311.
- Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., Martínez-Monzó, J. 2013. Effect of pH on color and texture of food products, *Food Engineering Reviews*, 5, 158-170.
- Anonim, 2023a, *Origanum rotundifolium*, https://en.wikipedia.org/wiki/Origanum_rotundifolium[Erişim Tarihi: 20/11/2023].
- Anonim, 2023b, *Satureja hortensis*, https://en.wikipedia.org/wiki/Summer_savory[Erişim Tarihi: 30.11.2023].
- Anonim, 2023, Kanamycin, <https://go.drugbank.com/drugs/DB01172>[Erişim Tarihi: 20.11.2023].
- Arabhosseini, A., Padhye, S., van Beek, T.A., van Boxtel, A.J., Huisman, W., Posthumus, M.A., Müller, J. 2006. Loss of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) due to drying, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (15), 2543-2550.

- Arah, I.K., Amaglo, H., Kumah, E.K., Ofori, H. 2015. Preharvest and postharvest factors affecting the quality and shelf life of harvested tomatoes: a mini review, *International Journal of Agronomy*, 2015.
- Armutak, Y., Bayındırlı, A. 1995. Gıdalarda raf ömrü belirleme yöntemleri, *Gıda*, 20 (4).
- Arslan, G. (2011), "Gıda katkı maddeleri ve yeni yapılan dioksimlerin gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi", Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Arslan, M. 2019. Üzüm Çekirdeği Tozunun Çiğ ve Pişmiş Dana Eti Köftelerde Antioksidan Kapasite ve Lipit Oksidasyonuna Etkisi.
- Atasever, M., Atasever, M. 2007. Işınlamanın gıda teknolojisinde kullanımı, *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 2, 107-116.
- Baik, M.Y., Suhendro, E., Nawar, W., McClements, D., Decker, E., Chinachoti, P. 2004. Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81 (4), 355-360.
- Baladura, E., Şimşek, B. 2014. Doğal antioksidanlar ve süt ve süt ürünlerinde kullanımı, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (2), 155-162.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H., 2005, Food powders: physical properties, processing, and functionality, *Springer*,
- Bayaz, M. 2014. Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 12 (3).
- Beşergil, B., 2023, IR Absorpsiyon Spektroskopisi; Uygulamalar (applications), http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_799.html[Erişim Tarihi: 26.09.2023].
- Binbir, U., Türkmen, C., ÇIKILI, Y., Coşkun, Y., İsmail, T. 2021. Lavandin Uçucu Yağının Mısır (*Zea mays* L.) Çimlenme ve Fide Gelişimine Etkileri, *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9 (1), 89-95.
- Block, W.E., Whitehead, R., Block, W.E., Whitehead, R. 2019. Environmental Takings: The Case for Full Water Privatization, *Philosophy of Law: The Supreme Court's Need for Libertarian Law*, 281-317.
- Boğa, A., Binokay, S. 2010. Gıda katkı maddeleri ve sağlığımıza etkileri, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19 (3), 141-154.
- Boran, M. 2016. Gıda Katkı Maddelerinde Helâllik Ve Haramlık Ölçüleri, *Journal of International Social Research*, 9 (42).
- Bozari, S. (2011), "Lamiaceae Familyasına ait Farklı Türlerden Elde Edilen Allelopatik Potansiyele Sahip Esansiyel Yağların Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi", *Doktora, Biyoloji*, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 166.
- Bozari, S. 2016. Measuring of the genotoxic and potential antioxidant effects of essential oil obtained from *Satureja hortensis* against to *Phaseolus vulgaris*, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59.
- Bozhöyük, A.U., Kordalı, Ş., Bölük, G. 2015. *Satureja hortensis* L. uçucu yağının antifungal etkisi, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46 (2), 107-112.

- Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S., Thorngate, J., 2001, Food additives, *CRC Press*,
- Bulca, S. 2014. Çörek Otuunun Bileşenleri Ve Bu Yağın Ve Diğer Bazı Uçucu Yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı, *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11 (2), 29-36.
- Candoğan, K. 2009. Antimikrobiyal ve Antioksidan Özellikteki Yenilebilir Filmlerin Taze Etlerin Raf Ömrüne Etkisi.
- Ceker, S., Agar, G., Alpsoy, L., Nardemir, G., Kizil, H.E. 2013. Protective role of essential oils of *Calamintha nepeta* L. on oxidative and genotoxic damage caused by Aflatoxin B-1 in vitro, *Fresenius Environ. Bull*, 22, 3258-3263.
