



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KARBOKSİMETİL SELÜLOZ (CMC)
FİMLERİN HAZIRLANMASI VE
FONKSİYONEL GIDA ÜRETİMİNDE
KULLANILABİLİRLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI
Esra TANHAŞ

DOKTORA TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Haziran-2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Esra TANHAŞ tarafından hazırlanan “Karboksimetil Selüloz (CMC) Filmlerin Hazırlanması ve Fonksiyonel Gıda Üretiminde Kullanılabilirliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 03/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

.....

Danışman

Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

.....

Üye

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

.....

Üye

Doç. Dr. Ayşe Büşra MADENCİ

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 221415001 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.

Esra TANHAŞ

03.06.2025

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KARBOKSİMETİL SELÜLOZ (CMC) FİLMLEİN HAZIRLANMASI VE FONKSİYONEL GIDA ÜRETİMİNDE KULLANILABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra TANHAŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM
Eş Danışman: Doç. Dr. Fatih ERCİ

2025, 123 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Doç. Dr. Ayşe Büşra MADENCİ

Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO

Bu tez kapsamında, karboksimetil selüloz (CMC) ve mısır nişastası ile sentezlenmiş hibrit filmlere probiyotik ve hem probiyotik hem prebiyotik ilavesinin fonksiyonel gıda kaplaması olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla, iki farklı probiyotik bakteri (10^{10} kob/mL *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ve 10^9 kob/mL *Bifidobacterium animalis*) ve farklı prebiyotikler (inülin ve fruktooligosakkarit) % 2 mg/mL konsantrasyonunda % 4 (g/mL) CMC-nişasta (1:3 a:a) içerikli filmlere eklenmiştir. Sentezlenen filmlerin (Kontrol, Lp, LpIN, Bf, BfFOS) karakterizasyon işlemleri DSC, TGA, XRD, FTIR ve Fe-SEM gibi farklı cihazlar yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Film kalınlığı, renk, opaklık, su tutma kapasitesi, nem miktarı, probiyotik tutma kapasitesi, antibakteriyel aktivite değerleri her film için hesaplanmıştır. 25 °C'de kurutma sonrasında filmlerin depolanması (4 °C) süresince probiyotik bakteri sayıları aralıklı olarak tayin edilmiştir. Filmler simule edilmiş mide ve bağırsak sıvıları ile muamele edilip yüzde probiyotik canlı sayıları tespit edilmiştir. Ayrıca, sentezlenen filmlerle kaplı taze yaban mersini örneklerindeki mevcut probiyotik, küf-maya ve psikrofilik bakteri sayıları depolamanın 1., 3. ve 5. günlerinde analiz edilmiştir. Gıda örneklerindeki pH, renk değişimi, ağırlık kaybı, enzim aktivitesi ve toplam fenolik içeriğin ölçülmesi gibi analizler gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, kaplama uygulamasının gıda yüzeyinde probiyotik canlılığı LAB bakterisi için yaklaşık 3 logaritmik birim, Bifidobakteri için yaklaşık 5 logaritmik birim azalma ile muhafaza ettiği sonucuna varılmıştır. Çalışmamız ile birlikte, Lp ve Bf filmleri yaban mersini örneklerinde olası küf-maya ve psikrofil bakteri gelişimini kaplanmamış örneğe kıyasla önemli ölçüde ($p<0,05$) azaltabilen iki probiyotik film olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, hem probiyotik hem prebiyotik ikamelerin olduğu filmlerin (LpIN ve BfFOS) mikrobiyal yükü indirgeme konusunda probiyotik içeren filmlerle (Lp ve Bf) benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. Buna ilaveten, kaplama uygulamasının genel olarak gıdada bozulma etmeni polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) gibi enzim gruplarının aktivitelerini azalttığı beraberinde antioksidan özellik ve fenolik içeriklerini koruduğu sonucuna varılmıştır. Probiyotik eklenmiş CMC-Nişasta bazlı filmlerin üretimi gıdanın mikrobiyal açıdan korunmasını sağlamakla kalmayıp yüksek probiyotik içerikli fonksiyonel yaban mersini üretimi açısından umut vadeden bir yöntem olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Karboksimetil selüloz, nişasta, prebiyotik, probiyotik, yenilebilir film

ABSTRACT

Ph.D THESIS

PREPARATION OF CARBOXYMETHYL CELLULOSE (CMC) FILMS AND INVESTIGATION OF THEIR USABILITY IN FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION

Esra TANHAŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN BIOTECHNOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih ERCİ

2025, 123 Pages

Jury

Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM

Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Assoc. Prof. Dr. Ayşe Büşra MADENCİ

Asst. Prof. Dr. Egemen FOTO

The scope of this thesis is to investigate the usability of probiotic and both probiotic and prebiotic additions to hybrid films synthesized with carboxymethyl cellulose (CMC) and corn starch as functional food coatings. For this purpose, films containing 4 % (g/mL) CMC-starch (1:3 w:w) at 2 % mg/mL concentration were supplemented with two different probiotic bacteria (10^{10} cfu/mL *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* and 10^9 cfu/mL *Bifidobacterium animalis*) and different prebiotics (inulin and fructooligosaccharide). The characterization of the synthesized films (Control, Lp, LpIN, Bf, BfFOS) were carried out with the help of different devices such as DSC, TGA, XRD, FTIR and Fe-SEM. Film thickness, color, opacity, water retention capacity, moisture content, probiotic retention capacity, antibacterial activity values were calculated for each film. After drying at 25 °C, probiotic bacteria counts were determined intermittently during the storage of the films (4 °C). The films were treated with simulated gastric and intestinal fluids and the percentage of probiotic viable counts were detected. In addition, the numbers of probiotic, mold-yeast and psychrophilic bacteria present in fresh blueberry samples coated with the synthesized films were analyzed on the 1st, 3rd and 5th days of storage. Analyses such as measuring pH, color change, weight loss, enzyme activity and total phenolic content in food samples were performed. Consequently, it was concluded that the coating application preserved probiotic viability on the food surface with a decrease of approximately 3 logarithmic units for LAB bacteria and approximately 5 logarithmic units for Bifidobacteria. Our study revealed that Lp and Bf films are two probiotic films that can significantly ($p < 0.05$) reduce the possible mold-yeast and psychrophilic bacteria growth in blueberry samples compared to the uncoated sample. Furthermore, it was observed that films containing both probiotic and prebiotic substitutes (LpIN and BfFOS) showed similar results with the films containing probiotics (Lp and Bf) in terms of reducing microbial count. Additionally, it was concluded that the coating application generally decreased the activities of enzyme groups such as polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD), which are responsible for food spoilage, and preserved their antioxidant properties and phenolic contents. Fabrication of probiotic-added CMC-Starch-based films not only provided microbial protection of food but also became a promising method for the production of functional blueberries with high probiotic content.

Keywords: Carboxymethyl cellulose, starch, probiotic, prebiotic, edible film

ÖNSÖZ

Çalışmalarım boyunca bilgeliklerini, bilgilerini, deneyimlerini cömertçe benimle paylaşan, üretken olmam ve bir bilim insanı olarak gelişmem için bana rehberlik eden, beni cesaretlendiren, çalışmalarına yön veren kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM'e ve değerli eş danışmanım sayın Doç. Dr. Fatih ERCİ'ye en derin şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca doktora sürecim boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol göstererek destek olan tez izleme komitesi üyesi değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Erdal KOCABAŞ'a ve Prof. Dr. Gökhan ZENGİN'e; akademik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın Doç. Dr. Ayşe Büşra MADENCİ'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmamı 221415001 nolu proje ile maddi açıdan destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne; laboratuvar imkânlarını kullanmam için katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. Emrah TORLAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Akademik hayatımdaki gelişimim için ellerinden gelen tüm çabayı sarf eden, varlıkları ile bana ilham kaynağı olan, sonsuz ve koşulsuz sevgilerini her zaman hissettiğim değerli anneme, babama ve bu süreçte gereken özveriye, sabrı gösteren aileme sonsuz teşekkür ederim.

Esra TANHAŞ
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar	5
2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaları Hazırlama ve Uygulama Yöntemleri.....	6
2.3. Yenilebilir Film Üretiminde Kullanılan Polisakkarit Esaslı Bazı Biyopolimerler	9
2.3.1. Nişasta esaslı yenilebilir filmler	9
2.3.2. CMC esaslı yenilebilir filmler	11
2.4. Probiyotikler ve Prebiyotikler.....	14
2.5. Yenilebilir Probiyotik ve/veya Prebiyotik İkameli Filmlerin Gıdalarda Kullanımı İle İlgili Son Yıllarda Yapılmış Bazı Çalışmalar.....	16
2.5.1. Karboksimetil selüloz (CMC) probiyotik filmlerin gıdalarda kullanımı ile ilgili son yıllarda yapılmış bazı çalışmalar	19
2.5.2. Probiyotik yenilebilir filmlerin ve kaplamaların gıda kalite özellikleri üzerine etkisi	22
2.5.3. Yenilebilir filmlerin yaban mersini (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) meyvesinde kullanımı ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar.....	25
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. Analiz malzemeleri	27
3.1.2. Deneylerde kullanılan mikroorganizmaların, besiyerlerinin ve dilüsyon sıvılarının hazırlanması.....	28
3.2. Metot	29
3.2.1. Gıda örneklerinin hazırlanması.....	29
3.2.2. Bakteri kültürlerinin stoklanması ve çoğaltılması	29
3.2.3. Film çözeltilerinin hazırlanması	29
3.2.4. CMC esaslı filmlerin karakterizasyonu	31
3.2.4.1. Film kalınlığı.....	31
3.2.4.2. Renk özellikleri.....	31
3.2.4.3. Işık bariyer özelliği	31
3.2.4.4. Su tutma kapasitesinin belirlenmesi	32
3.2.4.5. Nem içeriğinin belirlenmesi.....	32

3.2.4.6. Şişme derecesinin (SD) belirlenmesi	32
3.2.4.7. Termal özellik	33
3.2.4.8. XRD analizi	33
3.2.4.9. Mikroyapı (Fe-SEM) ve EDS analizi	33
3.2.4.10. FTIR spektrumu analizi	33
3.2.4.11. Filmlerin probiyotik tutma kapasitesinin belirlenmesi	33
3.2.4.12. Filmlerin antibakteriyel özellikleri	34
3.2.4.13. Film örneklerinin sindirim simülasyonu deneyi	34
3.3.5. Film çözeltisi ile yaban mersini örneklerinin kaplanması ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi	35
3.3.5.1. Mikrobiyolojik analizler	35
3.3.5.2. Enzimatik analizler	36
3.3.5.3. Protein analizi	37
3.3.5.4. pH analizi	37
3.3.5.5. Ağırlık kaybı	37
3.3.5.6. Renk analizi	38
3.3.5.7. Antioksidan özelliklerin ve toplam fenolik içeriğin belirlenmesi	38
3.3.6. İstatistiksel analizler	39
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	40
4.1. Film Örneklerinin Karakterizasyon Sonuçları	40
4.1.1. Film örneklerinin kalınlığı	40
4.1.2. Film örneklerinin renk ve ışık bariyer özellikleri	41
4.1.3. Film örneklerinin su tutma kapasitesi	42
4.1.4. Film örneklerinin nem içeriği	44
4.1.5. Film örneklerinin şişme derecesi	45
4.1.6. Film örneklerinin termal özellikleri	46
4.1.7. Film örneklerinin XRD analiz sonuçları	50
4.1.8. Film örneklerinin mikroyapı (FE-SEM) ve EDS analiz sonuçları	51
4.1.9. Film örneklerinin FTIR spektrumları	55
4.1.10. Film örneklerinin probiyotik tutma kapasitesi	57
4.1.11. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite analiz sonuçları	58
4.1.12. Film örneklerinin sindirim simülasyonu analiz sonuçları	59
4.2. Filmle Kaplanmış Gıda Örneklerinin Analiz Sonuçları	61
4.2.1. Mikrobiyolojik analiz sonuçları	61
4.2.2. Enzimatik aktivite analiz sonuçları	69
4.2.3. Fizikokimyasal analiz (renk, pH, ağırlık kaybı) sonuçları	72
4.2.4. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik içerik tayini sonuçları	77
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	81
5.1 Sonuçlar	81
5.2 Öneriler	83
6. KAYNAKLAR	84
EKLER	94

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Yenilebilir film ve kaplama kaynaklarının sınıflandırılması	6
Şekil 2.2. Yenilebilir film hazırlama teknikleri	7
Şekil 2.3. Yenilebilir film hazırlama yöntemlerinin genel özellikleri	8
Şekil 2.4. Başlıca yenilebilir film kaplama teknikleri	9
Şekil 2.5. Nişasta molekül yapısı.....	10
Şekil 2.6. CMC molekül yapısı	12
Şekil 2.7. CMC oluşumu reaksiyon basamakları	13
Şekil 2.8. CMC'nin gıda endüstrisinde kullanım alanları	13
Şekil 4.1. Film örneklerinin kalınlık değerleri	40
Şekil 4.2. Film örneklerinin su tutma kapasiteleri.....	43
Şekil 4.3. Film örneklerinin nem içerikleri.....	45
Şekil 4.4. Film örneklerinin şişme derecesi.....	46
Şekil 4.5. Film örneklerinin TGA eğrileri	48
Şekil 4.6. Film örneklerinin DSC grafikleri	49
Şekil 4.7. Film örneklerinin XRD spektrumları	51
Şekil 4.8. Film örneklerinin Fe-SEM görüntüleri.....	53
Şekil 4.9. Film örneklerinin EDS görüntüleri.....	54
Şekil 4.10. Film örneklerinin EDS görüntüleri devamı.....	55
Şekil 4.11. Film örneklerinin FTIR spektrumları	57
Şekil 4.12. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite test sonuçları.....	59
Şekil 4.13. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinde <i>Lb. plantarum</i> sayısındaki değişim.....	62
Şekil 4.14. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinde <i>B. animalis</i> sayısındaki değişim.....	63
Şekil 4.15. LAB uygulanan yaban mersini örneklerindeki toplam küf-maya sayısındaki değişim.....	65
Şekil 4.16. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerindeki toplam küf-maya sayısındaki değişim.....	66
Şekil 4.17. LAB uygulanan yaban mersini örneklerindeki psikrofil bakteri sayısındaki değişim.....	67
Şekil 4.18. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerindeki psikrofil bakteri sayısındaki değişim.....	68
Şekil 4.19. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinin enzim aktivitesi analiz sonuçları	71
Şekil 4.20. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinin enzim aktivitesi analiz sonuçları.....	72
Şekil 4.21. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite değişim sonuçları.....	79
Şekil 4.22. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite değişim sonuçları	80
Şekil 4.23. LAB ve Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinin fenolik içerikleri	80

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1. Probiyotik yenilebilir film ve kaplamaların meyve örneklerinde yapılan çalışmaların gıda kalite parametreleri üzerine etkileri.....	23
Çizelge 3.1. Analizlerde kullanılan cihaz ve ekipmanlar	27
Çizelge 3.2. Analizlerde kullanılan kimyasal malzemeler	27
Çizelge 3.3. Optimizasyon için sentezlenen yenilebilir film örnekleri	30
Çizelge 3.4. Sentezlenen yenilebilir film örneklerinin içeriği.....	31
Çizelge 3.5. Sindirim için hazırlanan simülasyon sıvılarının özellikleri.....	34
Çizelge 4.1. Filmlerin renk analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.2. Film örneklerinin termal özellikleri	50
Çizelge 4.3. Film örneklerinde depolama süresince probiyotik canlılık	58
Çizelge 4.4. Film örneklerinde sindirim süresince probiyotik canlılık	60
Çizelge 4.5. Yaban mersini örneklerinde depolama sonrası enzim aktiviteleri değerlerindeki değişim.....	71
Çizelge 4.6. Yaban mersini örneklerinde depolama süresince renk değerlerindeki değişim.....	75
Çizelge 4.7. Yaban mersini örneklerinde depolama süresince pH ve ağırlık değişimi ..	77
Çizelge 4.8. Yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite ve fenolik içerik test sonuçları.....	78

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
a^*	Kolorimetrede kırmızılık/yeşillik değeri
Au	Altın
b^*	Kolorimetrede sarılık/mavilik değeri
cm	Santimetre
dk.	Dakika
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ S	Hidrojen sülfür
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
L	Litre
L^*	Kolorimetrede aydınlık değeri
Log	Logaritma
m	Metre
M	Molarite
m ²	Metrekare
mL	Mililitre
mM	Milimolar
MPa	MegaPaskal
Na ₂ HPO ₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
°C	Santigrad Derece
Pd	Paladyum
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
sa	Saat
U	Ünite
ΔE^*	Toplam renk farkı
μ L	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
μ M	Mikromolar

Kısaltmalar

A	Absorbans
a	Ağırlık
a/a	Ağırlık/Ağırlık oranı
a/h	Ağırlık/Hacim oranı
AB	Afrika baobab
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
APX	Askorbat peroksidaz

ATCC	American Type Culture Collection
<i>B.</i>	<i>Bifidobacterium</i>
Bf	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>B. animalis</i> içeren solüsyonla hazırlanmış filmler ve film uygulamaları
BfFOS	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>B. animalis</i> , % 2 FOS (mg/mL) içeren solüsyonla hazırlanmış filmler ve film uygulamaları
Brix°	Toplam çözünen katı miktarı
CAT	Katalaz
CECT	İspanyol Tip Kültür Koleksiyonu
CMC	Karboksimetil selüloz
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DS	İkame derecesi
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
EPS	Ekzopolisakkarit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
Fe-SEM	Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu
FOS	Fruktooligosakkarit
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
FTS	% 0.85'lik (a/h) sodyum klorür çözeltisi
GA	Zamk Arabic
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GOS	Galaktooligosakkarit
GPOD	Guaiakol peroksidaz
GRAS	Generally recognized as safe
h	Hacim
HPC	Hidroksil propil selüloz
HPMC	Hidroksil propil metil selüloz
IN	İnülin
Ko	Kareler ortalaması
Kob	Koloni oluşturan birim
Kontrol	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol içeren solüsyonla hazırlanmış filmler ve film uygulamaları
Kt	Kareler toplamı
LAB	Laktik asit bakterisi
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
LOX	Lipoksijenaz
Lp	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>Lb. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> içeren solüsyonla hazırlanmış filmler ve film uygulamaları
LpIN	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>Lb. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> , % 2 İnülin (mg/mL) içeren solüsyonla hazırlanmış filmler ve film uygulamaları
MC	Metil selüloz
p	İstatistiksel önem
POD	Peroksidaz
PPO	Polifenoloksidaz
PSI	Psikrofil bakteri sayısı
PVP	Polyvinylpyrrolidone
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>

Sd	Serbestlik derecesi
SD	Suda şişme
SOD	Süperoksit dismutaz
spp.	Türler
SPSS	Sosyal bilimler için istatistik paket programı (Statistical Package for the Social Sciences)
subsp.	Alt tür
TE	Troloks eşdeğeri
TGA	Termogravimetrik analiz cihazı
UV/Visible	Ultraviyole/görünür bölge
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X-Işını Difraktometresi
YM	Küf-Maya sayısı

1. GİRİŞ

Gıdaları üretildikleri yerden perakende satış noktasına ve ardından tüketicilere taşımak için tasarlanmış basit kaplara genel olarak gıda paketleme sistemleri denir. Ancak ambalaj denildiğinde, gıdaları dış kontaminasyondan koruma, bozulmayı geciktirme, gıdanın raf ömrünün uzatılması ve gıda kalitesinin korunması gibi özellikleri de barındırması önem arz eder. İyi bir ambalaj malzemesi ise gıdayı ısı, nem, oksijen gibi çevresel faktörlerden ileri gelebilecek aroma kaybı ve hoş olmayan koku bileşenlerinin yanı sıra enzimatik ve mikrobiyal bozulmalara karşı da korumalıdır. Son yıllarda, doğada parçalanamayıp çevresel atık sorunu haline gelen petrol bazlı polimerler, modern ambalaj endüstrisinin en çok tercih ettiği malzeme türleri olmuştur. Fakat, ambalaj materyallerinin gıdayı koruyacak uygun yapıda olmalarının yanı sıra, çevre dostu malzemeler olmaları da istenir. Bu nedenle, gıda paketleme endüstrisinde bu polimerlerin kullanımının azaltılmasına ya da tamamen ortadan kalkmasına yardımcı olabilecek yenilebilir filmler gibi biyolojik olarak parçalanabilir alternatif yöntemlerin geliştirilmesine olan ilgi de giderek hız kazanmıştır (Kontominas, 2020; Pandhi ve ark., 2019; Pop ve ark., 2020; Šešlija ve ark., 2018).

Gıdalarda kullanılan yenilebilir biyopolimerler hidrokolloidler (polisakkaritler, proteinler), lipitler (yağ asitleri, vakslar) ve kompozitler şeklinde sınıflandırılabilir. Polisakkaritler, doğada her yerde bulunmaları, diğer biyopolimerlere kıyasla nispeten düşük maliyetleri, gıda ile birlikte insan vücudu tarafından metabolize edilmeleri, film oluşturabilme yetenekleri sayesinde gıda ambalajı pazarında, tüm çevresel kaygıları bertaraf edebilecek güçlü biyopolimerlerdir. Polisakkaritler sınıfında yer alan yenilebilir film malzemeleri; pektin, nişasta, gum ve selüloz olmak üzere dört ana başlıkta toplanabilir (Panahirad ve ark., 2021; Valdés ve ark., 2015). Bunlardan selüloz grubundan karboksimetil selüloz (CMC), emülsifiye edilmiş gıda veya konsantre meyve sularında akışkanlığı arttırıcı viskoz malzemeler olarak kullanılırken, yarı katı süt ürünlerinde viskozitelerine (düşük veya yüksek) bağlı olarak yağlanmayı kontrol etmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Artan serbestlik derecesi (DS) değerlerinin kazein partiküllerindeki elektrostatik itmeyi iyileştirip süt çökmesini veya faz bölünmesini azaltması CMC'nin sütlü içeceklerde stabilizatör olarak kullanılabilmesini de sağlamıştır (Rahman ve ark., 2021). CMC yenilebilir kaplamaları, sıkıca paketlenilme, düzenli hidrojen bağlı ağ yapısı ve düşük çözünürlüğü sayesinde mükemmel oksijen, aroma ve yağ bariyeri özellikleri sergilerken, meyvelerin orijinal sertliğini koruma, meyvelerde

olgunlaşma sürecini geciktirime gibi özelliklere de sahiptir (Panahirad ve ark., 2021). Esneklik ve şeffaflık gibi bir takım özelliklerinden dolayı yenilebilir film materyali olarak yaygın bir biçimde kullanılan sodyum aljinat, gıdalar sınıfında yer alan diğer bir polimer türüdür (Zhang ve ark., 2018). Sodyum aljinat, *Phaeophyceae* sınıfının kahverengi deniz yosununun hücre duvarlarında bulunan, biyolojik olarak parçalanabilen, suda kolayca çözünebilen ve insan sağlığı için toksik olmayan bir polimerdir. Aynı zamanda, kalsiyum iyonlarının varlığında kompleks oluşturma işlemine tabi tutulabilmesi ile daha iyi fiziksel özelliklere sahip filmlerin elde edilebildiği bilinmektedir (de Farias ve ark., 2020). Gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan nişasta temelli hidrojel ise çok sayıda avantajlı özellik sergilese de yüksek su hassasiyeti ve zayıf mekanik özellikler gibi dezavantajları, onları paketleme uygulamaları için yetersiz kılmaktadır. Ancak, bariyer ve mekanik özelliklerini geliştirmek için farklı biyopolimerlerle kompozit edilerek kullanıldıklarında iyi bir nem tutucu ve boyar madde absorbe edicisi olarak iş görebilirler (Ali ve Ahmed, 2018). Bir diğer doğal polimer olan pektin kaplamalar ise, iyi bir oksijen ve karbon dioksit bariyeri olarak kullanılmalarının yanı sıra lipit ve nem kaybını geciktirerek gıdanın duyu kalitesini korumaya yardımcı ajan olarak da kullanılmaktadırlar (Valdés ve ark., 2015).

Yukarıda da bahsedildiği üzere, yenilebilir filmler sentezlendikleri malzemeye ve yardımcı maddelere göre farklı özellikler sergilemektedir. Yenilebilir film ve kaplamalar gıdanın dış görünüş ve tat özelliklerini geliştiren bazı katkı maddelerini hapsedebilme özelliğine sahip araçlardır. Aynı zamanda, gıdanın su kaybını önleme, antioksidan ve besin değeri özelliklerini iyileştirme, oksidasyon reaksiyonlarını azaltma, gıdanın olgunlaşma metabolizmasını geciktirme, mikrobiyal ve enzimatik faaliyetleri yavaşlatma gibi ürünlerin raf ömrünün uzamasına yardımcı olabilecek özelliklere sahip aktif bileşenleri de taşıyabilen önemli yapılardır (Panahirad ve ark., 2021; Pop ve ark., 2020). Bu sebeple, yenilebilir filmlerin tek başına kullanılmasından ziyade, antioksidan (Bonilla ve Sobral, 2016), antimikrobiyal (Zhang ve ark., 2018), enzimatik kararmaları engelleyici (Robles-Sánchez ve ark., 2013) aktif bileşenlerle ve gıdanın fonksiyonel özelliklerini artıran probiyotikler, prebiyotikler (Orozco-Parra ve ark., 2020) gibi katkı maddeleri ile beraber kullanıldığı pek çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaya da devam edilmektedir.

Birleşmiş Milletler/Dünya Sağlık Örgütü'nün (FAO/WHO) tanımladığı gibi probiyotikler yeterli miktarlarda vücuda alındıklarında konakçıya yarar sağlayan canlı mikroorganizmalardır. *Lactobacillus* (LAB) ve *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin ise bu

amaçla en sık kullanılanlar olduğu bilinmektedir. Her iki cinsin de insan bağırsağının mikrobiyotasında ve “genel olarak güvenli olarak kabul edilen” (GRAS) grupta yer aldığı kabul edilmiştir. Probiyotikler bağırsak mikrobiyotasının gelişimine katkı sağlayarak insan sağlığını olumlu yönde etkileyen canlılardır. Günümüzde, sağlıklı beslenme ile ilgili artan endişeler, üreticilerin ve tüketicilerin probiyotik içeren gıda ürünlerine olan taleplerini de giderek artırmıştır. Bu nedenle, yeni probiyotik gıdaların üretilmesi, üretimi için yeni metotların geliştirilmesi, araştırılması gibi konular gıda sanayisinin ve araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Bu amaçla geliştirilen metotlardan biri de, yenilebilir film ve kaplamaların probiyotik taşıyıcılar olarak incelenmesidir (Pavli ve ark., 2018; Pop ve ark., 2020; Terpou ve ark., 2019). Buna ek olarak, filmlere probiyotiklerin yanında bu bakterilerin stabilitesini ve işlevselliğini geliştirmek için prebiyotik bileşenlerin de dahil edilmesi, probiyotik suşların verimliliğini artırmak için izlenen bir diğer yol olmuştur (Pandhi ve ark., 2019).

Literatür incelendiğinde, pek çok yenilebilir filmin probiyotiklerle desteklenerek kullanıldığı görülmektedir (Akman ve ark., 2021; Hashemi ve Jafarpour, 2021; Kanmani ve Lim, 2013; López De Lacey ve ark., 2012; Orozco-Parra ve ark., 2020; Shahrampour ve ark., 2020; Zabihollahi ve ark., 2020). Fakat söz konusu çalışmaların çoğu yenilebilir probiyotik filmlerin sentezlenip karakterizasyonu ile sınırlı kalmış olup, gıdalarda uygulamalarına geçilememiştir. Ayrıca gıda sanayiinde sıklıkla kullanılan doğal bir polimer olan CMC’ye bakıldığında, gıda koruma amaçlı probiyotiklerle zenginleştirilmiş ve gıdalarda işlevselliği test edilmiş CMC içerikli filmlerle yapılmış mevcut çalışmaların sayısının da oldukça az olduğu fark edilmiştir. Bu konuda, CMC esaslı hibrit filmlerin probiyotik taşıyıcılar olarak kullanıldığı birkaç çalışma bulunmaktadır (Hashemi ve Jafarpour, 2021; Lan ve ark., 2021; Zabihollahi ve ark., 2020).

Yenilebilir film ve kaplamalar (hidrojeller), gıda endüstrisinde ambalaj materyali olarak kullanılabilmelerinin yanı sıra gıdanın kalitesini iyileştirme, koruma, raf ömrünü uzatma ve işlevselliğini artırma gibi amaçlar doğrultusunda da kullanılabilirler. Çalışmamız ile birlikte, literatürde var olan yenilebilir hidrojel tiplerine farklı açıdan yaklaşmak (probiyotik ve simbiyotik karboksimetil selüloz tabanlı bazı hibrit filmlerin yararlılıklarının sindirim sistemindeki sürdürülebilirliklerinin araştırılması) hedeflenmiştir. Bugüne dek yapılmış çalışmaların pek çoğunda CMC tabanlı yenilebilir filmler sentezlenip karakterize edilmiştir. Ancak gıda koruyuculukları (mikrobiyal ve enzimatik bozulmaları önleme) ve gıdanın kalite parametreleri (renk, pH, ağırlık kaybı, fonksiyonel özellikleri vb.) ile ilgili konuları kapsamlı bir biçimde sunan sınırlı sayıda

çalışma vardır. Yapmış olduğumuz bu çalışma ile birlikte, söz konusu araştırmalara bir yenisi eklenmiştir. Aynı zamanda *in vitro* sindirim sisteminde CMC bazlı filmlerin hibrit formlarına yüklenen probiyotiklerin sürdürülebilirlikleri de laboratuvar ortamında bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir. Buna ilaveten, gıda ile alınacak probiyotik filmlerin gıdanın antioksidan özellikleri üzerine etkileri de incelenmiştir.

Bu çalışmanın amacı, gıdalarda farklı amaçlar doğrultusunda yaygın bir biçimde kullanılan CMC yardımcı ajanlarının, ambalaj sanayiinde koruma materyali olarak kullanılabilirliğine yeni bilgiler kazandırmaktır. Bu amaçla çalışmamız 3 basamakta gerçekleştirilmiştir:

- 1. Aşama:** Farklı probiyotik bakteriler (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ve *Bifidobacterium animalis*) ve onların canlılıklarını destekleyecek prebiyotikler (sırasıyla inülin ve fruktooligosakkarit) ile birleştirilmiş, CMC-Nişasta esaslı kompozit filmler elde edilmiştir. Film örneklerinin fizikokimyasal, mekanik, termal ve bariyer özellikleri açısından karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra, probiyotik tutma kapasiteleri ölçülmüştür.
- 2. Aşama:** Farklı probiyotiklerin beraberinde onlara uygun prebiyotiklerin ikame edildiği CMC-Nişasta filmlerle kaplanmış taze yaban mersini örneklerinin depolama süresince, probiyotik canlılık, küf-maya ve psikrofil bakteri sayıları incelenmiştir.
- 3. Aşama:** Sentezlenen filmlerin, bu filmlerle kapladığımız taze yaban mersini örneklerinin renk, pH, ağırlık kaybı, enzim aktivitesi ve antioksidan aktivite değerleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

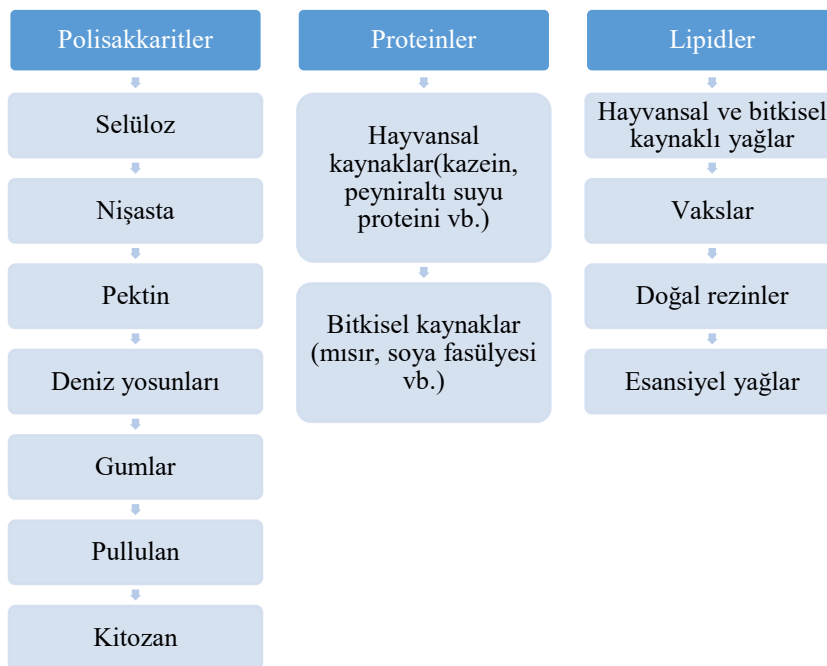
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Yenilebilir kaplama, bir gıda ürünü üzerinde kaplama olarak oluşturulan ince bir yenilebilir malzeme tabakası iken yenilebilir film ise, yenilebilir malzemeden yapılmış, önceden oluşturulmuş, ince bir tabakadır ve oluşturulduktan sonra gıda bileşenlerinin üzerine veya arasına yerleştirilebilir (Falguera ve ark., 2011).

Yenilebilir kaplamalar, bozulabilir meyvelerin depolama ömrünü uzatan, kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik değişiklikleri önleyen ince biyopolimer katmanlar olup gıdanın su kaybını, O₂, CO₂ ve lipit iletimini önler. Bu sayede, meyvenin susuz kalmasını, kurummasını ve organoleptik özelliklerinin bozulmasını sınırlar. Yenilebilir kaplamalar: solunum hızını azaltarak, dokuyu iyileştirerek, doğal renk ve uçucu maddeleri koruyarak bozulabilir meyveler üzerinde ek faydalı etkiler sağlayıp meyvenin kalitesini ve besin değerini korur (Tumbariski ve ark., 2022). Yenilebilir film ve kaplamaların kullanımı daha çok son yıllarda var gibi görünse de, yenilebilir filmlerin kaplama olarak kullanımının 12. ve 13. yüzyıllara kadar uzandığı bilinmektedir. 12. yüzyılda Çinli çiftçiler, depolama ve nakliye sırasında su kaybını önlemek için portakal ve limonların üzerinde mum kullanmışlardır (Chandrababu ve Ep, 2023).

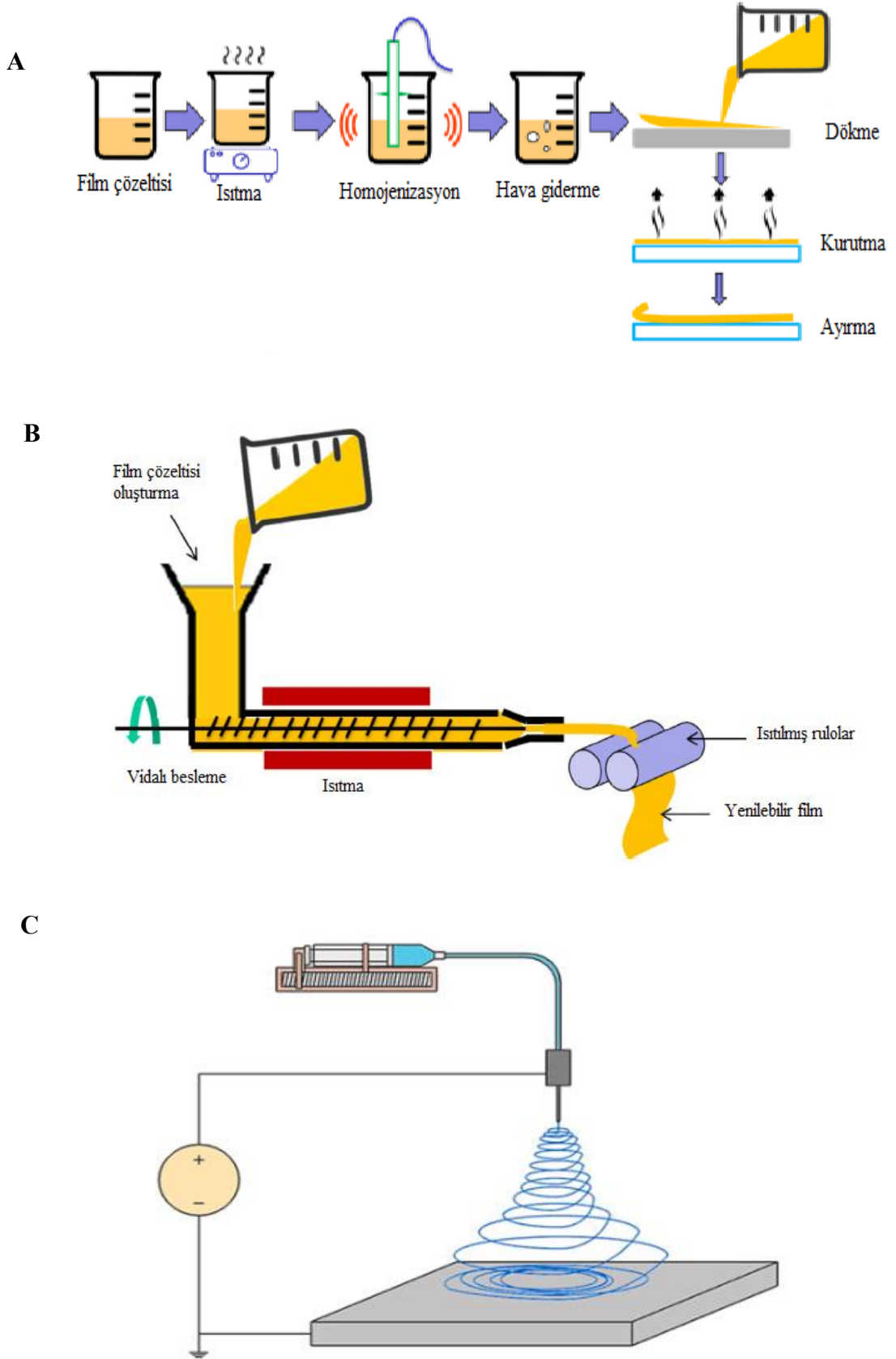
Gıda sanayiinde bozulabilir meyve ve sebzelerin transfer ve depolama süreci önemli olup gıdanın tüketiciye minimum kalite kaybıyla ulaştırılması hedeflenir. Yenilebilir filmler ve kaplamalar, solunum hızını, enzimatik esmerleşmeyi ve su kaybını azaltabildikleri için transfer ve depolama sırasında kullanılacak alternatif yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde ise, doğada biyolojik olarak sınırlı parçalanabilirliği ve dünya çapında atık olarak ciddi çevresel tehditlere neden olan sentetik plastik malzemelerin yerini yenilebilir biyopolimerlerin alması beklenmektedir (Li ve ark., 2020). Bu amaçla kullanılacak doğal polimerler Şekil 2.1'de gruplandırılmıştır:



Şekil 2.1. Yenilebilir film ve kaplama kaynaklarının sınıflandırılması (Chandrababu ve Ep, 2023)

2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaları Hazırlama ve Uygulama Yöntemleri

Son yıllarda popüleriteleri giderek artmakla birlikte günümüzde de farklı biyopolimerler kullanılarak üretilen yenilebilir filmler, gıda ile ambalajı arasında nem ve gaz bariyeri oluşturup gıdanın bozulmasını önleyerek raf ömrünü uzatan bunun yanı sıra biyolojik olarak parçalanabilen yapılardır. Çevre dostu, toksik olmayan malzemeler olması ve aynı zamanda gıdaların organoleptik özelliklerinin (lezzet, tat ve koku) iyileştirmesi gibi pek çok önemli avantajlarından dolayı geniş kullanım alanlarına sahiptirler. Kullanım amacına göre bu polimerlerin hazırlanması ve uygulanma yöntemleri de çeşitlidir. Yenilebilir filmler/kaplamalar üretmek için; ıslak (döküm) ve kuru (termo presleme ve ekstrüzyon) uygulamalar olmak üzere iki tip metod vardır. Günümüzde, bu uygulamalara ek olarak yüksek voltajlı bir güç kaynağı aracılığıyla oluşturulan yüksek elektrik alan içinde polimer çözeltilerden nanolif (nanofiber) malzeme üretilmesini sağlayan elektroçirme tekniği de yenilebilir film ve kaplamaları üretmede kullanılan yenilikçi bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (Chang ve ark., 2023; Erol, 2024; Lopez-Polo ve ark., 2024). Şekil 2.2 ve Şekil 2.3 sırasıyla yenilebilir film hazırlama tekniklerini ve özelliklerini özetlemektedir.



Dökme Yöntemi

- Yaygın ve düşük maliyetlidir.
- Biyopolimer malzeme toksik olmayan uygun bir çözücüde çözündürülür.
- Genellikle çözücü olarak etil alkol ve su kullanılır.
- Döküm çözeltisi önceden tanımlanmış kalıba dökülür.
- Son adım, dökülen çözeltinin kurutulmasıdır.
- Film kurutma işlemi sırasında çözücü buharlaştıkça polimerin çözünürlüğü azalır ve bu da polimer zincirlerinin hizalanmasına ve filmlerin oluşturmasını sağlar.
- Kurutma işleminde çözücü filmde uzaklaştırılır.

Ekstrüzyon Yöntemi

- Sıcak eriyik ekstrüzyon yöntemi işlemi yenilebilir filmlerin ticari düzeyde üretimi için kullanılır.
- Kuru bir işlemdir. Çok az veya hiç çözücü kullanılmaz.
- Sıcaklığa duyarlı biyopolimer, yüksek sıcaklıklarda bozacağından ekstrüde edilemez.
- Çift vidalı bir ekstrüder, tek vidalı bir ekstrüdere kıyasla beslemenin daha iyi karıştırılmasına yardımcı olur.
- Birden fazla ekstrüder ile çok katmanlı bir film üretilebilir.
- Genel üretim maliyeti döküm yöntemine göre daha yüksektir.

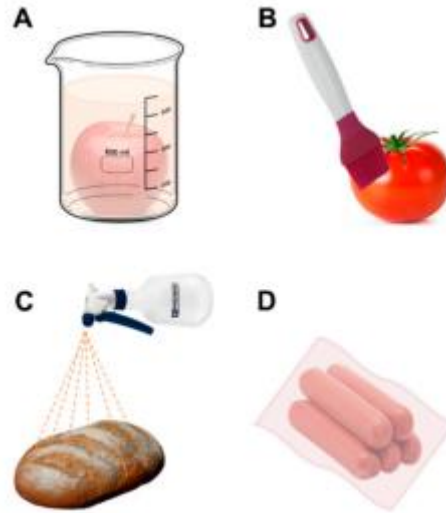
Elektroçirime Yöntemi

- Mikro ve nano ölçekte yüksek performanslı lifler üretebilen uygun maliyetli, çok yönlü ve uygun fiyatlı bir elektrodinamik işleme tekniğidir.
- Farklı biyopolimerlerin bileşimini sağlar.
- Hem gıda yüzeyine kaplama uygulamasında hem de film oluşturmada kullanılacak bir yöntemdir.
- Aktif bileşikleri nanofiberlere kapsüllemek için de kullanılabilir. Böylece, aktif bileşiklerin işlevselliği uzatıldığı için gıda ürünlerinin raf ömrü artırılabilir.