- Chiono, V., Pulieri, E., Vozzi, G., Ciardelli, G., Ahluwalia, A., Giusti, P. 2008. Genipin-crosslinked chitosan/gelatin blends for biomedical applications, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19, 889-898.
- Coşkun, F. 2006. Gıdalarda bulunan doğal koruyucular, *Gıda teknolojileri elektronik dergisi*, 2, 27-33.
- Cutter, C.N. 2006. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods, *Meat science*, 74 (1), 131-142.
- Çakmak, A. (2012), "Satureja hortensis L. özütünün Ehrlich asit tümörü oluşturulmuş Swiss Albino türü farelerde in vivo antitümöral etkisinin araştırılması", *Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Çakmakçı, S., Gökalp, H.Y. 1992. Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23 (2), 174-192.
- Çelik, İ., Tümer, G. 2016. Gıda Ambalajlamada Son Gelişmeler, *Akademik Gıda*, 14 (2), 180-188.
- Çetin, B., Çakmakçı, S., Cakmakci, R. 2011. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils, *Turkish Journal of Agriculture and forestry*, 35 (2), 145-154.
- Çoban, E. 2012. Biberiye ve kekik esansiyel yağları katkısının marine edilmiş kerevitlerin (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) raf ömrüne etkisinin belirlenmesi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18 (5).
- Çoban, Ö.E., İnanlı, A.G., Çelik, B., Yüce, S. 2018. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Filetolarının Muhafazası Sırasında Kimyasal ve Duyusal Kalitesi Üzerinde Doğal Koruyucu Maddelerle Zenginleştirilmiş Kitosan Yenilebilir Kaplamaların Etkileri, *Ecological Life Sciences*, 13 (4), 182-191.
- Çoban, Ö.E., Patır, B. 2010. Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5 (2), 7-19.
- Çolak, H., Uğurluay, G., Nazlı, B., Bingöl, E. 2011. Paketlemede kullanılan nem tutucu filtrelerin hindi etinin raf ömrü üzerine etkisi, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37 (2), 107-116.
- da Rocha Neto, A.C., Beaudry, R., Maraschin, M., Di Piero, R.M., Almenar, E. 2019. Double-bottom antimicrobial packaging for apple shelf-life extension, *Food chemistry*, 279, 379-388.

- Dadaşoğlu, F. 2016. Yumuşak Çürüklük Etmeni *Bacillus pumilus* İzolatlarına Karşı Çakşır Otu (*Ferula communis*) Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin Antibakteriyel Etkisi, İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6 (4), 83-90.
- Davidson, P.M., Juneja, V. 1990. Antimicrobial agents, Food additives., 83-137.
- Dikbas, N., Kotan, R., Dadasoglu, F., Karagöz, K., Çakmakçı, R. 2009. Correlation between Major Constituents and Antibacterial Activities of Some Plant Essential Oils against Some Pathogenic Bacteria, Turkish Journal of Science & Technology, 4 (1).
- Doğan, N., Doğan, C., Hayođlu, İ. 2014. Farklı sıcaklık ve süre uygulamalarının *pleurotus ostreatus* (istiridye mantarı)'un bazı özelliklerine etkisi, Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 18 (4), 10-16.
- Doyle, M.P., Diez-Gonzalez, F., Hill, C., 2020, Food microbiology: fundamentals and frontiers, *John Wiley & Sons*,
- Dönmez, M.F., Şahin, B.U., Bozhöyük, A.U. 2020. Satureja Türlerinden Elde Edilen Uçucu Yağ ve Estrelerinin Fasülyede Bakteriyel Patojenlere Karşı Antibakteriyel Etkisi, Journal of Agriculture, 3 (2), 57-70.
- Dönmez, M.F., Şahin, B.U., Bozhöyük, A.U. 2022. Antibacterial activity of plant essential oils obtained from Satureja species against *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*, Journal of the Institute of Science and Technology, 12 (1), 91-103.
- Ekici, K., İşleyici, Ö., Sağun, E. 2004. Süt ve süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* varlığı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15 (1), 97-101.
- Emel, Ü., Erginkaya, Z. 2010. Probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu, Gıda, 35 (4), 297-304.
- Eraslan, Z. 2017. Zeytin Yaprağı Ekstrakt Kullanımının Biber Salçalarındaki Kalite Değişimi Üzerine Etkisi.