Şekil 2.3. Yenilebilir film hazırlama yöntemlerinin genel özellikleri (Chandrababu ve Ep, 2023; L. Kumar ve ark., 2022; Lopez-Polo ve ark., 2024)

Yenilebilir film ve kaplamaların gıdanın cinsine, yüzey özelliklerine ve kullanım amacına göre tercih edilebilecek kaplama yöntemleri mevcuttur. Yenilebilir kaplama, doğrudan meyve, sebze ve diğer gıda ürünlerinin yüzeyine uygulanırken (Şekil 2.3 A-C); yenilebilir filmler ise gıdanın yüzeyine sarılabilir (Şekil 2.3 D). Endüstriyel uygulamalarda yaygın kaplama yöntemleri arasında; püskürtme, yayma (firçalama), daldırma (ıslatma) yer alır. Püskürtme yönteminde, sıvı çözelti gıda ürününe püskürtülür. Sıvının püskürtülmesi, sıvı çözeltiyi küçük damlacıklara dönüştürür. Bu sayede gıdanın yüzeyi bu damlacıklarla tamamen kaplanır. Bu teknolojinin başlıca avantajları arasında: homojen bir kaplama, kaplama kalınlığı üzerinde kontrol ile birkaç kat uygulama imkanı sayılabilir. Firçalama yönteminde, kaplama doğrudan gıdanın yüzeyine veya dolaylı olarak ambalaj malzemesine fırça veya spatula gibi steril bir aletle eşit şekilde uygulanır. Daldırma yönteminde, gıda örneği soğuduktan sonra doğrudan kaplama solüsyonuna daldırılır. Yüzeyde eşit bir tabaka oluşturmak için, fazla sıvı daha sonra damlatılır ve

kontrollü sıcaklık ve bağıl nem koşulları altında kurutulur. Genellikle yüksek viskoziteli sıvılar için tercih edilir. (Chang ve ark., 2023; Díaz-Montes ve Castro-Muñoz, 2021; L. Kumar ve ark., 2022; Silva ve ark., 2022).



Şekil 2.4. Başlıca yenilebilir film kaplama teknikleri (A) Daldırma; (B) Yayma; (C) Püskürtme; (D) Sarma (Díaz-Montes ve Castro-Muñoz, 2021)

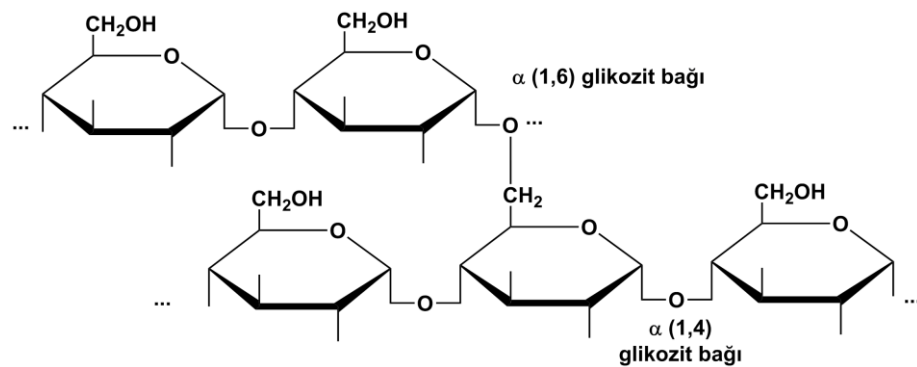
2.3. Yenilebilir Film Üretiminde Kullanılan Polisakkarit Esaslı Bazı Biyopolimerler

Yenilebilir film üretiminde kullanılan pek çok biyopolimer bulunmaktadır (Şekil 2.1). Polisakkarit bazlı olanların diğer biyopolimerlere nazaran şeffaf ve kokusuz film üretme kapasitesi ve bunun da gıdanın duyuusal algısının engellenmesini önlemesi, hidrofilik yapıları, yoğunluk katan ve gaz girişini-çıkışını önleyerek filme oksijen tutma nitelikleri kazandıran yenilebilir polimerler olmaları gıda ambalajlama sanayiinde temel bileşen olarak sıklıkla kullanılmalarına neden olmuştur (Prakoso ve ark., 2023). Yapmış olduğumuz bu çalışmada, meyve kaplama için yapılan optimizasyonlarda sindirim sisteminde sürdürülebilirlikleri sebebiyle tercih edilen nişasta ve CMC biyopolimerlerinin genel özellikleri ve gıda koruma çalışmaları üzerinde durulmuştur.

2.3.1. Nişasta esaslı yenilebilir filmler

Nişasta biyopolimerleri; kolay erişilebilirlikleri, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, biyouyumlulukları, maliyetlerinin düşük olması, mekanik direnç sağlama ve su kaybını önleme gibi özellikleri nedeniyle gıda ambalaj endüstrisinde

yaygın kullanılan polisakkaritlerdir. Bugüne kadar, yenilebilir filmler yapmak için manyok, patates, buğday ve mısır gibi farklı bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal nişastalar kullanılmaktadır (Li ve ark., 2020). Gıda sektöründe meydana gelen atıkların ve yan ürünlerin bile nişasta içeriğine dönüştürülüp kullanılabilirdiği bilinmektedir. Nişasta, bitki saplarında, tohumlarda, meyvelerde, köklerde ve yumrulara doğal olarak bulunan, biri amiloz, diğeri amilopektin olan iki polisakkaritten oluşan yapılardır (Şekil 2.5). Her ikisi de suda çözünmez. Nişasta belirli oranlarda kesme basıncına, termal enerjiye ve plastikleştiriciye maruz kaldığında, granülleri geri döndürülemez şekilde yarı kristal yapılarını kaybedip sürekli bir matrise dönüşür. Ancak amiloz, nişastanın olağanüstü film oluşturma yeteneğinin temel nedenidir. Nişasta sentetik polimerlere benzer özelliklere sahip olup renksiz, tatsız ve yarı saydam katmanlar oluşturma özelliğinde olduğundan yenilebilir filmlerde ve kaplamalarda sıklıkla kullanılır. Genellikle, makarna, çorba, sos gibi gıdaların dokusunu ve kıvamını iyileştirmede, büyük buz kristallerinin oluşumunu önlemek için dondurma gibi işlenmiş gıdalarda bir dengeleyici ajan olarak kullanımı yaygındır. Nişasta, yenilebilir filmler oluşturmak için kullanılmasına rağmen, nişasta bazlı filmler doğal hidrofilik yapıları nedeniyle zayıf su ve nem bariyeri özelliklerine sahiptir. Bu nedenle, içsel özelliklerindeki eksiklikleri iyileştirmek için plastikleştiriciler ve diğer polimerlerle birlikte kullanmak daha uygundur (Majeed ve ark., 2023; Prakoso ve ark., 2023). Nişasta filmlerinin fiziksel ve işlevsel özelliklerini iyileştirmek için yapısına hidrofobik ve/veya antimikrobiyal bileşiklerin dahil edilmesi önerilmiştir (Jiménez ve ark., 2012). Literatürde nişastanın yenilebilir film uygulamalarına dair pek çok çalışma mevcuttur (Pei ve ark., 2024).

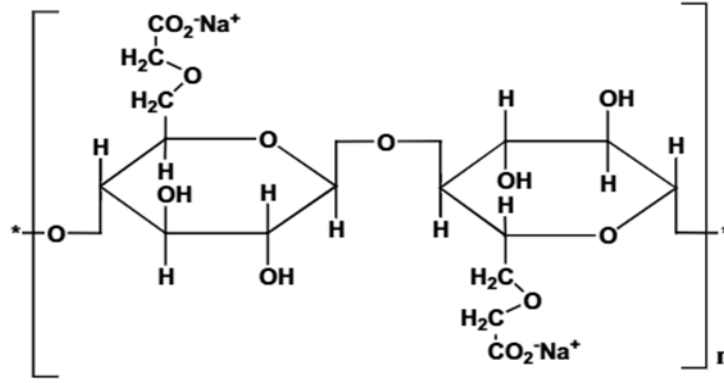


Şekil 2.5. Nişasta molekül yapısı (Yöntem ve Ünalı, 2018)

Muz örneklerinin manyok nişastası/CMC kompozit filmleri ile kaplandığı bir çalışmada, farklı LAB konsantrasyonlarının eklenmesinin (% 0,5, % 1, % 1,5 ve % 2) su buharı ve ışık geçirgenliğini azalttığını bunun yanı sıra filmlerin antioksidan performansını artırdığı belirtilmiştir (Li ve ark., 2020). Bir başka çalışma ile Coimbra ve ark. (2023) patates kabukları (P) ve/veya ayva (Q) kabukları kaynaklı nişasta (S) örneklerinden film geliştirmiştir. SPQ formülasyon filminin, peynirlere olgunlaşma sırasında etkisi ve peynirlerin tüketiciler tarafından belirlenen duyuşal özellikleri ve kabul edilebilirliği değerlendirilmiştir. Geliştirilen filmin, kontrol ve natamisinle kaplanmış peynirlerle karşılaştırıldığında peynir sertliğini artırmakla kalmayıp duyuşal özelliklerini değiştirmeyerek peynirin olgunlaştırılması sırasında kullanılabilir bir film olabileceği iddia edilmiştir (Coimbra ve ark., 2023).

2.3.2. CMC esaslı yenilebilir filmler

Selüloz bazlı malzemeler doğada bol miktarda bulunur ve yapraklar, yiyecek atıkları, mikroorganizmalar gibi çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen yapılarıdır. Polisakkaritler arasında belirgin kristal yapısı nedeniyle sulu çözeltilerde çözünürlük açısından zorluk yaratan selüloz maddelerden suda çözünürlüğü iyileştirilmiş metil selüloz (MC), karboksimetil selüloz (CMC), hidroksil propil selüloz (HPC) ve hidroksil propil metil selüloz (HPMC) gibi bir dizi ürün üretilmiştir (Prakoso ve ark., 2023). Bunlardan CMC, I. Dünya Savaşı döneminde Almanya'da jelatin için potansiyel bir ikame olarak geliştirilen, dönemin teknik zorlukları ve yüksek üretim maliyetleri nedeni ile ticarileşmesi zaman alan bir polimerdir. Çok hidrofilik yapısı nedeniyle CMC (Şekil 2.6), karragenan, aljinatlar veya kalsiyum gibi belirli tuzlara karşı oldukça hassas olan pektin gibi diğer hidrokolloidlere göre birçok tuz türüne ve konsantrasyonuna karşı çok daha dayanıklıdır. Gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan en önemli selüloz türevi hidrokolloiddir. Anyonik bir polimer olup sulu çözeltilerin reolojisini kalınlaştırma ve değiştirme yeteneğine ek olarak, belirli pH aralıklarında proteinler ve diğer yüklü moleküllerle reaksiyona girebilme gibi bir özelliğe sahiptir. Bu işlevsel özellikler, gıda endüstrisinde birçok farklı ürün uygulamasında yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır. Aynı zamanda nişasta ile birlikte kullanıldığında iki bileşen arasında genellikle uyumluluk gözlenir (Keller, 1986).

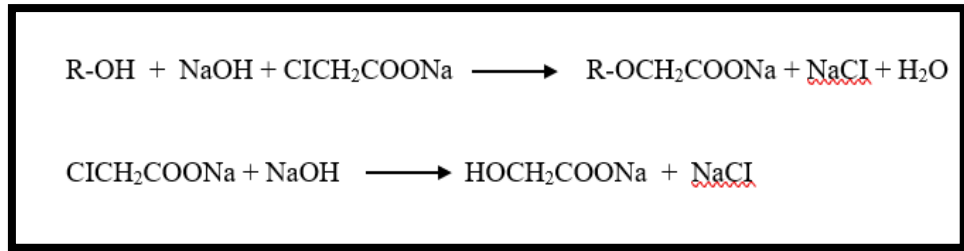


Şekil 2.6. CMC molekül yapısı (Kukrety ve ark., 2018)

CMC, endüstride ve günlük hayatımızda büyük öneme sahip en önemli selüloz türevlerinden biridir. CMC, selülozdan türetilen doğrusal, uzun zincirli, suda çözünür, anyonik bir polisakkarittir. Dahası, yüksek moleküler ağırlık özelliklerine sahip suda çözünür heteropolisakkaritleri nedeniyle, CMC genellikle istenen dokuyu, geliştirilmiş ürün kalitesini ve stabilitesini, nemi ve ayrıca su hareketliliğini kontrol etmek için nişasta ile harmanlanır (Bertuzzi ve ark., 2007; Bono ve ark., 2009). Çeşitli lignoselülozik atık biyokütlesinden (muz sapı, kağıt çamuru, pamuk sapı, şeker kamışı posası, kakao kabuğu, palmye çekirdeği keki, fasulye kabukları, çam iğnesi, şeker pancarı, pamuk lifleri, portakal ve greyfurt kabuğu, pamuk tiftiği, atık kağıt vb.) elde edilen selüloz, heterojen koşullar altında NaOH kullanılarak alkalileştirme ve ardından monokloroasetik asit (MCA) ile eterifikasyon yapılarak CMC'ye dönüştürülür (Şekil 2.7). CMC'nin çeşitli özellikleri, polimerin moleküler ağırlığı, DS ve ayrıca polimer zincirleri boyunca karboksil ikamelerinin dağılımı gibi üç ana faktöre bağlıdır. Üretilen CMC, FTIR spektrumları, NMR, SEM, X-ışını difraktogramı vb. gibi çeşitli spektroskopik teknikler kullanılarak karakterize edilir. CMC, selülozun sulu sodyum hidroksit ile işlenmesi ve ardından sodyum kloroasetat ile reaksiyona sokulmasıyla üretilir. Sodyum glikolat oluşumu şeklinde bir yan reaksiyon da meydana gelir (Keller 1986; Kukrety ve ark., 2018).

CMC, filmin buhar geçirgenliğini önemli ölçüde iyileştirebileceği (Ebrahimi ve ark., 2018), kendisine probiyotik ilavesinin ışık geçirgenliğini azalttığı (Li ve ark., 2020) ve böylece gıdayı korumada etkin olduğu bilinen bir biyopolimerdir. Bahsi geçen tüm bu özellikleri sayesinde, CMC'nin gıda sektöründe yaygın bir kullanım alanına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 2.8). Örneğin, polisakkarit bazlı filmlerin fenolik bileşik içerikleri

ile et ürünlerinde kullanılması, yenilebilir filmlerin işlevsel özelliklerine katkıda bulunabilen ve dikkat çekici antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere neden olan alternatif bir yöntem olmuştur. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada, selüloz bazlı filme biberiye özütü eklemenin, kırmızı etin tazeliğini 12 günlük bir süre boyunca koruduğu belirtilmiş olup bu durumun sebebi, biberiyedeki flavonoidlerin, bakterilerin sitoplazmalarında nükleik asit sentezlenmesini önlemesi ve buna bağlı olarak metabolik süreçlerini bozarak büyümelerini durdurması ile ilişkili olduğu iddia edilmiştir (Liu ve ark., 2012).



Şekil 2.7. CMC oluşumu reaksiyon basamakları (Kukrety ve ark., 2018)



Şekil 2.8. CMC'nin gıda endüstrisinde kullanım alanları (Rahman ve ark., 2021)

Polisakkarit filmlerle ilgili özellikler göz önünde bulundurulduğunda, son dönemlerde yapılan çalışmaların (Dashipour ve ark., 2015; Hashemi ve Jafarpour, 2021; Li ve ark., 2020; Liu ve ark., 2012; Massoud ve ark., 2023; Tahir ve ark., 2020; Tumbarski ve ark., 2022) daha çok yenilebilir filmlerin tek başına değil de gıdaların fonksiyonel özelliklerini arttırmak yönünde olduğu ve bunu yaparken de gıdanın kalite parametrelerini nasıl etkilediği konuları üzerinde durulduğu dikkat çekmektedir.

2.4. Probiyotikler ve Prebiyotikler

Son dönemlerde, probiyotik içeren gıdaların tüketimine dair giderek artan eğilim, tüketicilerin sağlıklı beslenme ve refah bilinci, gıda üreticileri ve paydaşlarında yeni probiyotik ürünler arama ihtiyacı uyandırmıştır. Özellikle laktoz intoleransının artan sıklığının ve yeni yaşam tarzlarının (vegan ve vejetaryen stiller) süt ürünü olmayan probiyotik taşıyıcılara olan ilgiyi de yeniden canlandığı bilinmektedir. Ayrıca, bu suşların kanıtlanmış sağlığa olumlu etkileri (vitamin üretimi, kolesterol düşürme, laktoz intoleransının hafifletilmesi, kanser önleme, bağışıklık sisteminin uyarılması, bağırsak hareketliliğinin artırılması, kabızlığın giderilmesi, rotavirüs ve antibiyotikle ilişkili ishalin önlenmesi ve azaltılması gibi) yadsınamayacak kadar fazladır (Pavli ve ark., 2018; Speranza ve ark., 2018). Bunun yanı sıra, vücuda yarar sağlayan pek çok probiyotik suşun bugün artık model sindirim ortamı yardımıyla gastrointestinal sistemde canlılıklarını ne derece koruyabildiklerine dair bilgiler de kolayca elde edilebilmektedir. Örneğin; yapılan bir çalışmada, *Bifidobacterium animalis* DSM 20105 suşunun 4 saat sonra pH 2'ye karşı yüksek tolerans gösterip canlılığını koruması fonksiyonel gıda üretiminde kullanılabilirliği konusunda iyi bir probiyotik özellik gösterebileceği iddia edilmiştir (Cizeikiene ve Jagelaviciute, 2021). Buna ek olarak, probiyotiklerin yalnızca kendi varlıklarının değil sekonder metabolitlerinin de sağlığa olan olumlu etkileri günümüzde araştırılmaya devam eden bir unsur haline gelmiştir (Martinez ve ark., 2013).

Prebiyotikler ise, bağırsak mikrobiyotası tarafından parçalanabilen bir besin grubu olup bağırsak mikrobiyotasını besleyebilmektedirler. Bilinen en önemli iki prebiyotik grubu fruktooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritlerdir. Bilim insanları, probiyotiklere kıyasla kolay üretim, formülasyon süreci, nakliye ve depolamada soğuk zincire ihtiyaç duyulmaması, gıdalarda doğal olarak düşük miktarlarda bulunmaları nedeniyle prebiyotikleri endüstriyel ölçekte üretmeye çalışmaktadır. Hem probiyotik hem de prebiyotik içeren ürünler "simbiyotik" olarak da tanımlanmaktadır (Davani-Davari ve

ark., 2019; Pavli ve ark., 2018). En sık kullanılan prebiyotik moleküllerden biri, çoğunlukla doğrusal bitki kökenli bir polisakkarit olan inülin olup genellikle hindiba kökünden izole edilmektedir. β (2-1) kimyasal bağlarının varlığı nedeniyle, inülinin mide ve ince bağırsaktaki sindirim enzimlerinin hidrolitik aktivitesine dirençli olduğu ve çoğunlukla sindirilmemiş bileşiklerin kalın bağırsağa ulaştığı bilinmektedir (Orozco-Parra ve ark., 2020). Bahsi geçen bu prebiyotiklerin bilenen pek çok yararları da vardır. Örneğin; inülin ve pektin gibi prebiyotiklerin, kanser önleme, ishalin genel süresini kısaltma, bağırsak iltihabı ve bağırsak sorunlarını azaltma, kardiyovasküler hastalık riskini düşürme, obeziteyi önleme gibi faaliyetlerde etkin olduğu bildirilmiştir (Manzoor ve ark., 2022).

Günümüzde probiyotik ve prebiyotik doğal katkı maddelerinin pek çok farklı amaçlar doğrultusunda kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Örneğin; yapmış olduğumuz literatür taramasında Romano ve ark. (2014), iki farklı laktik asit bakterisi suşunu (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 ve *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114) ve fruktooligosakkaritleri (FOS) film oluşturma solüsyonuna çeşitli konsantrasyonlarda prebiyotik olarak dahil ederek MC yenilebilir filmler sentezlemişlerdir. Kurutma adımı, FOS'un olmadığı filmlerde *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333'ün canlılığında önemli bir azalma ($p < 0,05$) meydana gelirken FOS konsantrasyonunun artırılmasının (% 3 a/h) güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğu iddia edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, fermente edilmiş peynir altı suyunun, raf ömrünü iyileştirme amacıyla gıda matrislerine *Lb. plantarum* dahil edilmesini doğal kökenli yeni koruyucuların kaynağı olarak kullanılabilirliği açısından değerlendirmiştir. Çalışma ile birlikte antifungal etkinliği araştırılan 5 farklı *Lb. plantarum* suşunun (CECT 220, 221, 223, and 748), *Fusarium* ve *Aspergillus* cinsini kapsayan 28 farklı mantara karşı kullanımı ile minimum inhibitör konsantrasyonlarının belirlenebildiği iddia edilmektedir (Izzo ve ark., 2020).

Probiyotik ve prebiyotikler artık sadece süt ve süt ürünleri ile tüketime dahil edilmekle kalmamış olup yenilebilir doğal film kaplamalarına ikame edilmelerinin etkinliği (antimikrobiyal, antioksidan vb.) araştırılmış ve halen araştırılmaya devam edilmekte olan bir konudur. Probiyotik yenilebilir film, tüketilebilir doğal malzemelerden (örneğin proteinler, polisakkaritler veya lipitler vb.) sentezlenen ve *Lactobacillus* ve/veya *Bifidobacterium* türleri gibi canlı probiyotik mikroorganizmalarla birleştirilen, püskürtme ve daldırma gibi yöntemlerle de gıdanın yüzeyine uygulanan ince, tüketilebilir bir

biyoaktif kaplama tekniği olup literatürde pek çok farklı gıdada denenmiş uygulamaları da mevcuttur (Chang ve ark., 2023).

2.5. Yenilebilir Probiyotik ve/veya Prebiyotik İkameli Filmlerin Gıdalarda Kullanımı İle İlgili Son Yıllarda Yapılmış Bazı Çalışmalar

Son yıllarda, sağlıklı beslenme konusunda probiyotik gıda tüketimi yoğun ilgi görmektedir. Ancak probiyotiklerin tüketiminde 10^8 - 10^9 canlı hücrenin vücuda alınması gerektiği bilinmektedir. Probiyotikler çevre koşullarına aşırı duyarlı olduklarından canlılıklarını sürdürebilmesi ve biyolojik aktivite gösterebilmeleri gıdanın özelliklerine (örneğin pH), gıda işleme teknolojilerine, depolama koşullarına ve zamana bağlıdır. Probiyotik mikroorganizmaların çoğu gıdalarda bozulma veya hastalık etkeni bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiğinden, bunların yenilebilir filmlere eklenmesi gıda stabilitesini ve güvenliğini arttırmanın yanı sıra sağlığa faydalı yeni fonksiyonel gıdaların üretimini de mümkün kılmaktadır. Biyoaktif gıda paketlenme sistemleri tüketiciler için sağlık yararlarına katkıda bulunabilirken, gıda ürününe salınan (biyoaktif) ajanlar içerebilir. Probiyotik içeren yenilebilir kaplamalarda ise, kaplamanın kendisinin gıdayla birlikte yenilmesi gerektiği varsayıldığından, salınımına bile gerek duyulmaz (Pavli ve ark., 2018; Pop ve ark., 2020). Probiyotiklerin birçok yararlı sağlık etkisi olduğu bilinmekle birlikte antioksidan özellikler sergileyebilen potansiyel probiyotik suşlar da vardır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, probiyotiklerin antioksidan potansiyel sergilediğini probiyotiklerle takviye edilmiş gıdaların tüketilmesinin, insan hücrelerinde oksidatif hasarı, serbest radikal temizleme hızını ve önemli antioksidan enzimlerin aktivitesindeki modifikasyonu azaltabilecek potansiyele sahip olduğunu desteklese de diyet antioksidanları olarak kullanılabilirliklerini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Mishra ve ark., 2015). Bu konuda yapılan çalışmalarda, genellikle yenilebilir filmlere hapsedilen probiyotiklerin belirli sürelerde depolanması sonrası filmlerdeki canlı hücre sayıları kontrol edilmiştir.

Tapia ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (10^9 kob/g) içeren sodium aljinat (% 2 a/h) ve gellan (% 0,5 a/h) bazlı yenilebilir filmleri, gliserol (% 0,6 - % 2), N-asetilsistein (% 1) ve/veya askorbik asit (% 1) ve sitrik asit (% 1) ile formüle edip etkilerini taze kesilmiş elma ve papaya dilimlerinde gözlemlemişlerdir. Su buharı geçirgenliği, aljinat filmlerde ($0,30$ - $0,31 \times 10^{-9}$ g m/Pa s m^2) gellan filmlerden ($0,26$ - $0,27 \times 10^{-9}$ g m/Pa s m^2) önemli ölçüde daha yüksek ($p <$

0,05) bulunurken, 2 °C'de 10 günlük depolama süresince probiyotik canlı sayısı 10^6 hücre/g değerinin üzerinde kalabildiği bildirilmiştir (Tapia ve ark., 2007).

Bir başka çalışmada ise, 10^9 kob/mL konsantrasyonunda *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* ile birleştirilmiş jelatin yenilebilir film oluşturan çözeltide ve filmde probiyotik bakteri sayılarının 6 gün boyunca sabit kaldığı rapor edilmiştir. Soğutulmuş depolama sırasında etkisini değerlendirmek amacıyla balıklara *B. bifidum* ile birleştirilmiş bir jelatin film ile kaplanmış. *B. bifidum* depolama sırasında canlılığını korurken ve H₂S üreten mikroorganizmalar 2 logaritmik birim azaltılabilmektedir. Çalışmanın devamında, Bifidobakteri ile birleştirilmiş jelatin filmlerle kaplanmış balıklar, yüksek basınçla (200 MPa/10 dk./20 °C) muamele edilip depo edildiklerinde ise toplam canlı sayımlarında 2 logaritmik birimden daha az bir azalma kaydedilen bilgiler arasındadır (López De Lacey ve ark., 2012).

2013 yılında yapılan bir diğer çalışmada, farklı orijinli çeşitli nişastalar, pullulan çözeltilerine farklı oranlarda karıştırılıp probiyotik (12,876 Log kob/mL başlangıç konsantrasyonlu *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lb. reuteri* ve *Lb. acidophilus*) taşıma kapasiteleri incelenmiştir. 30 günlük soğukta depolamadan (4°C'de) sonra bile saf pullulan ve eşdeğer pullulan/patates nişastası karışımı filmlerin, % 80' den fazla probiyotik hücre canlılığını koruduğunu ve bunun diğer filmlere kıyasla daha fazla olduğunu kanıtlamışlardır (Kanmani ve Lim, 2013).

Yapılan başka bir çalışmada, plastikleştirici tipinin (gliserol ve sorbitol), bunların konsantrasyonlarının (% 40, % 50 ve % 60 hacim/hacim polimer) ve aljinat/pektin oranının (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 ve 0:100) *Lb. plantarum* KMC45'i ihtiva eden filmleri nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Plastikleştiricilerin konsantrasyonunun artırılmasıyla, kurutulmuş filmlerin daha esnek hale geldiği ve kurutma stresine karşı *Lb. plantarum* KMC45 bakterisinin canlılığını koruduğu sonucuna varılmıştır. *Lb. plantarum* KMC45'in en yüksek hayatta kalma oranının, 30 gün boyunca 4 °C'de aljinat ve sorbitol (% 60 h/h polimer) içeren filmlerde elde edildiği bildirilmiştir. Filmlerde pektin oranının artmasının, polisakkarit kompozit filmlerin kalınlığını, opaklığını, su buharı geçirgenliğini ve su içeriğini önemli ölçüde artırırken probiyotik bakterilerin hücre canlılığını azalttığı ileri sürülmektedir (Shahrampour ve ark., 2020).

Orozco-Parra ve ark. (2020), polimerik matris olarak manyok nişastasından, prebiyotik molekül olarak inülin ve probiyotik bakteri olarak *Lb. casei*' den yapılmış bir sinbiyotik film geliştirmiştir. Probiyotiklerin filmlerde kalma sürecinin takibi için in vitro ortamda mide-bağırsak yolu simüle edilmiştir. Her simülasyondan sonra önemli

canlılık düşüşleri olduğu rapor edilmiştir. Gastrik simülasyondan sonra, % 0.5 inülin içeren filmlerde yaklaşık $1,9 \pm 0,1$ Log kob/g, inülin içermeyen filmlerde ise $3,9 \pm 0,2$ Log kob/g hücre kaybı gözlemlenmiştir. Ayrıca, bağırsak ve kolonik simülasyonlarda filmlerde % 0,5 inülin ihtiva eden filmlerde yaklaşık $3,8 \pm 0,3$ Log kob/g hücre kaybı olurken bu oran inülin içermeyen filmlerde yaklaşık $5,4 \pm 0,1$ Log kob/g olmuştur (Orozco-Parra ve ark., 2020).

Sodyum aljinat (SA) bazlı probiyotik *Lb. plantarum* taşıyıcılı yenilebilir filmlerin üretildiği bir çalışmada filmlerin karakterizasyonu gerçekleştirilip probiyotik bakterilerin, film kurutma ve 60 gün boyunca saklama sırasındaki hayatta kalma oranları değerlendirilmiştir. Soğukta depolamanın probiyotik popülasyonunu daha yüksek seviyelerde tuttuğu, serbest veya kapsüllenmiş bakteri katılımının da önemli ölçüde ($p < 0,05$) gerilme mukavemeti değerlerini arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Su buharı geçirgenlik değerleri, maltodekstrinle kapsüllenmiş probiyotiklerin eklenmesiyle de önemli ölçüde artmıştır. Araştırmacılar, sodyum aljinat bazlı filmlerin güçlü bir *Lb. plantarum* taşıyıcısı yenilebilir kaplaması olarak rahatlıkla kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Akman ve ark., 2021).

Probiyotik (*Lb. rhamnosus* ve *B. animalis* subsp. *lactis*) ve prebiyotik (inülin) takviyeli aljinat film ile kaplanmış taze kesilmiş elmaların beslenme, gıda güvenliği ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, soğukta depolamanın ve simüle edilmiş gastrointestinal sistemin probiyotik canlılık üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Her iki probiyotik de 8 günlük depolamadan sonra üründe 9 Log kob/g'ın üzerinde başarılı bir şekilde kalabilmiştir. Prebiyotik ilavesi ile, sindirim sonrası *Lb. rhamnosus* ve *B. lactis* için sırasıyla 7,8 ve 8 logaritmik birim canlılık elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, her iki probiyotik de elma küplerine kontamine edilen *Listeria innocua*'ya karşı 1,8 logaritmadan daha yüksek azalmalarla bakterisit etki gösterdiği iddia edilmiştir (Alvarez ve ark., 2021).

Ceylan ve Atasoy yaptıkları bir çalışmada, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 ikameli sodyum kazeinat bazlı yenilebilir filmlere inülin (IN) ve fruktooligosakkarit (FOS) prebiyotiklerinin değişen konsantrasyonlarının etkisini incelemişlerdir. Sentezlenen filmler, dilimlenmiş işlenmiş peynirlerin kaplanmasında kullanılmıştır. Toplam IN ve FOS'un yüksek konsantrasyonları filmlerde esnekliğin azalmasına, FOS kullanımı ile opaklık azalırken, IN filmlerin opaklığında artışa neden olmuştur. Kaplama uygulamalarında ise peynir örneklerinde ağırlık kaybını azaltmada, peynirin yumuşaklık ve renk özelliklerini korumada etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak, peynirlerdeki

canlı probiyotik konsantrasyonunun 30 gün sonunda yetersiz kaldığı görülmüştür. Elde ettikleri verilere göre, en iyi film formülasyonlarının sırasıyla % 0 IN + % 0 FOS, % 1 IN + % 0 FOS ve % 0 IN + % 1 FOS şeklinde olduğunu belirtmişlerdir (Ceylan ve Atasoy, 2022).

Monteiro ve arkadaşları, 50, 60 ve 70 °C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta sabit ağırlığa kadar kurutularak hazırlanacak papaya dilimlerine kurutma öncesinde probiyotik film kaplamıştır. Sonuçlara bakıldığında, yalnızca kurutmanın ilk 200 dakikasında probiyotik canlılıkta en yüksek azalmanın görüldüğü belirtilmiştir. Bununla birlikte, kurutma işlemi sonrasında probiyotik canlılıkta sadece 1,30 log kob/g'lık azalmanın görüldüğü 70 °C sıcaklığın çalışmanın gıda örneğindeki büzülme azaltan ve fenolik içeriği korumaya yardımcı sıcaklık uygulaması olduğu da bildirilmiştir (Monteiro ve ark., 2022).

Bir başka çalışmada, bakteriyosin üretebilen *Lb. lactis* L3A21M1 and *Lc. garvieae* SJM17 suşlarının ilave edildiği aljnat bazlı yenilebilir filmlerin taze peynirlere kaplanması etkisi incelenmiştir. Filmlerdeki bakteriyosin üreten LAB hücrelerinin, antimikrobiyal aktivitelerini kaybetmeden, harici besinlerin yokluğunda 4 °C ve 10 °C'de 10 gün boyunca canlılıklarını koruduğu bildirilmiştir. Aljnat-maltodekstrin-gliserol kaplamanın *Lactococcus* suşları olsun veya olmasın taze peynirlere uygulanmasının nem içeriğini artırarak, ağırlık kaybını azaltarak ve *L. monocytogenes*'in peynire migrasyonunu önleyerek taze peynirin kalitesini artırdığı bulunan diğer sonuçlar arasındadır. *Lc. garvieae* SJM17 ile kaplamanın peynir kalitesinin korunması ve Latin tipi taze peynirlerin raf ömrünün uzatılmasına katkı sağlamak için alternatif bir yöntem olabileceği ifade edilmiştir (Silva ve ark., 2022).

2.5.1. Karboksimetil selüloz (CMC) probiyotik filmlerin gıdalarda kullanımı ile ilgili son yıllarda yapılmış bazı çalışmalar

Selüloz içeren malzemelerden elde edilen sodyum karboksimetil selüloz (CMC), selülozun anyonik, suda çözünür bir türevi olup tekrarlayan birimleri 1,4- glikozidik bağlarla bağlıdır. Moleküler düzeyde, CMC ve selüloz arasındaki en büyük fark, saf selülozdaki bazı hidroksil gruplarındaki hidrojen atomlarının yerini alan CMC'nin bazı anyonik karboksimetil grupları (CH₂COOH) içermesidir. CMC ilk olarak 1918'de sentezlenen ancak ticari üretimi 1920'lerin başında Almanya'da gerçekleşen bir polimerdir. CMC ve CMC tabanlı hibrit malzemeler, pek çok avantajları (kolay, düşük

maliyetli sentez süreci, ham madde kaynağının zengin oluşu, karakteristik yüzey özellikleri, mekanik mukavemet, farklı şekillendirilebilirlik, ayarlanabilir hidrofilik özellik, viskozite ve reolojik özellikler vb.) nedeniyle biyomedikal, farmasötik, tekstil, inşaat, gıda, plastik, kozmetik, kağıt, ve petrol endüstrileri gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. CMC'ler kokusuz, tatsız, kalorisiz ve fizyolojik olarak inert olmalarından dolayı çok sayıda gıda ürünü ve ambalajında kıvam arttırıcı, emülgatör, süspansiyon stabilizatörleri, nem bağlayıcı ve jelleşme ajanı olarak da kullanılmaktadır. Örneğin, düşük viskoziteli CMC'ler gıda endüstrisinde bir nem bağlayıcı görevi görürken, yüksek viskoziteli CMC'ler jelleşme ajanı olarak da görev yaparlar (Rahman ve ark., 2021).

Farklı miktarlarda *Lb. plantarum* içeren CMC yenilebilir kaplamaları ile kaplanmış çilek örneklerinin kullanıldığı bir çalışmada 4 °C'de depolama sonunda, tüm uygulamalarda canlı probiyotik sayısının 6 log kob/g'dan yüksek olduğu bulunmuş. Kaplama çözeltisine daha yüksek miktarda probiyotik aşılmasıyla da bu sayının arttığı gösterilmiş. Ayrıca, bu işlemin probiyotiklerin antimikrobiyal özellikleri sayesinde kontrol örneklerine kıyasla çilek yüzeyinde maya ve küf büyümesinin azaltılmasına yardımcı olduğu da bildirilmiştir. *Lb. plantarum*'un varlığı, kaplanmış çileklerde kaplanmamış kontrole kıyasla depolama sırasında ağırlık kaybını, çürümeyi azaltarak bunun yanı sıra daha fazla askorbik asit ve toplam fenol içeriğinin korunmasına yardımcı olarak gıdanın fizikokimyasal özelliklerini de iyileştirdiği söylenmiştir (Khodaei ve Hamidi-Esfahani, 2019).

Lb. plantarum (10^9 kob/mL), selüloz nanofiber (% 0, % 2,5, % 5 g/100 g CMC) ve inulin (0, 10, 20 g/g CMC) katkılı CMC bazlı probiyotik nanokompozit filmlerinin üretildiği bir çalışmada, film numuneleri FTIR, Fe-SEM, XRD ve DSC analizleri ile karakterize edilmiş. Selüloz nanofiber ve inülin içeren CMC bazlı probiyotik filmler, iyi su bariyeri ve mekanik özellikler sergilerken, CMC bazlı filmlerde probiyotik bakterilerin canlılığı, depolama süresi boyunca probiyotik bileşen olarak inülinin eklenmesiyle de önemli ölçüde (% 36) arttırılabildiği sonucuna varılmıştır ($p < 0,05$). En düşük ve en yüksek kalınlık değerleri sırasıyla, CMC/selüloz nanofiber (% 5)/inulin (% 0) kompozit film için $0,13 \pm 0,001$ mm ve CMC/selüloz nanofiber (% 2,5)/inulin (% 20) karışımli film için $0,21 \pm 0,010$ mm olarak bildirilmiştir. Ayrıca, probiyotik filmlerle sarılı tavuk filetolarda, dokuz patojene karşı antibakteriyel aktivite görülürken gıda örneklerinin raf ömürlerinin de uzadığı belirtilmiştir. Selüloz nanofiber ve inülin içeren CMC bazlı

probiyotik nanokompozit filmler, gıdanın raf ömrünü arttırırken fonksiyonel gıda üretimi anlamında alternatif bir yöntem olarak kullanılabilir (Zabihollahi ve ark., 2020).

Li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, salamura suyundan yüksek ekzopolisakkarit (EPS) verimine sahip iki farklı laktik asit bakterisi türü (*Lb. plantarum* (LPL) ve *Pedococcus pentosaceus* (PPE)) içeren manyok nişastası (CS) ve CMC bazlı hibrit yenilebilir filmler geliştirilmiştir. Farklı LAB konsantrasyonlarının (% 0,5, % 1, % 1,5 ve % 2) eklenmesinin filmlerin su buharı geçirgenliğini azaltırken antioksidan özelliği arttırdığı bulunmuştur. En yüksek aktivitenin ise % 48,12±1,11 olup bu değer, CS/CMC/LPL-% 2 karışımı filmle elde edildiği rapor edilmiştir. CS/CMC/PPE filmleri ile karşılaştırıldığında, CS/CMC/LPL filmlerin kompakt ve homojen bir yapı sergilediği, bunun da CS/CMC matrisinde su moleküllerinin penetrasyonunu engelleyen probiyotiklerin tek tip dağılımına dayanan nispeten yoğun bir yapının oluşumunu gösterdiği yorumu yapılmıştır. Ayrıca, probiyotik takviyeli nişasta filmlerinin daha düşük su buharı ve ışık geçirgenliğinin, yağlı gıdalarda lipid oksidasyonunun bozulmasını önlemek için etkili bir yöntem olabileceği düşünülmüştür. Muzun raf ömrünü uzatması deneyinde, % 2 laktik asit bakterisi ilaveli bileşik filmin antioksidan sonuçla tutarlı olarak daha iyi koruma etkisine sahip olduğunu da doğrulamışlardır (Li ve ark., 2020).

5:5 oranında bir mısır nişastası (NS) ve CMC karışımı matris *Lb. lactis* gömülü probiyotik filmlerin sentezlendiği bir çalışmada, % 1,5 *Lb. lactis* içeren film en iyi performansa ve en düşük su buharı iletim oranına ($5,54 \times 10^{-11}$ g/ms Pa) sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yenilebilir filmlerin 4 °C'de 30 gün saklandığında 5,64 Log kob/g *Lb. lactis* canlı sayısını korurken, % 1,5 *Lb. lactis* içeren kompozit film, 8 gün sonunda en yüksek nisin salınımını (3,35 mg/mL) ve *Staphylococcus aureus*'a karşı iyi bir antibakteriyel aktivite (% 53,53) sergilediği iddia edilmektedir (Lan ve ark., 2021).

2.5.2. Probiyotik yenilebilir filmlerin ve kaplamaların gıda kalite özellikleri üzerine etkisi

Bazı kaynaklarda yenilebilir film ve kaplama terimlerini birbirinin yerine kullanırken, bazılarında gıda ürününe dahil etme tekniklerinden dolayı bir ayrım söz konusudur. Yenilebilir kaplama doğrudan gıda üzerinde oluşturulurken, yenilebilir film önceden yapılır ve daha sonra ürüne uygulanır. Sonucunda, her iki durumda da benzer özelliklere sahip sert matrisler oluşturulmaktadır. Günümüzde yenilebilir film ve kaplamaların tek başına kullanılmasından ziyade bu film ve kaplamalara antioksidan, antimikrobiyal ya da fonksiyonel bileşiklerin dahil edilmesi bunların beraber kullanılması araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (Díaz-Montes ve Castro-Muñoz, 2021). Bazı araştırmacılar, bu işlemlerin gıda üzerindeki etkinliklerini araştırırken gıdanın duyu kalite parametrelerini (mikrobiyal yük, enzim aktivitesi, pH, renk, ağırlık kaybı, titrasyon asitliği vb.) nasıl etkilediğini de incelemişlerdir. Çizelge 2.1 son on yılda çalışılan bazı probiyotik yenilebilir film ve kaplamaların meyve ürünlerine yönelik uygulamalarını göstermekte olup gıda kalite özelliklerini belirleyen bazı kalite kriterleri üzerine etkilerini özetlemektedir. Çalışmalar incelendiğinde, yapılan araştırmaların probiyotik film ve kaplamaların genel olarak mikrobiyal yük, renk değerleri gibi gıda kalite parametreleri üzerine etkileri ile sınırlı kalmış olup bu işlemlerin gıdanın antioksidan özelliğine ve enzim aktivitesine etkisinin yeterince araştırılmadığı fark edilmiştir.