- Ergün, D., Taşkın, A., Ergün, F. 2023. Kuluçkalık tavuk yumurtalarına değişik dozlarda uygulanan Satureja hortensis L. bitki ekstraktının yumurta kabuk mikrobiyal yükü ve kuluçka sonuçlarına etkisi, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 10 (1), 60-67.
- Erkan, T. 2010. Food additives / Gıdalardaki katkı maddeleri, Turkish Pediatrics Archive, 315+.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., Aydın, H. 2010. Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri, Cumhuriyet Medical Journal, 32 (4), 281-286.
- Eser, Y., Doğruer, Y. 2022. Gıdalarda yenilebilir filmler ve kaplamalar, Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi (28), 18-29.
- Evirgen, Ö. 2005. *Listeria monocytogenes* infeksiyonu; kliniği, tanı ve tedavi özellikleri, Van Tıp Dergisi, 12 (1), 32-35.
- Farmer, J., Farmer, M., Holmes, B. 2010. The Enterobacteriaceae: general characteristics, Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 2, 1317-59.
- Farnejad, S., Nouri, M., Safari Dolatabad, S. 2022. Obtaining of chickpea protein isolate and its application as coating enriched with essential oils from Satureja Hortensis

- and Satureja Mutica in egg at room temperature, *International Journal of Food Science & Technology*, 57 (1), 400-407.
- Feyzioğlu, G.C. (2016), "Satureja hortensis L. uçucu yağı yüklenmiş kitosan nanopartiküllerinin ve kitosan filmlerinin üretimi ve karakterizasyonu",
- García, M.a.A., Pinotti, A., Martino, M.N., Zaritzky, N.E. 2004. Characterization of composite hydrocolloid films, *Carbohydrate polymers*, 56 (3), 339-345.
- Garner, D., Kathariou, S. 2016. Fresh produce-associated listeriosis outbreaks, sources of concern, teachable moments, and insights, *Journal of Food Protection*, 79 (2), 337-344.
- Gaston, M. 1988. Enterobacter: an emerging nosocomial pathogen, *Journal of Hospital Infection*, 11 (3), 197-208.
- Gormez, A., Bozari, S., Yanmis, D., Gulluce, M., Agar, G., Sahin, F. 2016. The use of essential oils of *Origanum rotundifolium* as antimicrobial agent against plant pathogenic bacteria, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19 (3), 656-663.
- Gökmen, V., Öztan, A. 1995. Gıdaların raf ömrünü etkileyen faktörler ve raf ömrünün belirlenmesi, *Gıda*, 20 (5).
- Grimont, F., Grimont, P.A. 2006. The genus enterobacter, *Prokaryotes*, 6, 197-214.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B. 2003. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill, *Journal of ethnopharmacology*, 89 (1), 67-71.
- Hanamanthagouda, M.S., Kakkalameli, S.B., Naik, P.M., Nagella, P., Seetharamareddy, H.R., Murthy, H.N. 2010. Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities, *Food Chemistry*, 118 (3), 836-839.
- Herring, J.L., Jonnalongadda, S.C., Narayanan, V.C., Coleman, S.M. 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage, *Meat Science*, 85 (4), 651-656.
- Honarvar, Z., Farhoodi, M., Khani, M.R., Mohammadi, A., Shokri, B., Jannatiha, N., Shojae-Aliabadi, S. 2021. Antimicrobial and physicochemical properties of plasma treated bio-coating polypropylene films containing satureja hortensis essential oil, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 40 (4), 1216-1228.
- Hosseini, A.R., Zahabi, N., Pazhouhandeh, F., Sharif, F. 2023. Development and Characterization of an Active Transparent Biodegradable Tara Gum Film Incorporated with *Lavandula angustifolia* Essential Oil, *Food and Bioprocess Technology*, 1-18.
- Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., Bi, W. 2015. Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork, *LWT-Food Science and Technology*, 63 (1), 519-526.
- İlgar, A. (2023), "Juglans regia L. yeşil kabuklarından elde edilen farklı ekstraktların boyar madde olarak kullanımlarının araştırılması ", Master, *Biyoloji Anabilim Dalı*, Muş Alparslan Üniversitesi, Muş, 64.
- Imeson, A., 2011, Food stabilisers, thickeners and gelling agents, *John Wiley & Sons*,

- Jahroo, W.L., CA, M.D., Sakina, S.I., 2021, Biodegradable Food Container Made of Abaca Fiber Pulp with Beeswax Biocoating, *ICON ARCCADE 2021: The 2nd International Conference on Art, Craft, Culture and Design (ICON-ARCCADE 2021)*, Atlantis Press, 195-200.
- Jiang, M., Liu, S., Wang, Y. 2011. Effects of antimicrobial coating from catfish skin gelatin on quality and shelf life of fresh white shrimp (*Penaeus vannamei*), *Journal of food science*, 76 (3), M204-M209.
- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A.T., Horhat, F.G. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania, *Int. J. Agric. Biol*, 15 (4), 772-776.
- Karaman, R., Erbaş, S., Baydar, H., Muharrem, K. 2014. Allelopathic effect of lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. var. Super A) oil on germination and seedling development of some weed and field crops, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 18 (4), 35-41.
- Karasu, K., Öztürk, E. 2014. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kanatlılarda antioksidan ve antimikrobiyal etkileri, *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1 (Özel Sayı-2), 1766-1772.
- Karatepe, T.U., Ekerbiçer, H.Ç. 2017. Gıda katkı maddeleri, *Sakarya Tıp Dergisi*, 7 (4), 164-167.
- Kardil, U. (2016), "Bitki özütleri ve doğal ürünlerin tereyağının bozunmasını önleyici olarak kullanılmaları", *Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Katar, D., Mustafa, C., Katar, N. 2020. Farklı lokasyonların lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.)'de uçucu yağ oranı ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisi, *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6 (3), 546-553.
- Katar, N., Aytaç, Z. 2019. Sater (*Satureja hortensis* L.) genotiplerinin farklı lokasyonlarda agronomik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (2), 253-269.
- Kesdek, M., Bayrak, N., Kordali, S., Usanmaz, A., Contuk, G., Ercisli, S. 2013. Larvicidal Effects of some Essential Oils against Larvae of the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller)(Lepidoptera: Thaumetopoeidae), *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 23 (2).
- Kılınç, M., Tomar, O., Çağlar, A. 2017. Biyobozunur Gıda Ambalaj Malzemeleri, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (3), 988-996.
- Kınık, Ö., Kavas, G., Yılmaz, E. 2003. Mikroenkapsülasyon tekniği ve süt teknolojisindeki kullanım olanakları, *GIDA*, 28 (4).
- Koç, M., Met, A., Sakin, M., Kaymak-Ertekin, F. 2008. Balık yağının dondurarak kurutma yöntemiyle mikroenkapsüle edilmesi, *Türkiye*, 10, 21-23.
- Koçak, S.Y., Halkman, A.T.D. (2006), "Mayonezde mikrobiyolojik raf ömrü", *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*,
- Košćak, L., Lamovšek, J., Đermić, E., Prgomet, I., Godena, S. 2023. Microbial and plant-based compounds as alternatives for the control of phytopathogenic bacteria, *Horticulturae*, 9 (10), 1124.

- Kozlu, A., Elmacı, Y. 2019. Application of Plant-Based Edible Film and Coatings for Minimally Processed Fruits and Vegetables, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7 (9), 1387-1396.
- König, J. 2015. Food colour additives of synthetic origin. in: *Colour additives for foods and beverages*, Elsevier, pp. 35-60.
- Kuppusamy, S., Palanisami, T., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. 2016. Ex-situ remediation technologies for environmental pollutants: a critical perspective, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 236*, 117-192.
- Küçükkaya, S. 2018. Kitosan-uçucu yağ ile kaplanmış sucuklarda fizikokimyasal ve mikrobiyolojik değişimler.
- Lambert, A.D., Smith, J.P., Dodds, K.L. 1991. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat—a review, *Food Microbiology*, 8 (4), 267-297.
- Lecuit, M. 2020. *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology, *Cellular microbiology*, 22 (4), e13186.
- Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A., Schlimme, E. 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt, *International Journal of Dairy Technology*, 55 (3), 152-157.
- Lorenzen, P.C., Schlimme, E., Roos, N. 1998. Crosslinking of sodium caseinate by a microbial transglutaminase, *Food/Nahrung*, 42 (03-04), 151-154.
- Man, D., 2015, Shelf life, *John Wiley & Sons*,
- Marrelli, M., Statti, G.A., Conforti, F. 2018. *Origanum* spp.: an update of their chemical and biological profiles, *Phytochemistry reviews*, 17, 873-888.
- Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S. 2012. Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2 (2), 45-50.