Çizelge 2.1. Probiyotik yenilebilir film ve kaplamaların meyve örneklerinde yapılan çalışmaların gıda kalite parametreleri üzerine etkileri

Film Çözeltisi İçeriği	Gıda Örneği	Film Çözeltisinin Gıda Kalite Parametreleri Üzerine Etkileri	Kaynak
Fruktooligosakkaritler ve <i>Lb. plantarum</i> CIDCA 83114 ($3,1 \pm 0,3 \times 10^{11}$ kob/ml) içeren metilselüloz filmler	Ön ısı uygulanmış elma dilimleri	Kaplamalı atıştırılmalıkların duyuşal özellikleri, deneyimli bir duyuşal panel tarafından 10 üzerinden değeriendirildi. Örnekler, tat ($6,5 \pm 0,6$), renk ($7,7 \pm 0,4$), doku ($7,2 \pm 0,4$) ve genel kabul edilebilirlik ($7,2 \pm 0,3$) konularında iyi puanlar alındı.	(Tavera-quiros ve ark., 2015)
<i>Lb. plantarum</i> c19 (9 log kob/ml) içeren aljinat veya kitosan filmler	Elma ve kavun parçaları (sitrik ve askorbik asitler ile ön işleme tabi tutulmuş)	Küfler, mayalar ve psikrotrof bakteriler tüm depolama süresi boyunca tespit sınırının altında kaldığı bildirilmiştir. Kontrollerde (kaplamasız elma parçaları) ve aljinatla kaplanmış olanlarda, probiyotik oksijen tüketim oranı üzerinde önemli bir etki göstererek bunu azalttığı (kontrollerde % 0,88'den % 0,42'ye O ₂ /gün ve aljinatla kaplanmış elma parçalarında % 1,03'ten %0,55'e O ₂ /gün) belirtilmiştir. Bu etki kitosanla kaplanmış numunelerde bulunmadı. <i>L*</i> üzerindeki etkisi değışken ve işlemin türüne bağılı bulunduğu ifade edilmiştir.	(Speranza ve ark., 2018)
<i>Lb. rhamnosus</i> CECT 8361, inülin ve oligofruktozla zenginleştirilmiş aljinat bazlı kaplamalar	Taze yaban mersini	Antimikrobiyal aktivite açısından, <i>Lb. rhamnosus</i> aşılınmış yaban mersinlerinde <i>Lb. innocua</i> sayısını 1,7 log azaltabilmiş. 21 günlük depolama sırasında, probiyotik suşlu meyveler, probiyotiksiz meyvelerden önemli ölçüde ($p < 0,05$) daha yüksek mezofilik ve psikrotrof bakteri sayım değeri gösterdiği söylenmiştir. Depolama süresince kaplanmamış örnek çürüme gösterene kadar kaplanmış örneklerde çürüme gerçekleşmediği bildirilmiştir.	(Bambace ve ark., 2019)
CMC yenilebilir kaplamalarına farklı oranlarda (0; $5,32 \times 10^{11}$; $2,92 \times 10^{13}$, $3,98 \times 10^{13}$; $5,76 \times 10^{13}$ ve $9,80 \times 10^{13}$ kob/mL) <i>Lb. plantarum</i> PTCC 1058 ikamesi	Taze çilek	<i>Lb. plantarum</i> 'un varlığı, depolama süresi boyunca ağırlık kaybını, çürümeyi ve askorbik asit ve fenolik bileşiklerin bozulma hızını azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, kontrol örneklerine kıyasla çileklerin yüzeyinde maya ve küf büyümesini azaltmaya yardımcı olduğu rapor edilmiştir. pH değeri tüm işlemler için depolama süresi boyunca önemli ölçüde arttığı ($p < 0,05$) söylenmiştir. <i>Lb. plantarum</i> yüklü çileklerin kontrol ve CMC kaplı örneklerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha düşük pH değeriğine sahip olduğu belirtilmiştir. <i>Lb. plantarum</i> yüklü çilekler, diğeri uygulamalara kıyasla daha yüksek fenolik bileşik içeriği gösterdi ve farklı miktarlarda probiyotiklerin varlığı meyvenin duyuşal özelliklerini (renk, lezzet, tat ve doku) etkilemediği iddia edilmiştir.	(Khodaei ve Hamidi-Esfahani, 2019)
<i>Lb. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 'un ATCC 14917 (5×10^7 kob/ml) dahil edildiği önceden jelatinize edilmiş patates nişastası (PS) veya sodyum kazeinat (NaC) bazlı	Üzüm	OA içermeyen PS bazlı formülasyondaki <i>Lb. plantarum</i> , NaC formülasyonunda veya suda uygulandığında olduğundan daha fazla <i>Botrytis</i> kaynaklı hastalığı azalttığı iddia edilmektedir. Kaplamaların, üzümle meyve kalitesi (ağırlık, renk, sertlik ve çözünebilir katı madde içeriği) üzerinde depolama boyunca çok az etkisi olduğu, ancak kaplanmış numunelerin bazıları depolama sırasında asitlik ve olgunluk indeksini diğerilerinden daha iyi koruduğu rapor edilmiştir.	(Marin ve ark., 2019)

filmler ve bazı formülasyonlarda oleik asit (OA)			
Bu çalışma, peynir altı suyu protein izolatına (WPI) probiyotik <i>Lb. casei</i> (5,70 ila 7,77 log cfu/g) ilaveli yenilebilir film	Kiraz domates ve Thompson üzüm	Filmlerin uygulanması domateslerin raf ömrünü etkilemezken, üzümün kütle kaybını ve toplam çözünen katı miktarı (Brix°) değerini azaltarak raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir. Filmin probiyotik kültürle uygulanması domateslerde ve üzümde daha düşük Brix° değerlerine ve üzümde daha yüksek kütle kaybına sebep olduğu, <i>Lb. casei</i> 'nin eklenmesinin filmlerin mekanik özelliklerinde ve 14 gün boyunca uygun probiyotik sayımlarında değişikliklere yol açtığı ve domateslerin ve üzümün olgunlaşma süreci üzerinde olumlu bir etki oluşturduğu (daha düşük Brix° değerleri) belirtilmiştir.	(Dianin ve ark., 2019)
LAB (<i>Lb. plantarum</i> ve <i>Pedococcus pentosaceus</i>) CMC içeren manyok nişastası (CS) bazlı yenilebilir filmler	Muz	Probiyotikler eklendikten sonra, kompozit filmin antioksidan aktivitesi konsantrasyona bağlı bir şekilde önemli ölçüde arttığı (p < 0,05), en yüksek aktivite CS/CMC/LPL-% 2'de % 48,12±1,11 olduğu rapor edilmiştir. Kaplanmamış muz örneklerine kıyasla probiyotik içerikli filmlerle kaplanan muz örneklerinde esmerleşme ve kararmanın daha aza indirildiği ifade edilmiştir.	(Li ve ark., 2020)
<i>Lb. rhamnosus</i> CECT 8361 (<i>Lb. rhamnosus</i>) and <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> CECT 8145 (<i>B. lactis</i>) ilaveli aljinat bazlı kaplamalar	Taze elma küpleri	8 gün sonra PSI sayılarının, probiyotikler ile kaplanmış örneklerde aljinatla kaplanmış örneklere (A) kıyasla biraz daha düşük (p < 0,05) olduğu, genel olarak, kaplanmış ve kaplanmamış elmalarda YM sayıları 8 günlük soğuk depolamadan sonra önemli ölçüde değişmezken, probiyotik eklenmesinin depolama sonunda YM sayıları üzerinde hiçbir etkisi olmadığı bildirilmiştir.	(Alvarez ve ark., 2021)
<i>Lb. plantarum</i> suşlarının (<i>Lb. plantarum</i> LP3, <i>Lb. plantarum</i> AF1 ve <i>Lb. plantarum</i> LU5) dahil edildiği Konjac bazlı yenilebilir kaplama	Taze kivi dilimleri	Kaplanmış örneklerde, çürüme ve renk değişimlerinin miktarı önemli ölçüde azalmış ve kesilmiş kivilerin klorofil ve askorbik asit içeriğini kontrol örneklerine kıyasla korunmuş olduğu rapor edilmiştir. 5 günlük depolamadan sonra, probiyotiklerle muamele edilen kaplamalı kivi dilimlerinin toplam fenol içeriği ve DPPH antiradikal aktiviteleri kaplamasız örneklere göre daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir. İşlemlerin örneklerin titrasyon asitliği ve toplam çözünen katı miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı, probiyotiklerle kaplı kivi dilimlerinin, Konjac kaplamalı ve kontrol örneklerine kıyasla daha yüksek genel kabul edilebilirliğe sahip olduğu belirtilmiştir.	(Hashemi ve Jafarpour, 2021)
<i>Ligilactobacillus salivarius</i> (10 Log kob/mL) eklenmiş jelatin (% 1 a/h) ve inülin (% 4 a/h) film kaplama	Kurutulmuş papaya dilimleri	Probiyotik kaplamanın uygulanması dilimlerin <i>L*</i> değerlerini (açıklığını) önemli ölçüde etkilemiş (p < 0,05) olduğu, probiyotik kaplama olan örneklerin kurutmaya birlikte daha fazla koyulaşma eğilimi göstermiş olduğu bildirilmiştir.	(Monteiro ve ark., 2022)

2.5.3. Yenilebilir filmlerin yaban mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) meyvesinde kullanımı ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar

Yaban mersini, *Ericaceae* familyasının *Vaccinium* cinsine ait, mavi veya mor yenilebilir meyvelere sahip, diyet lifi, C vitamini, K vitamini, manganez, demir ve antioksidan görevi gören ve sağlık yararlarına sahip aktif bileşiklerin (flavonoidler, fenolik asitler, antosiyaninler ve tanenler) kaynağıdır. *In vitro* ve *in vivo* antikanser, antiinflamatuvar, anti-metastatik, kardiyo-koruyucu, antimikrobiyal, anti-diyabetik, yaşlanma karşıtı, böbrek-koruyucu, prebiyotik vb. etkinlikleri olduğu bilinmektedir. Yaban mersini meyvesindeki biyoaktif bileşikler kararsızdır ve hasat sonrası depolama, dağıtım gibi süreçlerde çeşitli yapısal, biyokimyasal ve besinsel değişikliklere uğrayabilir. Yaban mersini meyvesi uzun mesafelerde pazarlanabilirliği, son derece çabuk bozulabilir olması nedeniyle üretimi sınırlı olmuştur. Bu nedenle, hasat sonrası depolama ve koruma teknolojisi, yaban mersini endüstrisinin geliştirilmesi için ihtiyaç duyulan bir sorun haline gelmiştir (Sun ve ark., 2022; Tahir ve ark., 2020; Tumbarski ve ark., 2022). Hasat sonrası raf ömrünü uzatmak ve yaban mersininin kalite özelliklerini korumak için çeşitli alternatiflerin değerlendirildiği bazı çalışmalar mevcuttur.

Yapılan bir çalışmada, taze yaban mersinlerine tek başına ve propolis özütü ile birlikte uygulanan karboksimetil selüloz (CMC) yenilebilir kaplamalarının, 20 gün boyunca buzdolabında depolama sırasında gıdanın kalite parametreleri ve depolama ömrü üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla hazırlanan kaplamasız yaban mersini (kontrol grubu), % 1 CMC kaplamalı yaban mersini ve % 1 CMC kaplamalı + % 1 propolis özütü (CMC + P) içeren yaban mersini örnekleri değerlendirilmiştir. CMC ve CMC + P kaplamalarının kullanımı, depolama süresinin 20. gününde kontrol grubuna kıyasla ağırlık kaybını sırasıyla % 1,13 ve % 1,67 oranında azalttığı bildirilmiştir. Depolama süresi boyunca, CMC+P kaplamalarının bakteri, maya ve mantar sayısını azalttığı rapor edilen bilgiler arasındadır (Tumbarski ve ark., 2022).

Tahir ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, yaban mersini üzerinde 21 gün boyunca soğuk depolama (4 °C) sırasında sadece zambak arabik (GA) veya Afrika baobab (AB) meyve özütü ile güçlendirilmiş GA'nın etkisini inceledikleri çalışmalarında, gıdanın fiziko-kimyasal özellikleri (pH, renk, sertlik ve ağırlık kaybı), mikrobiyal çürüme, antioksidan özellikler, polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) aktivitesi gibi kalite parametrelerini değerlendirmiştir. GA ile birleştirilmiş AB ile muamele edilen meyveler, mikrobiyal çürüme, sertlik kaybı, ağırlık kaybı ve renk değişiminde önemli bir gecikme

gösterirken, kaplamaların yaban mersininde 21 günlük depolama süresince bozulma etmeni PPO ve POD enzimlerinin aktivitelerini düşürdüğü beraberinde mikrobiyal çürümeyi geciktirdiği sonucuna varılmıştır (Tahir ve ark., 2020).

Başka bir çalışmada, kurkumin yüklü biyoaktif nanokompleksler (Cur NCs) (% 2, % 5, % 8 ve % 11) yüklenen mısır nişastası (CS) bazlı kompozit filmler (CS-Cur NC'ler) yaban mersini paketlemek için kullanıldığı, kontrolle karşılaştırıldığında, CS-Cur NCs paketleme işlemi yaban mersinlerinin görünümünü ve besin değerini etkili bir şekilde iyileştirdiği ve çeşitli antioksidan enzimlerin yüksek aktivitesini koruduğu belirtilmiştir. Dahası, CS-Cur NCs paketleme işlemi askorbik asit (AsA) ve glutatyon (GSH) seviyelerini önemli ölçüde iyileştirdiği böylece AsA-GSH döngü sistemini düzenleyerek reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimini bastırdığı verilen bilgiler arasındadır. Biyoaktif CS-Cur NCs paketlemesinin yaban mersinlerinin hasat sonrası kalitesini etkili bir şekilde koruyabildiği iddia edilmektedir sonucuna varılmış (Li ve ark., 2024).

Sonuç olarak, yaban mersini gibi sağlığa olumlu etkileri olan meyvelerin uzun süreli korunmasında probiyotik ikameli yenilebilir filmlerin kullanımını gösteren çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu tez çalışmamızda, farklı probiyotik ve prebiyotik ikamelerinin taze yaban mersini örnekleri üzerine etkilerini ortaya koymak için probiyotik ve simbiyotik filmlerle kaplanmış taze yaban mersini örnekleri belirli bir raf ömrü boyunca farklı gıda kalite parametreleri açısından değerlendirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Analiz malzemeleri

Analizlerde kullanılan tüm malzemeler ve temin edildiği marka ve yer bilgisi Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Analizlerde kullanılan cihaz ve ekipmanlar

Malzeme	Malzeme	Temin Edildiği Marka/Firma/Yer
Cihaz	Dijital mikrometre	Mitutoyo 293-240-30, Japan
	Renk ölçüm cihazı	WR18/4-8 FRU Kolorimetre
	Spektrofotometre	UV-Vis Agilent
	Otoklav	Nüve
	Su banyosu	Memmert
	Mikro plaka okuyucu	Thermo Scientific
	İnkübatör	Nüve, Türkiye
	Çalkalamalı inkübatör	Biosan
	Laminar flow kabin	JSR, Korea
	Vorteks	WiseMix
	Ultra saf su cihazı	mpMINIpure
	Manyetik ısıtıcı	WiseStir
	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) ve Termogravimetrik analiz cihazları (TGA)	Setaram, Labsys Evo, Konya, Türkiye
	X-ışını difraktometresi (XRD)	PANalytical EMPYREAN
	Fe-SEM	ZEISS Gemini SEM 500, Germany
	FT-IR spektrometresi	FT-IR, Bruker Vertex 70
	Buzdolabı	Uğur
	Soğutmalı santrifüj	Nüve

Çizelge 3.2. Analizlerde kullanılan kimyasal malzemeler

Malzeme Cinsi	Malzeme	Temin Edildiği Marka/Firma/Yer
Kimyasal	Kaborsimetil selüloz (CMC), İnulin (IN), Fruktooligosakkarit (FOS), Pepsin, PVP, Pankreatin, NaCl, NaH ₂ P0 ₄ , Na ₂ HP0 ₄ , K ₂ HP0 ₄ , TritonX-100, H ₂ O ₂ , Metiyonin, Riboflavin, Etanol, 2,2’-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sulfonat) ABTS.+ radikali, Potasyum persülfat, Metanol, Folin-Ciocalteu, Na ₂ CO ₃ , Trolox, Gallik asit, NaOH, HCl, Sodyum klorür (NaCl), KH ₂ P0 ₄ , DPPH, guaiacol, kateşol	Sigma Aldrich (Stenheim, Germany)
	Mısır nişastası	Kenton
	Pierce™ BCA Protein Analiz Kiti (Katalog Numarası: 23227)	Thermo Scientific™, ABD
	Anaero Gas Pack	Thermo Scientific™, ABD
	NBT: nitro-mavi-tetrazolyum	BioChemika
Besiyeri	Plate Count Agar (PCA), Yeast Glucose Chloramphenicol Agar (YGCA), Man Rogosa ve Sharpe (MRS) sıvı ve katı besiyerleri	Biokar

	Muller Hinton Agar	Merck
	Nutrient Agar ve Nutrient Broth besiyeleri	Merck
Bakteri	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> (DSM 20205-0621-001)	Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
	<i>Bifidobacterium animalis</i> (DSM 20105-0715-001)	Zellkulturen GmbH
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	ATCC (American Type Culture Collection)
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	ATCC (American Type Culture Collection)
Gıda	Taze yaban mersinleri	Konya'da bir yerel market

3.1.2. Deneylerde kullanılan mikroorganizmaların, besiyelerinin ve dilüsyon sıvılarının hazırlanması

- Temin edilmiş liyofilize probiyotik suşlar, analize alınana dek 8°C'de muhafaza edilmiştir. Canlandırma için suşa uygun besiyeri tercih edilmiştir.
- Probiyotik kültürlerin çoğaltılmasında MRS broth sıvı besiyeri, probiyotik kültürlerin sayılmasında MRS agar besiyeri kullanılmıştır. Psikrofil bakteri (PSI) sayımı için PCA, maya ve küf sayıları (YM) için YGCA besiyeri kullanılmıştır. Tüm besiyeleri ambalajın üzerindeki hazırlama talimatlarına uygun şekilde istenen hacimde hazırlanmıştır.
- Mikroorganizmaların yıkanmasında ve mikrobiyolojik dilüsyonların hazırlanmasında steril % 0,85'lik (a/h) sodyum klorür çözeltisi (FTS) kullanılmıştır. 1000 mL FTS için 0,85 g NaCl tartılarak 100 mL distile suda çözündürüldükten sonra otoklavda sterilize edilmiştir.
- 0,2 M sodyum fosfat tamponu için 8,47 g NaH_2P_0_4 ve 10,35 g Na_2HP_0_4 500 mL ultra saf suda çözündürülmüştür. pH 7 olana kadar 0,1 M NaOH ve HCl çözeltileri ile ayarlanmıştır.
- 50 mM sodyum fosfat tamponu için 0,686 g NaH_2P_0_4 ve 0,0083 g Na_2HP_0_4 100 mL ultra saf suda çözündürülmüştür. pH 5 olana kadar 0,1 M NaOH ve HCl çözeltileri ile ayarlanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Gıda örneklerinin hazırlanması

Gıda örnekleri, analize kadar birkaç saat boyunca 4 ± 1 °C'de saklanmıştır. Yaklaşık 120 g gıda örneği 200 mL steril saf su ile 30 saniye yıkanmış, süzölmüş ve kaplama uygulamasından önce steril kabinde steril filtre kağıtları üzerinde 30 dk. kurutulmuştur (Bambace ve ark., 2019).

3.2.2. Bakteri kültürlerinin stoklanması ve çoğaltılması

Firmadan temin edilen dondurularak kurutulmuş probiyotik suşlar aktive edilip anaerobik koşullar altında MRS sıvı besiyerinde çoğaltılmıştır. Gelişen bakteri hücreleri % 20 gliserol içeren MRS sıvı besiyerine alınıp -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Analizler için MRS agar ve broth besiyerinde 35 °C'de geliştirilmiş 16 saatlik kültürler kullanılmıştır. Filmlere ilave edilen probiyotik bakteriler, sıvı besiyerinde çoğaltılmasının ardından 50 mL'lik steril konik tabanlı santrifüj tüplerinde 50 mL steril FTS ile 4 °C'de 6000 rpm'de santrifüj edilerek yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. 2 kez yıkamanın ardından suşlar steril FTS ile Mc Farland standartlarına göre filme eklenecek miktarı ayarlanmıştır. Bu işlemin ardından FTS uzaklaştırılmış pelletler film çözeltilerine dahil edilmek üzere kullanılmıştır.

Antibakteriyel aktivite testleri için kullanılan bakteriler (*E. coli* ve *S. aureus*) -20 °C'de % 20 gliserol içeren sıvı besiyerinde muhafaza edilen stok kültürlerden Nutrient agar besiyerine tek koloni düşürme yöntemi ile ekimlerinin ardından öze ile alınan tek koloni Nutrient broth besiyerine inoküle edilmiştir. 37 °C'de 16 saat inkübasyonlarının ardından Mc Farland 0.5 standardına ayarlanarak analizlerde kullanılmışlardır.

3.2.3. Film çözeltilerinin hazırlanması

Optimizasyon için literatürde mevcut çalışmalar neticesinde nişasta bazlı filmlerin genellikle % 4 oranında sentezlendiği görölmüş, aynı zamanda sudaki çözünürlüğü en aza indiren CMC:Nişasta oranının 1:3 (a/a) ve gliserol konsantrasyonunun % 2 (a/h) oranında olduğu sonucuna varılmıştır. Karışımlar optimizasyon için probiyotik ilaveli, hem probiyotik hem prebiyotik (% 1, % 2, % 3 ve % 4 mg/mL) olacak şekilde hazırlanmıştır.

Prebiyotik içeren filmler için, probiyotik bakteri sayısını en uzun süre muhafaza eden CMC/Nişasta kompozit filmi analizler için kullanılmıştır. CMC/nişasta bazlı yenilebilir filmlerin hazırlanması Lan ve ark. (2021), Alvarez ve ark. (2021), Kanmani ve Lim (2013) ve Zabihollahi ve arkadaşlarının (2020) tarif ettiği metotların modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre kompozit filmleri oluşturacak biyopolimerlerin toplamı % 4 (a/h) ve plastikleştirici olarak gliserolün çözeltideki son konsantrasyonu % 2 (a/h) olacak şekilde film çözeltileri hazırlanmıştır. CMC:Nişasta oranı ise 1:3 (a/a) olacak şekilde sabit kalmıştır. Karışımlar probiyotik ilaveli ve hem probiyotik hem prebiyotik ilaveli olacak şekilde ayrı otoklav şişelerinde hazırlanmıştır. Prebiyotik etkisinin gözlemlenmesinde, yapılan denemeler sonucunda probiyotik canlılığı uzun süre muhafaza eden prebiyotik konsantrasyonu % 2 (a/h) olacak şekilde, LAB bakterisi için inülin, Bifidobakteri için fruktooligosakkarit (FOS) kullanılmıştır. 85°C su banyosunda 15 dk patojenler inhibe edildikten sonra steril kabin ortamında *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* ve *B. animalis* bakterileri için 10^{10} - 10^9 kob/g konsantrasyon aralığında probiyotik içerecek şekilde tüm film çözeltilerinde sağlanmıştır. Sentezlenen yenilebilir filmler petri kaplarına (90 mm x 15 mm) döküm yoluyla hazırlanmıştır. 12 mL farklı film oluşturucu çözeltiler petri kaplarına dökülüp oda sıcaklığında 36 saatte steril kabin içerisinde kurutulup sonraki analizler için 4 °C'de % 60 nem ortamında saklanmıştır. CMC/Nişasta kompozit film optimizasyon denemeleri için sentezlenen film örnekleri Çizelge 3.3'te, analizler için kullanılan film örnekleri Çizelge 3.4'te özetlenmiştir:

Çizelge 3.3. Optimizasyon için sentezlenen yenilebilir film örnekleri

Örnek Adı (Karışım oranı)	Sudaki çözünürlük (%)
CMC	100±0,00
CMC-Nişasta (3:1, a:a)	74,12±9,06
CMC-Nişasta (1:3, a:a)	19,39±7,63

Çizelge 3.4. Sentezlenen yenilebilir film örneklerinin içeriği

Film Çözeltilisi	Film Çözeltisinin Kompozisyonu
Kontrol	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol
Lp	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>Lb. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>
LpIN	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>Lb. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> , % 2 İnülin (mg/mL)
Bf	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>B. animalis</i>
BfFOS	% 4 (a/h) [CMC:Nişasta 1:3 (a/a)], % 2 (a/h) gliserol, <i>B. animalis</i> , % 2 FOS (mg/mL)

3.2.4. CMC esaslı filmlerin karakterizasyonu

3.2.4.1. Film kalınlığı

Film örneklerinin kalınlık değerleri, 0-25 mm aralığında ölçüm yapan ve 0,001 mm hassasiyetle çalışan dijital bir mikrometre (Mitutoyo 293-240-30, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Her film örneğinin 5 farklı noktasından ölçümler yapıp bu değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar verilmiştir.