- Mojarradi, F., Bimakr, M., Ganjloo, A. 2023. Effect of bio-edible coating based on *Lallemantia iberica* seed mucilage incorporated with *Malva sylvestris* leaf bioactive compounds on oxidative stability of turkey meat, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11.
- Navarro-Segura, L., Ros-Chumillas, M., López-Cánovas, A.E., García-Ayala, A., López-Gómez, A. 2019. Nanoencapsulated essential oils embedded in ice improve the quality and shelf life of fresh whole seabream stored on ice, *Heliyon*, 5 (6).
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6 (12), 1451-1474.
- Nimet, K. 2021. Solucan Gübresinin *Satureja hortensis* L.'nin Herba Verimi ve Uçucu Yağ Oranına Etkisi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11 (2), 1635-1642.
- Nimet, K., Baydar, H. 2013. Lavantanın uçucu yağ oranı ve kalitesine distilasyon suyuna eklenen katkı maddelerinin etkisi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8 (2), 52-58.
- Nimet, K., Baydar, H. 2011. Türkiye’de Lavanta Üretim Merkezi Olan Isparta İli Kuyucak Yöresi Lavantalarının (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.) Uçucu Yağ Özellikleri, *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 25 (4), 42-46.

- Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., 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 and food chemistry*, 52 (18), 5598-5605.
- Öncül, O. 2010. Vankomisin ve teikoplanin hikayesi, *Ankem Dergisi*, 24, 101-109.
- Öz, A.T., Süfer, Ö. 2013. Taze meyve ve sebzelerin muhafazasında modifiye atmosfer paketlemenin doğal bileşiklerle birlikte kullanımı, *Akademik Gıda*, 11 (2), 110-115.
- Özdemir, M. 1998. Fındıkta raf ömrüne etki eden faktörler, *Gıda Teknolojisi*, 3 (3), 66-71.
- Özkaya, İ. 2004. Gıda Katkı Maddeleri ve Toksinler, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sağlıkta ve Hastalıkta Beslenme Sempozyum Bildirileri, Yayın, 41.
- Öztürkcan, A., Sıla, A. 2017. Yaygın Olarak Kullanılan Antimikrobiyal Gıda Katkı Maddeleri ile İlgili Genel Bir Değerlendirme, *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* (1), 1-17.
- Popplewell, L.M., Porzio, M.A. 2001. Fat-coated encapsulation compositions and method for preparing the same, Google Patents.
- Rajmohan, K.V.S., Ramya, C., Viswanathan, M.R., Varjani, S. 2019. Plastic pollutants: effective waste management for pollution control and abatement, *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 12, 72-84.
- Rojas-Graü, M.A., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P.R., Martín-Belloso, O., Pan, Z., McHugh, T.H. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films, *Journal of food Engineering*, 81 (3), 634-641.
- Salminen, S., Hallikainen, A. 2002. Sweeteners. in: *Food additives*, (Eds.) A.L. Branen, P.M. Davidson, S. Salminen, J.H. Thorngate. New York • Basel, pp. 447.
- Saloko, S., Darmadji, P., Setiaji, B., Pranoto, Y. 2014. Antioxidative and antimicrobial activities of liquid smoke nanocapsules using chitosan and maltodextrin and its application on tuna fish preservation, *Food bioscience*, 7, 71-79.
- Sass, L.A., Fisher, R.G. 2009. Enterobacter. in: *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases (Sixth Edition)*, (Eds.) R.D. Feigin, J.D. Cherry, G.J. Demmler-Harrison, S.L. Kaplan, W.B. Saunders. Philadelphia, pp. 1519-1525.
- Seaberg, A.C., Labbe, R., Shetty, K. 2003. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by elite clonal extracts of oregano (*Origanum vulgare*), *Food biotechnology*, 17 (2), 129-149.
- Sinki, G.S., Gordon, R.J. 2002. Flavoring agents, *Food science and technology-new york-marcel dekker-*, 349-408.
- Soper, J.C., Thomas, M.T. 2000. Enzymatically protein encapsulating oil particles by complex coacervation, Google Patents.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Akdemir Evrendilek, G. 2006. Dereotu (*Anethum graveolens* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağlarının gıda ve bitki kaynaklı patojen bakteriler üzerine antibakteriyel etkilerinin incelenmesi, *Türkiye*, 9, 24-26.

- Sumner, S.S., Eifert, J.D. 2002. Risks and benefits of food additives, Food science and technology-new york-marcel dekker-, 27-42.
- Swanson, M., Evenson, P., 2002, Nutritional additives, 225-276.
- Şen, S., Aksoy, H., Yılmaz, S. 2017. Genotoxic, carcinogenic potential of food additives and their other effects on human health Gıda katkı maddelerinin genotoksik, karsinojenik potansiyeli ve insan sağlığı üzerindeki diğer etkileri, Journal of Human Sciences, 14 (4), 3093-3108.
- Şengün, İ.Y., Öztürk, B. 2018. Bitkisel kaynaklı bazı doğal antibiyotikler, Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji, 7 (2), 256-276.
- Şentürk, F., 2020, Raf Ömrü testleri, <http://forum.gidagundemi.com/raf-omru-testleri-t20905.html>[Erişim Tarihi: 23/01/2018].
- Tardugno, R., Serio, A., Pellati, F., D'Amato, S., Chaves López, C., Bellardi, M.G., Di Vito, M., Savini, V., Paparella, A., Benvenuti, S. 2019. Lavandula x intermedia and Lavandula angustifolia essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens, Natural product research, 33 (22), 3330-3335.
- Targan, Ş., Arısoy, K., Abalı, Y., Esra, K. 2008. Ayçiçek yağının raf ömrünün uzatılmasında sitrik asit ve fosforik asidin antioksidan etkisi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10 (1), 67-75.
- TGK, 2020, Başlık, Ankara, <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-5.htm>[Erişim Tarihi: 23/01/2020].
- Thele, R., Gumpert, H., Christensen, L.B., Worning, P., Schønning, K., Westh, H., Hansen, T.A. 2017. Draft genome sequence of a Kluyvera intermedia isolate from a patient with a pancreatic abscess, Journal of global antimicrobial resistance, 10, 1-2.
- Topal, M. (2023), "Bazı ileri çıkmış fasulye hatlarında, hale yanıklığı (Pseudomonas syringae pv. phaseolicola) ve adi yaprak yanıklığı (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli) hastalıklarına karşı dayanıklılık genlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi", Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,
- Torlak, E., Nizamlioğlu, M. 2011. Antimicrobial effectiveness of chitosan-essential oil coated plastic films against foodborne pathogens, Journal of Plastic Film & Sheeting, 27 (3), 235-248.
- Torlak, E., Nizamlioğlu, M. 2009. Effects of edible films prepared with natural antimicrobials on Listeria monocytogenes, Eurasian Journal of Veterinary Sciences, 25 (1), 15-21.
- Trasande, L., Shaffer, R.M., Sathyanarayana, S., Lowry, J.A., Ahdoot, S., Baum, C.R., Bernstein, A.S., Bole, A., Campbell, C.C., Landrigan, P.J. 2018. Food additives and child health, Pediatrics, 142 (2).
- Viscusi, G., Lamberti, E., D'Amico, F., Tamaro, L., Gorrasi, G. 2022. Fabrication and characterization of bio-nanocomposites based on halloysite-encapsulating grapefruit seed oil in a pectin matrix as a novel bio-coating for strawberry protection, Nanomaterials, 12 (8), 1265.

- Wang, Z., Shi, Y., Zhou, K., Zhou, H., Li, X., Li, C., Wang, Z., Xu, B. 2020. Effects of different thermal temperatures on the shelf life and microbial diversity of Dezhou-braised chicken, *Food Research International*, 136, 109471.
- Wells, R., Truong, F., Adal, A.M., Sarker, L.S., Mahmoud, S.S. 2018. Lavandula essential oils: a current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender, *Natural Product Communications*, 13 (10), 1934578X1801301038.
- Xin, X.-F., Kvitko, B., He, S.Y. 2018. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen, *Nature Reviews Microbiology*, 16 (5), 316-328.
- Yocum, R.R., Rasmussen, J.R., Strominger, J.L. 1980. The mechanism of action of penicillin. Penicillin acylates the active site of *Bacillus stearothermophilus* D-alanine carboxypeptidase, *Journal of Biological Chemistry*, 255 (9), 3977-3986.
- Zhang, Y., Wang, J., Li, Y., Wang, Y., Jiang, P., Liu, X. 2014. Improvement of application properties of chitosan-based food packaging films by lavender essential oil, *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 30 (2), 286-292.
- Zorba, M., Demirağ, K., Ova, G. 2005. Gıdaların Bozunma Kinetiği ve Raf Ömrü Tahminleme Modelleri, *Akademik Gıda*, 3 (4), 17-22.