3.2.4.2. Renk özellikleri

Filmin 5 farklı noktasından CIELAB renk değerleri (L^* , a^* , b^*) renk ölçüm cihazı (WR18/4-8 FRU Kolorimetre) kullanılarak ölçülmüştür. L^* , a^* , b^* CIE (Comission Internationale de L. Clairage: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) tarafından kabul edilen uluslararası renk uzayıdır. L^* parlaklığı temsil etmekte olup 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişirken, a^* değeri, $-a^*$ ile yeşili $+a^*$ ile kırmızılığı gösterir; b^* değeri ise, $-b^*$ ile mavi $+b^*$ ile sarılık değerlerini göstermektedir (Pinheiro ve ark., 2013). Arka plan için beyaz renkli kağıt (L_0^* : 91,57, a_0^* : 0,24, b_0^* :-1,165 değerlerine sahip) kullanılmış olup film örneklerinin renk farkı (ΔE^*) değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki denklem kullanılmıştır (Lan ve ark., 2021).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 - (a^* - a_0^*)^2 - (b^* - b_0^*)^2} \quad (3.1)$$

3.2.4.3. Işık bariyer özelliği

0,7×1,5 cm boyutlarında kesilmiş film örneklerinin opaklığı UV-Vis spektrofotometre kullanılarak 550 nm'de ölçülmüştür (Shahrampour ve ark., 2020). 1x4

cm boyutlarda kesilen film örneği spektrofotometre küvetinin bir yüzeyine yerleştirilip absorbanı kaydedilmiştir. Filmlerin opaklık değerleri aşağıda verilen formüle göre (3.2) hesaplanmıştır (Ebrahimi ve ark., 2018).

$$T=A_{550}/x \quad (3.2)$$

Burada T; opaklığı, A; 550 nm'de ölçülen absorbanı, x; kalınlığı (mm) ifade etmektedir.

3.2.4.4. Su tutma kapasitesinin belirlenmesi

Yenilebilir filmlerin nem absorpsiyonu, Melikoğlu ve arkadaşları (2022) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Tüm filmler 1 x 2 cm'ye kesilip ilk kütleyi belirlemek için sabit bir ağırlığa kadar 24 saat boyunca 50 °C'de kurutulmuştur. Filmler, 30 °C'de % 60 bağıl nemli ortamda tüm parçalar 6 saate kadar her saatte bir tartılmıştır (Melikoğlu ve ark., 2022).

3.2.4.5. Nem içeriğinin belirlenmesi

Filmlerin nem içerikleri etüvde kurutma yöntemiyle belirlenmiştir. Bu amaçla yaklaşık 0,1 g film numunesi tartılarak 105 °C'de 24 saat bir fırında sabit ağırlığa kadar kurutulup yüzde nem hesaplanmıştır (Akman ve ark., 2021).

3.2.4.6. Şişme derecesinin (SD) belirlenmesi

Şişme derecesinin belirlenmesi Ngo ve arkadaşlarının tarif ettiği yöntemle gerçekleştirilmiştir. 2 cm x 2 cm boyutlarındaki filmler tartılarak saf suya daldırılmıştır (25 °C'de 50 dk.). Daha sonra kuru filtre kâğıtları üzerine filmler yerleştirilerek filmlerden su uzaklaştırılıp yeniden tartılmıştır. Testler üç kopya halinde tekrarlanıp şişme derecesi aşağıdaki formül (3.3) kullanılarak belirlenmiştir (Ngo ve ark., 2020).

$$SD (\%) = \frac{mf - mi}{mi} \times 100 \quad (3.3)$$

Burada, mf ve mi sırasıyla şişmiş ve ilk numunelerin ağırlıklarıdır.

3.2.4.7. Termal özellik

Filmlerin termal özellikleri, Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) ve Termogravimetrik analiz (TGA) kullanılarak belirlenmiştir. Film numuneleri (46,35 mg \pm 12,80 mg) küçük parçalar halinde kesilip TGA ve DSC ekipmanı numune tepsisine yerleştirildi. Cihazlar için sırasıyla, 30 °C'den 600 °C'ye kadar 10 °C/dk'lık bir ısıtma periyodu ve 20 mL/dk. sabit azot gazı altında platin tavada 1 saat süreyle sonuçlar kaydedilmiştir (Ghanbarzadeh ve ark., 2010).

3.2.4.8. XRD analizi

Film örneklerinin XRD desenleri oda sıcaklığında 5° ila 80° difraksiyon açısı (2 θ) bölgesinde 1°/dk. tarama hızıyla Cu K α radyasyonu ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ve güç = 40 V) kullanılarak x-ışını difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir (Zabihollahi ve ark., 2020).

3.2.4.9. Mikroyapı (Fe-SEM) ve EDS analizi

Her filmin küçük bir numunesi, bir numune tutucuya sabitlenip Denton Vacuum Desk II ile altın-poladyum parçacıklarıyla kaplandıktan sonra Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (Fe-SEM) ile görüntüler kaydedilmiştir. Hazırlanan numunelerin ikincil elektron görüntüleri, 2 kV hızlandırma voltajında bir Fe-SEM cihazında elde edilmiştir. Numuneler, Fe-SEM görüntülerinden önce bir kullanılarak birkaç nm Au-Pd alaşımı ile püskürtülerek kaplandı. Fe-SEM görüntüleri, film kompozisyonunun değerlendirilmesinde EDS yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

3.2.4.10. FTIR spektrumu analizi

CMC bazlı yenilebilir filmlerinin kimyasal bileşimleri FT-IR spektrometresi kullanılarak incelenmiştir. Spektrumları 4 cm⁻¹ çözünürlükte 4000 ila 650 cm⁻¹ aralığında kaydedilmiştir (Melikoğlu ve ark., 2022).

3.2.4.11. Filmlerin probiyotik tutma kapasitesinin belirlenmesi

Kurutulmuş film numunelerindeki probiyotik canlılığın analizi, Lan ve arkadaşlarının (2021) belirlediği yöntemden modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş film numunelerinin her birinin 0,1 gramı ve sindirim çözeltileri ilave edilen

film örneklerinin olduğu test tüpünden 100 µL karışım, 0,9 mL steril fizyolojik tuzlu su içinde çözülmüştür. Çözelti seri dilüsyonlar halinde elde edilip temiz MRS katı agar yüzeyine ekim gerçekleştirildi. 72 saat boyunca 35 °C'de inkübe edildikten sonra canlı bakteri sayısı, gram başına log koloni oluşturan birim (Log kob/g) olarak ifade edilmiştir.

3.2.4.12. Filmlerin antibakteriyel özellikleri

Filmlerin antibakteriyel özellikleri, gram pozitif (*S. aureus* ATCC 25923) ve gram negatif (*E. coli* ATCC 8739) bakterilerine karşı toplam canlı sayma tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Bakteriler 37 °C'de 16 saat boyunca Nutrient Broth (NB) besiyerinde inkübe edilmiştir. Steril koşullarda hazırlanmış 100 µl film çözeltisi (10^9 kob/mL *Lb. plantarum* ve 10^8 kob/mL *B. animalis*), 10^7 kob/mL bakteri kültürü içeren 1 mL bakteri solüsyonuna maruz bırakıldı. Bir gece inkübasyonun ardından, her numuneden alınan 100 µl süspansiyon ile 600 nm'de absorbans ölçümü alınıp canlı bakteri kolonilerinin sayısı yayma plak yöntemine göre 37 °C'de 18 saatlik inkübasyondan sonra belirlendi. Deney iki tekrarlı çalışıldı (Erci ve Bayram Sariipek, 2023).

3.2.4.13. Film örneklerinin sindirim simülasyonu deneyi

Filmlerin in vitro sindirim çalışmaları Orozco-Parra ve arkadaşlarının (2020) kullandığı yöntemle göre, simüle mide sıvısı (SGF) ve simüle bağırsak sıvısı (SIF) kullanılarak iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Simülasyon sıvıları aşağıdaki Çizelge 3.5'te belirtilen şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5. Sindirim için hazırlanan simülasyon sıvılarının özellikleri

Simülasyon sıvısı	Simülasyon sıvısı içeriği
SGF	% 2 (a/h) sodyum klorür, 3 g/L pepsin, pH=2
SIF	6,8 g/L KH ₂ PO ₄ , 10 g/L pankreatin, pH 7,4

Analiz Orozco-Parra ve arkadaşlarının kullandığı yöntemden modifiye edilmiştir. Tüm simüle edilmiş sıvılar, kullanımdan önce filtrelenip ve sterilize edilmiştir. İn vitro sindirim analizleri, 100 µL probiyotik bakteri (10^9 kob/mL) emdirilen filmin bir parçasının (yaklaşık 0,1 g) 900 µL SGF içinde çözülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Numuneler 37 °C'de çalkalayıcı inkübatörde 200 rpm'de inkübe edilip 2 saat sonra, Kalan tüpler boşaltılıp filme 900 µL SIF eklenip aynı işlemler gerçekleştirilip soğutulan

örnekten daha önce bahsedildiği gibi hayatta kalan mikroorganizmalar analiz edilmiştir. Parçalama işleminin tamamlanmasından sonra probiyotiklerin hayatta kalma oranı Log kob/g olarak hesaplanmıştır (Orozco-Parra ve ark., 2020). Sayımlar her numune için iki tekrarlı yapılmıştır.

3.3.5. Film çözeltisi ile yaban mersini örneklerinin kaplanması ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi

Homojen ağırlıktaki yaban mersini örnekleri (~40 g) 200 mL steril su ile yıkayıp steril filtre kağıdı üzerinde steril ortamda 25 °C'de 30 dk. kurumaya bırakılmıştır. Gıda yüzeyindeki su uzaklaştırıldıktan sonra numuneler farklı film çözeltilerine (Çizelge 3.4'de bahsedilen) 5 dk. daldırılmıştır. Ardından, gıdalar 30 dk. oda sıcaklığında kurutulup örnekler 5 günlük depolama süresi boyunca +4°C buzdolabı sıcaklığında steril petri kaplarında muhafaza edilmiştir. Kaplanan gıda örnekleri kaplandıkları film çözeltileri ile kodlanmıştır. Ayrıca kaplama materyalinin etkinliğinin anlaşılması açısından hiç kaplanmamış yaban mersini örnekleri (Yb) de +4°C'de depolanarak analizlere dahil edilmiştir.

3.3.5.1. Mikrobiyolojik analizler

Alvarez ve arkadaşlarının kullandığı metoda göre depolama öncesi ve depolama sonrası gıda örneklerinin probiyotik bakteri, psikrofil bakteri (PSI), maya ve küf sayıları (YM) yapılmıştır. Analizler için 1 gram gıda ürünü, 9 mL steril FTS ile homojenize edilip seri dilüsyonları (1:10) hazırlandı. Probiyotik bakteri sayımı, MRS Agar yüzeyine yapılan ekimlerin anaerobik koşullar altında 37 °C'de 48 saat inkübasyonu sonrasında gerçekleştirilmiştir. PSI sayımları için dilüsyonlar Plate Count Agar'a yayılıp 5-7 gün süreyle 5 °C'de inkübasyonun ardından sayımları yapılmıştır. YM sayımı için, ekimi Yeast Glucose Chloramphenicol Agar plakalarına yapılan petriler 3–5 gün 25 °C'de inkübe edilmiştir. Tüm işlemler iki tekrarlı yapılmıştır. Sonuçlar, ürünün gramı başına koloni oluşturan birimlerin logaritması (Log kob/g) olarak ifade edilmiştir (Alvarez ve ark., 2021).

3.3.5.2. Enzimatik analizler

Gıdanın depolama süresini etkileyen, peroksidaz (POD), polifenoloksidaz (PPO), antioksidan ilişkili katalaz (CAT) ve askorbat süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerin aktiviteleri depolama süresince tüm örnekler için gerçekleştirilmiştir. Analizler (CAT ve SOD aktivitesi için), Ali ve arkadaşlarının (2016) kullandığı metottan modifiye edilmiştir. 1 g gıda örneğine, 2,5 mL 0,2 M sodyum fosfat tamponu (pH 7), son konsantrasyon %1 olacak şekilde PVP ve son konsantrasyonu % 0,5 olacak şekilde TritonX-100 eklenerek karışım havanda buz üzerinde iyice homojenize edilmiştir. 9000 devir/20 dk. 4°C'de gerçekleştirilen santrifüjün ardından süpernatant enzim çözeltisi olarak kullanılmıştır (S. Ali ve ark., 2016).

Peroksidaz (POD) enzim (EC 1.1.1.7) aktivitesi tayini: Yang ve arkadaşlarının kullandığı metottan modifiye edilmiştir. H₂O₂ varlığında pirogallol oksidasyon yöntemi ile belirlendi. Sonuçlar, peroksidaz enzim aktivitesinin bir birimi (U), pirogallolün pH 7'de 15 saniyede purpurogalline oksidasyon miktarı olarak tanımlandı. Bunun için 0,32 mL pirogallik asit (% 5, a/h), 0,16 mL H₂O₂ (% 0,5, h/h), 0,32 mL sodyum fosfat tamponu (0,2 mol/L, pH 7,0) ve 2,2 mL damıtılmış su eklendi. 10 µL enzim çözeltisi 190 µL reaksiyon karışımına eklenip 3 dk. boyunca 420 nm'deki absorbans aralıklı olarak kaydedildi. Reaksiyon miksi ve tampon karışımının 420 nm'deki absorbansı, kontrol olarak kaydedildi. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edilmiştir (Yang ve ark., 2019).

Polifenoloksidaz (PPO) enzim (EC 1.10.3.1) aktivitesi tayini: PPO aktivitesi, Rocha ve Morais'in kullandıkları yöntemde yapılan küçük modifikasyonlarla UV spektrofotometresinde 420 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen enzim çözeltisinden 14 µl alınıp üzerine 186 µl kateşol (0,16 mol/L) substrat olarak eklenip absorbans 60 saniye boyunca her 15 saniyede bir kaydedilmiştir. Zamanın bir fonksiyonu olarak elde edilen absorbans eğrisi PPO etkinliğini hesaplamak için kullanılmıştır. Kör olarak enzim çözeltisi yerine 200 µl sodyum fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır (Rocha ve Morais, 2002).

Katalaz (CAT) enzim (EC 1.11.1.6) aktivitesi tayini: enzim ekstraktı (400 µL) 1600 µL H₂O₂ (5,9 mM) solüsyonu ile karıştırılıp 240 nm dalga boyunda mikro-plaka

okuyucuda absorbans kaydedilmiştir. CAT enziminin aktivitesi $U\ mg^{-1}$ protein olarak ifade edilmiştir; burada bir birim (U) enzim aktivitesi “dk'da 0,01 birim absorbans değişimi” olarak tanımlanmıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim (EC 1.15.1.1) aktivitesi tayini, distile su (80 μ L), fosfat tamponu [50 μ L (pH 5, 50 mM)], 10 μ L NBT: nitro-mavi-tetrazolyum (20 μ M), 20 μ L metiyonin (22 μ M), 20 μ L Triton-X (0,1 μ M), 10 μ L riboflavin (0,6 μ M) karışımı enzim-substratı olarak hazırlanıp enzim ekstraktı (10 μ L) ile karıştırılmıştır. Reaktifler ve enzim özütü içeren 96 kuyucuklu plaka, kapalı bir kutuda 5 dk. boyunca 10 cm uzaklıkta UV ışık lambasına maruz bırakılmıştır. Son olarak Mikro-plaka okuyucuda 560 nm'de absorbans alınmıştır. Enzim çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan fosfat tamponunun (0,2 mol/L, pH 7,0) 10 μ L'si kontrol, 200 μ L'si kör olarak kullanılmıştır. SOD enziminin aktivitesi $U\ mg^{-1}$ protein olarak ifade edilmiştir.

3.3.5.3. Protein analizi

Pierce™ BCA Protein Analiz Kiti (Katalog Numarası: 23227, Thermo Scientific™, ABD) enzim çözeltilerindeki protein miktarını belirlemek için kullanıldı. Değerler mg/ml olarak ölçüldü ve enzim aktivitesini hesaplamak için kullanıldı.

3.3.5.4. pH analizi

1 gram gıda örneği aynı miktarda (g/mL) ultra saf distile su ile homojenize edilip pH metrede okunmuştur. Depolama öncesi ve sonrası değerler kaydedilmiştir.

3.3.5.5. Ağırlık kaybı

Örnekler depolanmadan önce ve sonra ağırlıkları hassas terazi ile belirlenip aşağıdaki denklemle (3.4) yüzde ağırlık kaybı hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık kaybı (\%)} = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100 \quad (3.4)$$

Burada, M1 ve M2 sırasıyla numunenin ilk ve son ağırlıklarıdır.

3.3.5.6. Renk analizi

Örnekler depolama öncesi ve sonrası CIELAB renk değerleri (L^* , a^* , b^*) renk ölçüm cihazı ile kaydedilmiştir.

3.3.5.7. Antioksidan özelliklerin ve toplam fenolik içeriğin belirlenmesi

Gıda örneklerinin antioksidan özellikleri, 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) radikallerini süpürme aktiviteleri ile değerlendirilmiştir. Örneklerin antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik içerikleri gıda numuneleri için ayrı ayrı en az üç tekrarlı olacak şekilde belirlenmiştir. Gıda örneklerinin enzim analiz ekstraktları bu testler için kullanılmıştır.

DPPH radikali süpürme aktivitesi: Viacava ve arkadaşlarının (2015) kullandığı yöntemden modifiye edilmiştir. Analiz için etanolik bir DPPH solüsyonu (39,43 g/L) kullanılmıştır. 10 µL özütler (sindirilmemiş veya sindirilmiş numunelerden kaynaklanan), 140 µL DPPH çözeltisine (39,43 g/L) ilave edildi. Karışım, karanlıkta 60 dk. boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur. Absorbanstaki azalma, bir mikropilaya okuyucu kullanılarak 517 nm'de okunmuştur. Radikal süpürme aktivitesi mg Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri/g ürün olarak ifade edilmiştir. Trolox'un standart eğrisi 0,005–0,14g/L aralığında oluşturulmuştur (Viacava ve ark., 2015).

ABTS radikalini süpürme aktivitesi: Bu metod Lee ve arkadaşlarının (2015) kullandığı yöntemden modifiye edilmiştir. ABTS⁺ radikal katyonu 5 mL 7 mM ABTS solüsyonu ile 88 µL 140 mM potasyum persülfat karışımının reaksiyona girmesiyle üretilmiştir. 16 saat karanlıkta bekletildikten sonra metanol ile seyreltilmiştir (1:44, h/h). 10 µL numune alınarak 190 µL ABTS solüsyonuyla karıştırılıp kapalı plaka oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi ve ardından absorbans 734 nm'de okundu. Aynı işlemler troloks içinde gerçekleştirilip ekstraktın ABTS katyon radikalini süpürme aktivitesi troloks eş değeri (mg TE/g) olarak verilmiştir (Lee ve ark., 2015).

Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi: Analiz, Alvarez ve arkadaşlarının (2021) kullandığı yöntemle yapılmıştır. Ekstraktın 15 µL'si önceden su ile seyreltilmiş 75 µL Folin-Ciocalteu (1:10) reaktifi ile bir kuyucuğa aktarılmıştır. Oda sıcaklığında 3 dk

inkübasyonun ardından 60 µL % 7,5 Na₂CO₃ solüsyonu ilave edilerek karışım 120 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, her numunenin absorbansı, spektrofotometrik mikropilaka okuyucuda 765 nm'de üç kopya halinde ölçülmüştür. Sonuçlar, 100 g ürün başına mg gallik asit eşdeğerleri (GAE) olarak ifade edilmiştir (Alvarez ve ark., 2021).

3.3.6. İstatistiksel analizler

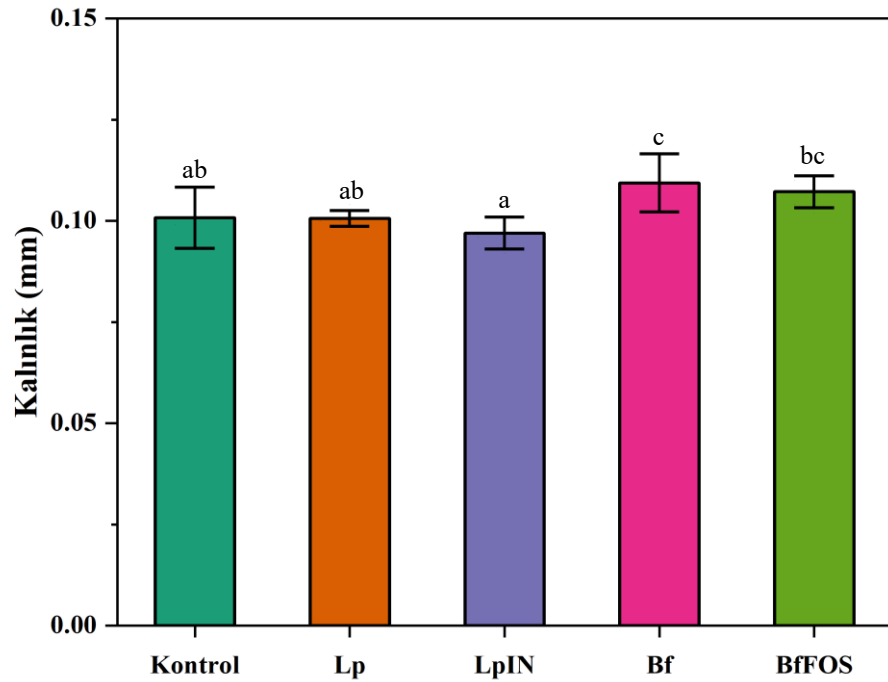
İstatistiksel analizler, IBM SPSS STATISTIC 20 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçların analizi için genel olarak Oneway Anova Duncan ve Dunnett3 testleri uygulanmıştır. Çift faktörlü analizlerin değerlendirilmesinde ise Twoway Anova yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar, ortalama değerler ± standart sapma olarak gösterilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Film Örneklerinin Karakterizasyon Sonuçları

4.1.1. Film örneklerinin kalınlığı

Probiyotiklerin ve prebiyotiklerin CMC bazlı filmlerin kalınlığı üzerindeki etkileri Şekil 4.1’de görülmektedir. Buna göre: Kontrol, Lp, LpIN, Bf ve BfFOS film örnekleri için kalınlık değerleri sırası ile $0,101\pm 0,008$, $0,101\pm 0,002$, $0,097\pm 0,004$, $0,109\pm 0,007$ ve $0,107\pm 0,004$ şeklinde bulunmuştur. Buna göre, kontrol grubu örneklerle *Lb. plantarum* ikameli yenilebilir filmlerin (Lp ve LpIN) kalınlığı arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir ($p > 0,05$). Ancak, genel olarak bakıldığında LAB ikameli filmlerin (Lp, LpIN) kontrol filmlere nazaran daha ince olduğu Bifidobakteri ikameli olanların ise bir miktar daha kalın olduğu söylenebilmektedir. Bu durumun filme ilave edilen bakteri cinsi ve miktarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.1. Film örneklerinin kalınlık değerleri

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Farklı küçük harfler değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Film kalınlığının, filmlerin mekanik, optik ve bariyer özelliklerini etkileyen en önemli parametrelerden biri olduğu bilinmektedir. Bu parametre, film çözeltilisinin hazırlanma şekli, polimer cinsi ve oranı, kurutma şartları, kurutulan film solüsyonunun miktarı ve kurutulduğu kabın hacmi gibi faktörlerden dolayı örnekler arasında farklılık gösterebilmektedir (Akman ve ark., 2021; Ceylan, 2022). Yapılan bir çalışmada, film kalınlığının gıdanın mekaniksel bütünlüğünü korumada ve görünümünü iyileştirmede etkili bir unsur olduğu ifade edilmiştir (Ebrahimi ve ark., 2018).

4.1.2. Film örneklerinin renk ve ışık bariyer özellikleri

Film örneklerinin renk özelliklerindeki değişiklikler, yenilebilir filmlerin ve kaplamaların kabul edilebilirliğini etkileyebilecek önemli parametrelerden biridir. Yenilebilir filmlerin tüketiciler tarafından kabulünde önemli bir rol oynadığı bilinen renk ve opaklık değerlerine (Li ve ark., 2020) ilişkin bilgiler Çizelge 4.1’de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, probiyotik ve hem probiyotik hem prebiyotik ikameli filmlerde L^* (parlaklık) değerleri açısından aralarında istatistiksel açıdan bir fark bulunmaz ($p > 0,05$) iken en düşük a^* (kırmızılık) değeri $0,39 \pm 0,05$ ile LpIN film örneğinde, en küçük b^* (sarılık) değeri ise kontrol grubu örnekte gözlemlenmiştir. Kontrole kıyasla L^* değerleri ikameli filmlerde istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olarak yüksek olsa da filmler kendi içinde benzer L^* değerlerine sahiptir. Bu durum çalışmamızdaki ikameli filmlerin parlaklığının prebiyotik veya probiyotik bakteri eklenmesiyle etkilenmediğini göstermektedir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada CMC bazlı filmlere inülin ilavesinin film örneklerinin parlaklık değeri üzerinde önemli bir farka sebep olmadığı bildirilmiştir (Zabihollahi ve ark., 2020). Aynı şekilde, Orozco-Parra ve ark. (2020) nişasta bazlı filmlere inülin veya probiyotik bakteri eklenmesiyle filmlerin L^* değerlerinin etkilenmediğini belirtmiştir.

Farklı biyoaktif filmler için elde edilen CIE a^* ve b^* değerleri göz önünde bulundurulduğunda, sıfıra yakın a^* ve b^* değerleri film örneklerinin güçlü renk tonlarına sahip olmadığı görülürken, probiyotik bakterili filmlere (Lp ve Bf) prebiyotik eklenmesinin de her iki değerinde de anlamlı bir fark oluşturmadığı ($p > 0,05$) sonucuna varılmıştır. Toplam renk farkının (ΔE^*) film örnekleri arasında farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bu durumun sebebi film örneklerine ilave edilen farklı bakteri konsantrasyonu ve farklı probiyotik/prebiyotik içeriği ile ilişkilidir (Li ve ark., 2020).

Benzer şekilde jelatin bazlı filmlere *Lb. rhamnosus* GG ve farklı prebiyotiklerin (buğday dekstrin, polidekstroz, glikoz-oligosakkaritler ve inülin) eklendiği çalışmada filme ilave edilen prebiyotik türüne bağlı olarak ΔE^* değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuş (Soukoulis ve ark., 2014).

Çizelge 4.1. Filmlerin renk analiz sonuçları

Örnek	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Opaklık
Kontrol	91,33±0,68 ^a	0,51±0,05 ^a	0,23±0,03 ^a	1,55±0,11 ^a	5,96±0,03 ^a
Lp	92,11±0,15 ^b	0,43±0,05 ^{ab}	0,38±0,03 ^b	1,66±0,07 ^a	5,75±0,26 ^a
LpIN	92,72±0,45 ^{bc}	0,39±0,05 ^b	0,40±0,07 ^b	1,98±0,20 ^b	4,67±0,23 ^b
Bf	92,90±0,34 ^{bc}	0,53±0,11 ^a	0,61±0,04 ^c	2,25±0,22 ^c	4,48±0,10 ^b
BfFOS	92,55±0,22 ^c	0,49±0,06 ^{ab}	0,50±0,06 ^d	1,96±0,08 ^b	2,53±0,02 ^c

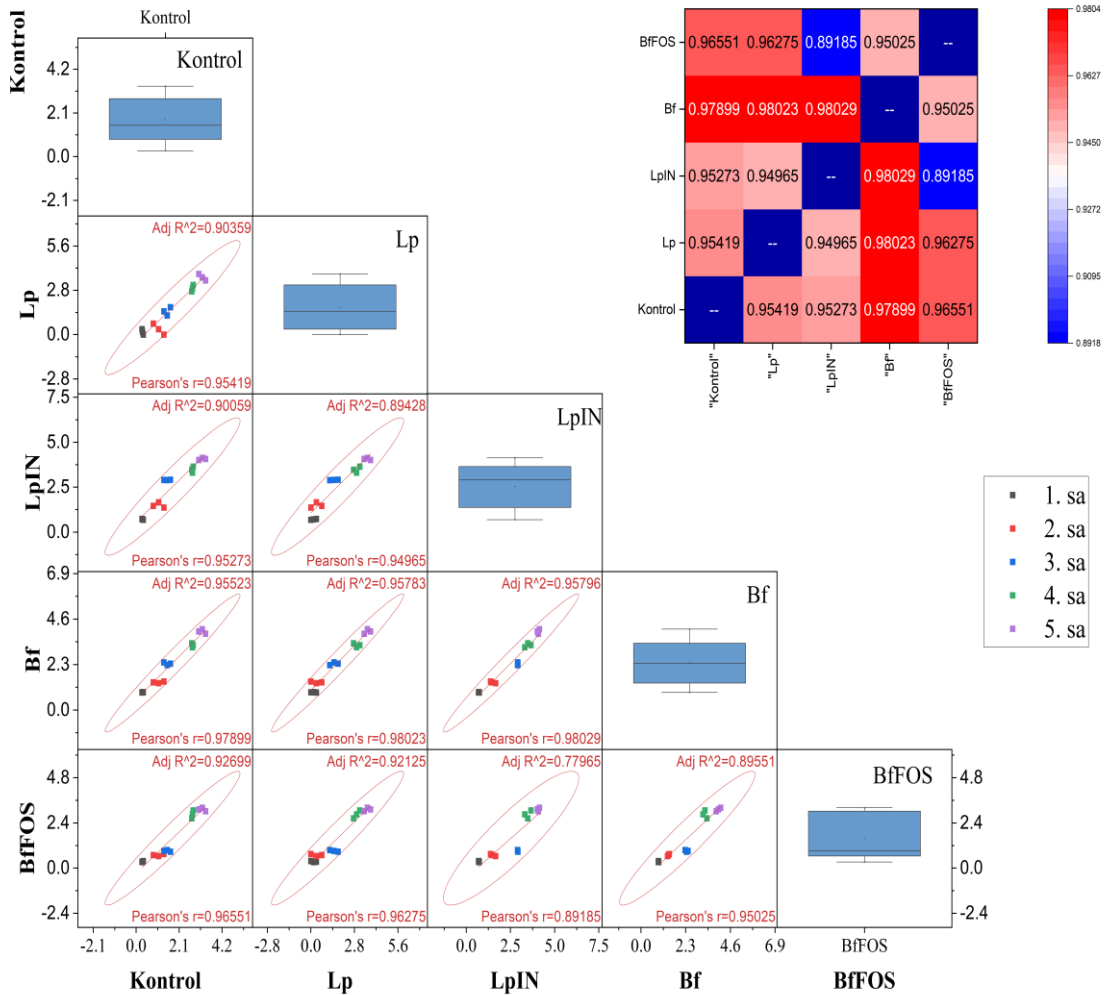
Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Bir malzemenin opaklığı, malzemedan ne kadar ışık geçtiğinin bir göstergesi olup yüksek opaklık değerleri, malzemedan daha az miktarda ışık geçmesine neden olmaktadır (Biswas ve ark., 2018). Film örneklerinde şeffaflık ışığın saçılımı değeriyle elde edilen opaklığın az olması ile ilişkilidir (Ebrahimi ve ark., 2018). Opaklık değerleri incelendiğinde, probiyotik hücrelerin ve prebiyotik eklenmesinin, kontrol filmine kıyasla yenilebilir filmlerin şeffaflığında (düşük opaklık değerinde) genel olarak önemli bir artışa ($p < 0,05$) neden olduğu görülmektedir. Prebiyotik ilavesinin ise Lp ve Bf filmlerine nazaran opaklığı düşürdüğü sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.1). Bu durumun sebebi, literatürde mevcut diğer sonuçlarla (Ebrahimi ve ark., 2018; Kanmani ve Lim, 2013) da uyumlu olarak filmlere yapılan ikamelerin (probiyotik, prebiyotik) cinsi ve derecesinin ışığın saçılımını artırıp azaltması ile örnekten geçen ışık miktarının arttırması ya da azaltmasıyla ilişkili olmasıdır.

4.1.3. Film örneklerinin su tutma kapasitesi

Film örneklerinin su tutma kapasitesi sonuçları Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Buna göre, çalışmamız sonunda Kontrol, Lp, LpIN, Bf ve BfFOS örnekleri için sırasıyla 3,23±0,16; 3,63±0,20; 4,07±0,06; 3,98±0,11 ve 3,12±0,09 şeklinde bulunmuştur. Kontrolle kıyasla Lp, LpIN ve Bf örneklerinin su tutma kapasiteleri arasındaki fark anlamlı iken ($p < 0,05$), BfFOS film örneği ile Kontrol filminin nem emilim değerleri arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunmamaktadır. Sonuçlar incelendiğinde, CMC filminin nem emiliminin filmin hidrofilik yapısı sebebiyle genel olarak arttığı, filmlere yapılan ikamelerin ise yenilebilir

filmlerin nem emilimini de nispeten artırdığı söylenebilmektedir. Benzer şekilde Ebrahimi ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, CMC filmlere probiyotiklerin eklenmesiyle su tutma kapasitesinin, kontrole kıyasla % 50'ye kadar arttığını belirtmiştir. Biswas ve ark. (2018) CMC filmlerle ilgili yaptıkları çalışmalarında, su tutma kapasitesindeki artış ve azalışları, filmlerin sentezlendiği söz konusu polimere, kullanılan gliserol seviyesine, sentez için kullanılan katkı maddelerinin niteliğine ve miktarına bağlamışlardır. Aynı şekilde Li ve ark. (2020), CMC-Niştasta filmine eklenen farklı LAB'ların (*P. pentosaceus* ve *Lb. plantarum*) su tutma kapasitesi değerleri üzerinde farklı etkiye sebep olduğunu ve bunun filme dahil edilen polimerin doğasına bağlı bir durum olduğunu ifade etmiştir.



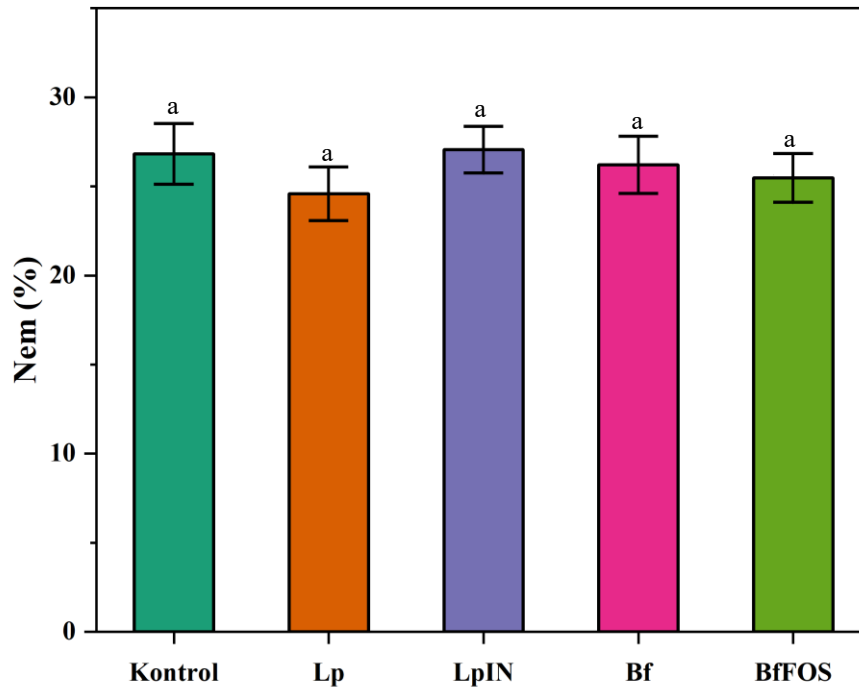
Şekil 4.2. Film örneklerinin su tutma kapasiteleri

Bir filmin nem geçirme özelliği, gıda ambalajının uygunluğundaki en önemli faktörlerden biri olup gıdaya bağlı olarak, film ile gıdayı çevreleyen atmosfer arasındaki nem

transferini önleyebilmeli veya en azından azaltabilmelidir (Dashipour ve ark., 2015). Gıdadaki su aktivitesi değerinin düşürülmesi ya da belirli bir seviyede tutulmasının, olası gıda bozulmalarının (mikrobiyal, enzimatik vb.) önüne geçilmesi açısından kullanılan yöntemlerden biri olduğu bilinmektedir. Su aktivitesi değeri, gıdada enzimatik bozulmalar açısından tek başına yeterli bir parametre olmasa da mikrobiyal kaynaklı gıda bozulmalarının temel etmenlerinin başında gelmektedir (Beuchat, 1983; Neri ve ark., 2010). Bu çalışmada, başlangıç ile kıyaslandığında yapılan deney sonunda en az nem tutma özelliğine sahip film örneğinin BfFOS, en yüksek nem tutma özelliğine sahip film örneğinin ise LpIN olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, BfFOS ile kaplı gıda örneklerinde mikrobiyal ve/veya enzimatik bozulmaların azaltılmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde MC-Niştasta bazlı filmlerle yapılan bir çalışmada düşük nem içeriği, düşük şişme ve su tutma kapasitesinin filmin mikrobiyal bozulmasını önleyebileceği bildirilmiştir (Li ve ark., 2020).

4.1.4. Film örneklerinin nem içeriği

Filmlerdeki nem içeriğinin, probiyotik canlılığı korunmada etkili olduğu kadar filmlerin erime özelliğini de arttıran bir parametre olduğu bilinmektedir (Kanmani ve Lim, 2013). Sentezlenen filmlerin ortalama nem içeriklerine bakıldığında, Kontrol, Lp, LpIN, Bf ve BfFOS için bu değerler sırasıyla $26,83 \pm 1,39$; $24,58 \pm 1,51$; $27,06 \pm 1,30$; $26,21 \pm 1,61$ ve $25,48 \pm 1,37$ şeklinde bulunmuştur (Şekil 4.3). Bu durum, probiyotik ve prebiyotik ilavesinin örnekler arasında nem içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmadığı ($p > 0,05$) şeklinde değerlendirilmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde filmlerin nem içeriği değerleri arasında fark bulunmayan çalışmalar da mevcuttur (Ebrahimi ve ark., 2018; Soukoulis ve ark., 2014). Sonuçlar arasındaki farkın anlamsız olması, film örneklerinin probiyotik canlılığı muhafaza etme konusunda nem değerleri açısından eşit performansa sahip olduklarını düşündürmektedir.

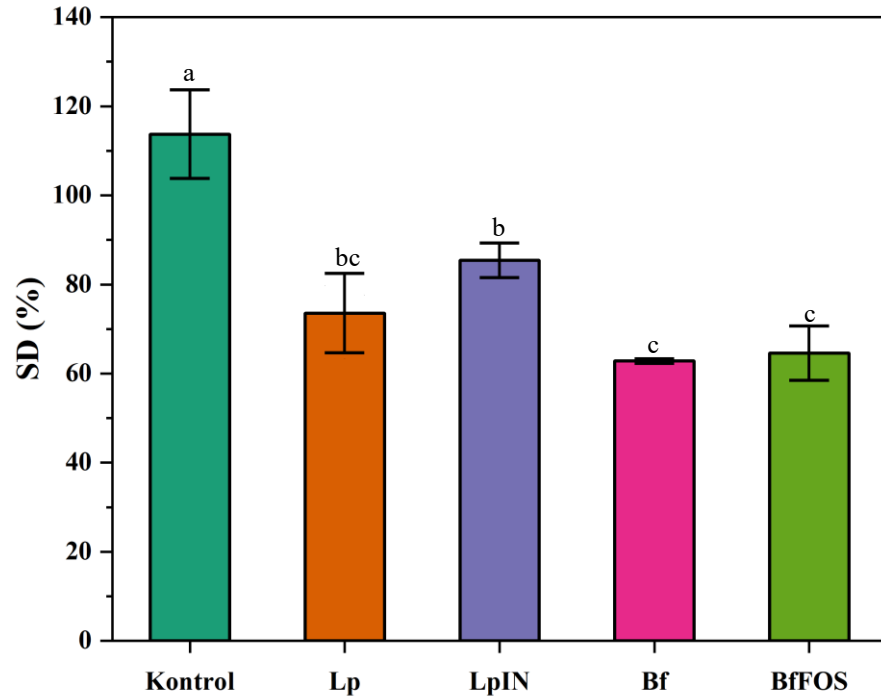


Şekil 4.3. Film örneklerinin nem içerikleri

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Farklı küçük harfler değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

4.1.5. Film örneklerinin şişme derecesi

Film örneklerinin şişme derecesi Kontrol, Lp, LpIN, Bf ve BfFOS örnekleri için sırasıyla, $113,75 \pm 9,94$; $73,58 \pm 8,92$; $85,45 \pm 3,88$; $62,82 \pm 0,53$; $64,59 \pm 6,07$ şeklinde belirlenmiştir (Şekil 4.4). Örneklerin şişme derecesi bir takım faktörlere bağlı olup örnekler arasında değişkenlik göstermiştir. Hidrojelin sudaki şişme kapasitesi, CMC hidrojelinin jel içeriğinin artmasıyla azalmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, filme yapılan ikamelerin filmin şişme derecesini önemli ölçüde (Bf filmde maksimum % 44,77) azalttığı sonucuna varılmıştır. Bu durumun nedeni, yapılan ikamelerin CMC hidrojelinin çapraz bağlanma derecesini artırmasından kaynaklanıyor olabilir (Nan ve ark., 2019). Kuvvetli asitlik, kuvvetli baziklik, az miktarda inorganik tuz ve düşük sıcaklık gibi etmenlerin de jel filmlerin şişme oranını düşürebildiği bilinmektedir (Liu ve ark., 2002).



Şekil 4.4. Film örneklerinin şişme derecesi

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Farklı küçük harfler değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

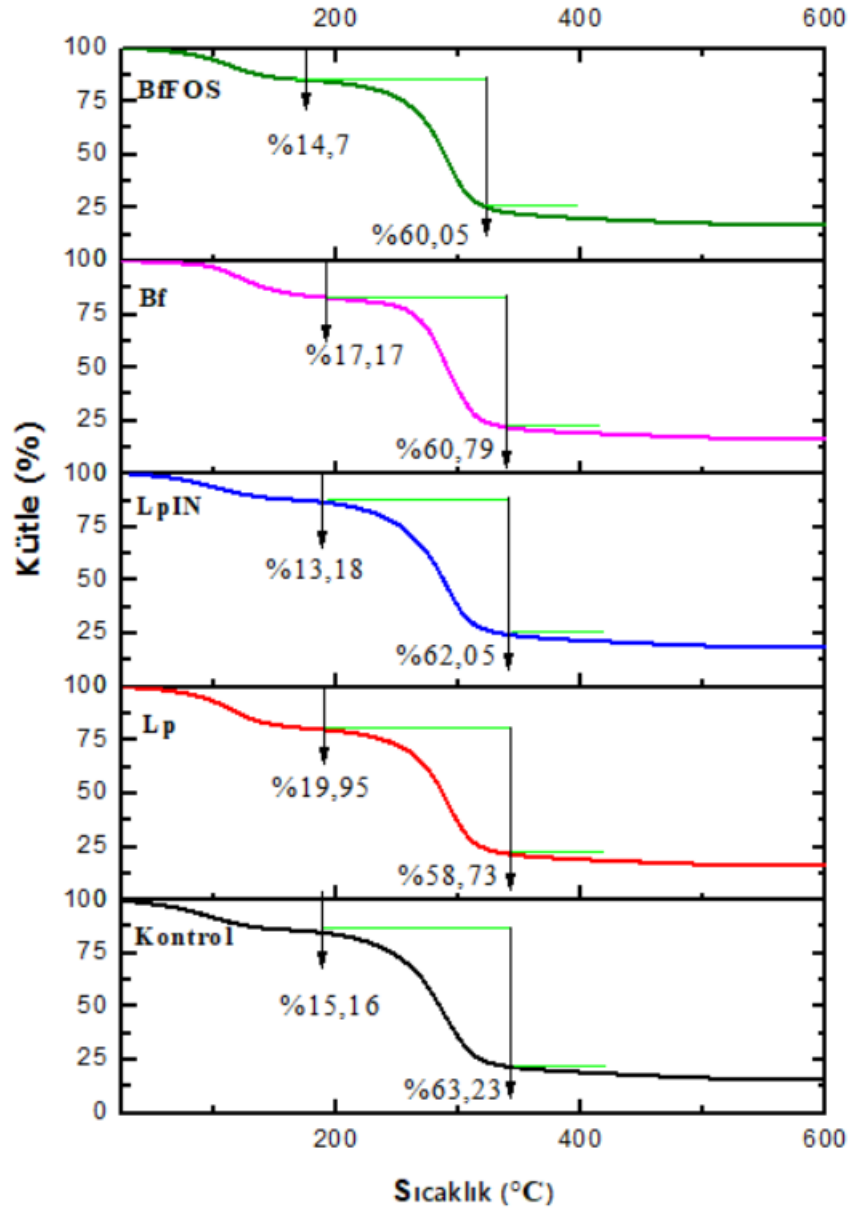
Buradan yola çıkılarak, film örneklerine probiyotik (*Lb. plantarum* ve *B. animalis*) ve prebiyotik ilavesinin, sonrasında filmlerin 4°C gibi düşük sıcaklıkta depolanması gibi faktörlerin film şişme derecesini önemli ölçüde düşürdüğü söylenebilmektedir. Elde edilen sonuçlar filmlerin su tutma özellikleri ile birlikte ele alındığında, en az su tutma özelliğine sahip BfFOS filmleri benzer şekilde en az şişme derecesine sahip örneklerden biri olmuştur. Bu durum, filmlerin şişme derecesinin filmlerin su tutma kapasitesi ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir.

4.1.6. Film örneklerinin termal özellikleri

Termogravimetrik Analiz (TGA), malzemelerin termal kararlılığını değerlendirmek için kullanılan bir endekstir (Mei ve ark., 2021). Termogravimetrik eğriler (Şekil 4.5) film örneklerinin iki aşamalı bir kütle kaybına uğradığını göstermektedir. Birinci aşamadaki kaybın yüksek su içeriği nedeniyle, su molekülleri ve polimer zincirleri arasında oluşan hidrojen bağlarından dolayı muhtemelen su molekülleri

ve hidrofilik OH ve COONa grupları arasında gerçekleştiğini düşündürmektedir (Lid, 2009).

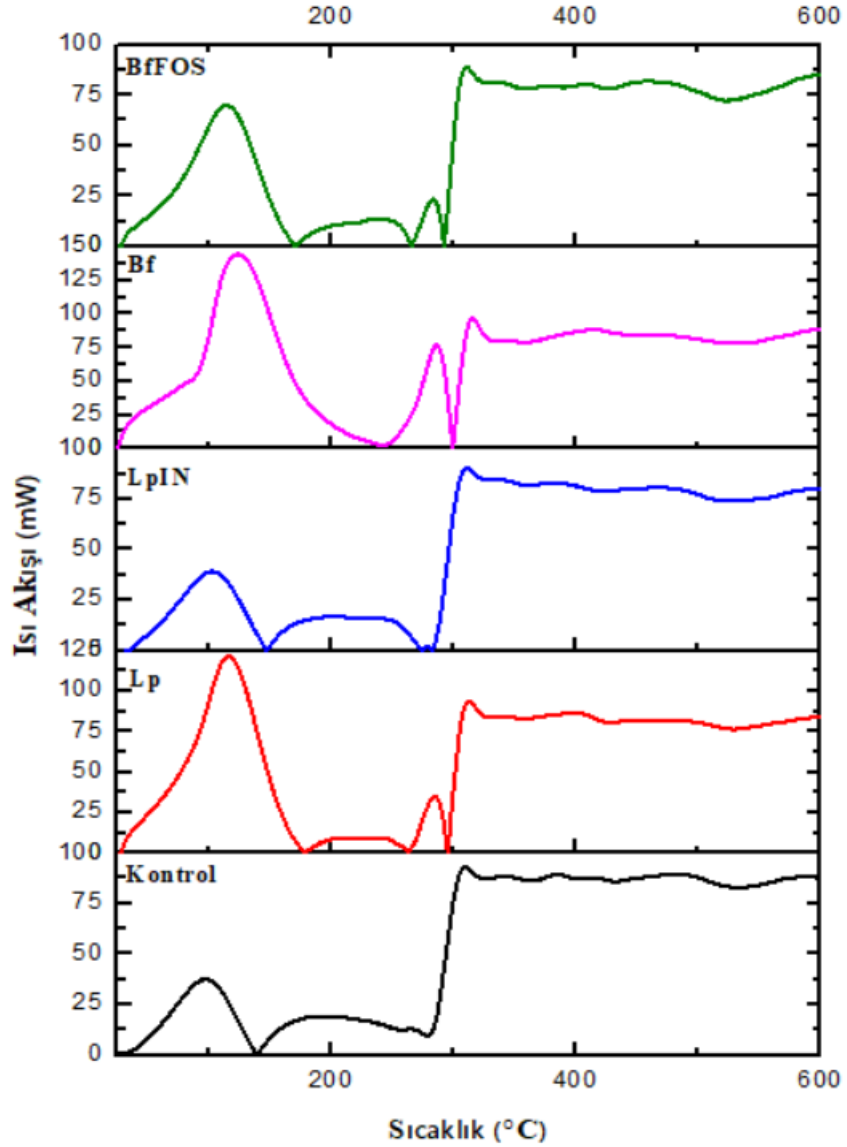
Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda; Kontrol, Lp, LpIN, Bf ve BfFOS örnekleri için kütle kayıpları sırasıyla % 15,16; % 19,95; % 13,18; % 17,17 ve % 14,7 şeklindedir (Şekil 4.5). Bu sonuçlar incelendiğinde, prebiyotik eklenmiş film örneklerinin (LpIN ve BfFOS) başlangıç kütle kayıplarının diğer film örneklerinden daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durumun sebebinin, filmlere yapılan inülin ve fruktooligosakkarit gibi karbonhidrat takviyelerinin film örneklerinde nem kaynaklı kütle kaybını azaltmasından ileri geldiği söylenebilir. Öte yandan CMC esaslı filmlerin termal bozulmalarının yan zincirlerinin karbonil grubunun bozulmasından ileri geldiği bilinmektedir (Tran ve ark., 2023). Buna bağlı olarak, film örneklerinin tamamen bozunum sıcaklıklarının ise 300 ve 450 °C aralığında olduğu görülmektedir. CMC'de, büyük bozunma 320 °C'de başladı ve 154 °C'den 202 °C'ye kadar olan aralıkta nem kaybına bağlı olarak meydana gelen küçük ağırlık kaybı söz konusudur. 335 °C'den sonraki bozunmanın ise piroliz reaksiyonu ve zincir kopmasından ileri geldiği düşünülmektedir (Kumar ve ark., 2020). Filmlere CMC eklenmesi karışım filmlerinin termal kararlılığını artırdığı bilinmektedir (Hu ve ark., 2016; Yaradoddi ve ark., 2020). Bulgularımızın, XRD sonuçlarıyla da uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.5. Film örneklerinin TGA eğrileri

DSC analizi, sentezlenen filmlerin termal geçişlerini belirlemek ve film kristalinitesindeki olası değişiklikleri değerlendirmek için gerçekleştirildi. CMC filmlerinin DSC termogramları şekildeki gibidir (Şekil 4.6). Çizelge 4.2’de ise film örneklerine ait grafiklerden elde edilen camsı geçiş ve erime sıcaklık değerleri verilmiştir. Buna göre, filmlere yapılan ikamelerin her iki sıcaklık değerlerini arttırdığı ve bunun beraberinde filmlerin genel olarak termal kararlılığını da arttırdığı söylenebilmektedir. Ayrıca, erime sıcaklıklarının prebiyotik ilaveli probiyotik içerikli filmlere (LpIN ve BfOS) nazaran filmlerde yalnızca probiyotik içerenlere (Lp ve BF) göre daha düşük

olması prebiyotik ilavesinin erime sıcaklığını düşürdüğünün bir göstergesidir. Yapılan bir çalışmada da benzer şekilde, inülin ilavesinin CMC bazlı prebiyotik filmlerin erime sıcaklıklarında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur (Zabihollahi ve ark., 2020). Farklı prebiyotik içeriklerinin de camsı geçiş sıcaklığında farklılıklara neden olduğu da görülmektedir. Bu durumun nedeninin filmlere ikame edilen bakteri farklılığından ileri geldiği düşünülmektedir.



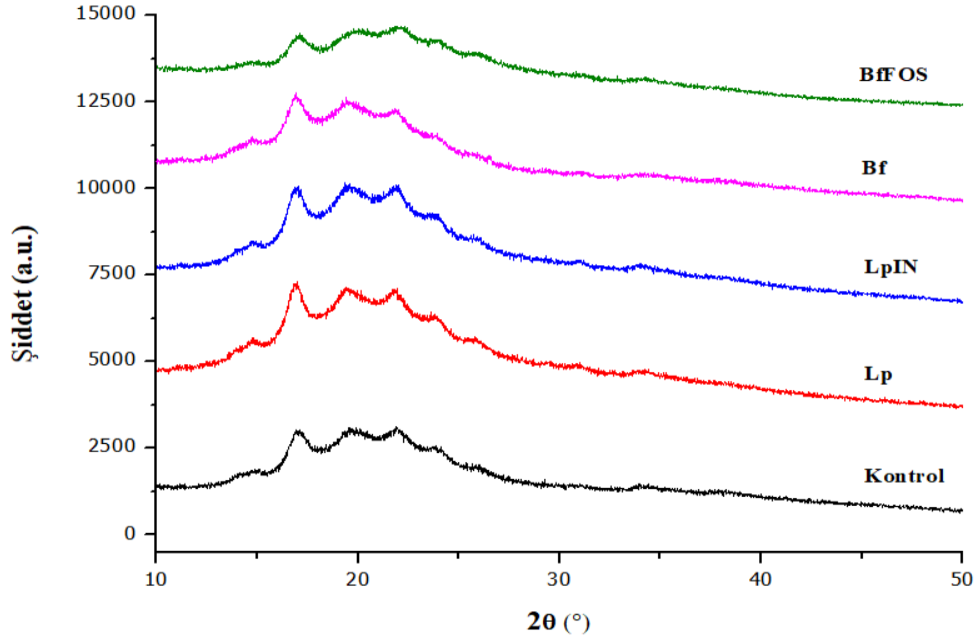
Şekil 4.6. Film örneklerinin DSC grafikleri

Çizelge 4.2. Film örneklerinin termal özellikleri

Örnek	Camsı geçiş sıcaklığı (°C)	Erime Sıcaklığı (°C)
Kontrol	39,29	267,08
Lp	48,11	285,83
LpIN	48,06	280,02
Bf	86,77	286,84
BfFOS	70,13	283,38

4.1.7. Film örneklerinin XRD analiz sonuçları

Filmlerin karakterizasyon işlemlerinde maddenin kimliği ve kristal yapısının analizi için X-ışını difraksiyonu (XRD) en yaygın kullanılan cihazlardandır (Erci, 2018). Çalışmamızda yapılan analizde, film örneklerine ait pikler 2 theta açısının 17°, 19,5°, 21,8° ve 23,8° olduğu noktalarda yoğunluk göstermiştir (Şekil 4.7). Kontrol ile kıyaslandığında, film örneklerinin genel olarak bu noktalarda pik verdiği ve yarı kristalin yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar yapılan diğer çalışmalar (Ghasemi ve ark., 2022; Zabihollahi ve ark., 2020) ile uyumludur. Ancak, CMC-nişasta film malzemesinin büyük ölçüde amorf yapıda olduğu da görülmektedir (Qin ve ark., 2023). Kristallikteki değişimin, farklı malzemelerin ikamesi ve bunların ikame derecesindeki artış/azalış ile ilgili olduğu bilinmektedir (Abdulhameed ve ark., 2019). Burada, genel itibariyle amorf yapı eğrileri hakim olsa da probiyotik ve prebiyotik ikamelerinin kristaliteyi nispeten bir miktar arttırdığı söylenebilmektedir. Zabihollahi ve ark. (2020) da çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzer şekilde, CMC esaslı filmlere inülin ilavesinin kristaliteyi arttırdığını belirtmiştir.



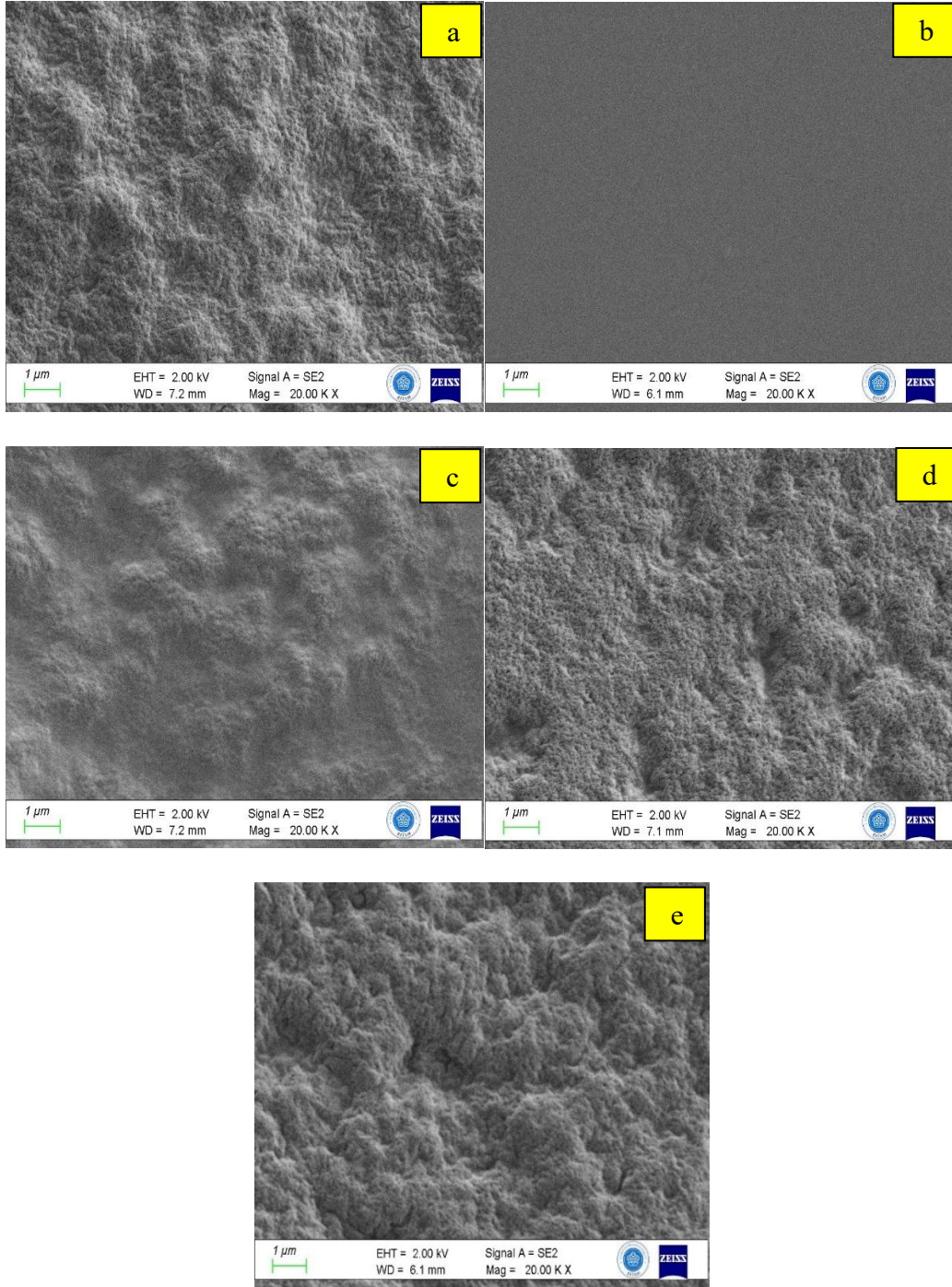
Şekil 4.7. Film örneklerinin XRD spektrumları

4.1.8. Film örneklerinin mikroyapı (FE-SEM) ve EDS analiz sonuçları

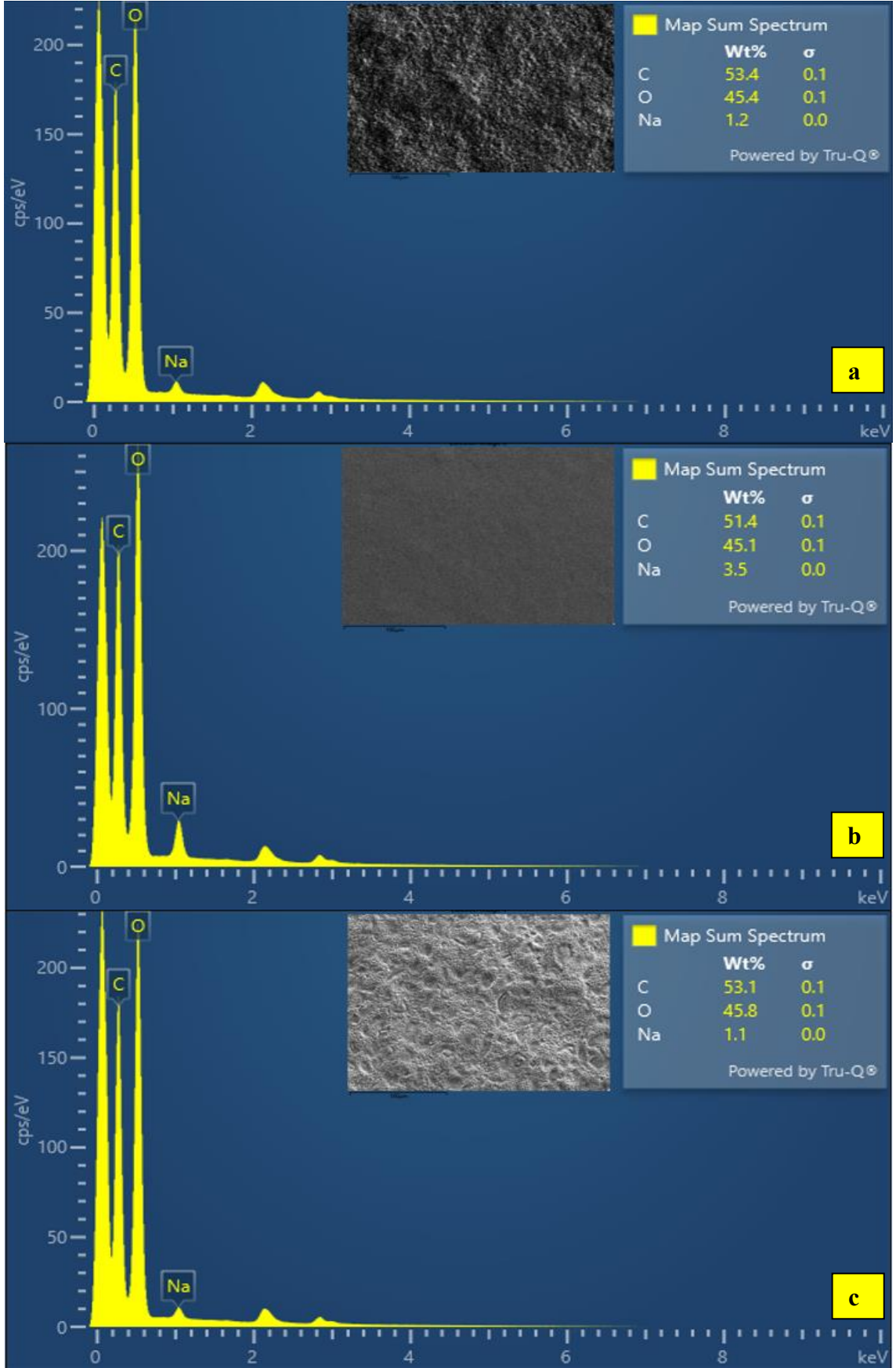
Kompozit filmlerin mikro yapı özellikleri FE-SEM analizi ile değerlendirildi (Şekil 4.8). Lp film örneğinin yüzey kesit görüntüsü diğer örneklere kıyasla daha düşük gözenek ve düzensizliklere sahip daha pürüzsüz bir yüzey gösterdi. Bu bağlamda, Lp filminin yüzeyi diğer örneklere nispeten pürüzsüzdü ve yapı yoğundu. Bu durum, CMC matrisinin kompaktlığının ve yoğunluğunun artması, nişasta/CMC/*Lb. plantarum* arasında meydana gelen iyi uyumluluk ve uygun etkileşimlerle açıklanabilir. Genel olarak görülen pürüzsüzlüklerin ise, eksik nişasta jelatinizasyonundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca literatür incelendiğinde, probiyotikler eklendikten sonra, CMC-nişasta filminin yüzey morfolojisinin pürüzlülüğünün genel olarak artması beklenen bir durumdur (Li ve ark., 2020). Film örneklerinin yüzeyinde hiçbir probiyotik bakteri hücrelerinin gözlemlenmemesi ise bakteri hücrelerinin, kompakt ve tekdüze bir film yapısının oluşumunu desteklemesi ile açıklanabileceği bildirilmiştir (Zabihollahi ve ark., 2020). Her ne kadar tüm durumlarda probiyotik yenilebilir filmlerin yüzeyinde bakteri hücresi tespit edilmemiş olsa da, filmlerdeki yoğunluk yalnızca CMC-Nişastadan oluşanlara kıyasla simbiyotik yenilebilir filmlerdeki bakteri hücrelerinin daha fazla kaplandığını (ve dolayısıyla daha iyi bariyer özellikleri) ortaya koyduğu söylenebilir. Ancak, film örneklerinin tüm durumlarda, prebiyotiklerin CMC ile iyi bir uyumluluk ve

karışabilirlik (muhtemelen hidrojen bağı etkileşimleri yoluyla) gösterdiği, yer yer agregasyon fenomeni gösteren durumlar olsa da, biyopolimerler içindeki faz uyumluluğunu tam olarak ortaya koyabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu, çalışmanın birincil amacının bu olmaması sebebiyle bu çalışmaya dahil edilmediği belirtilmelidir.

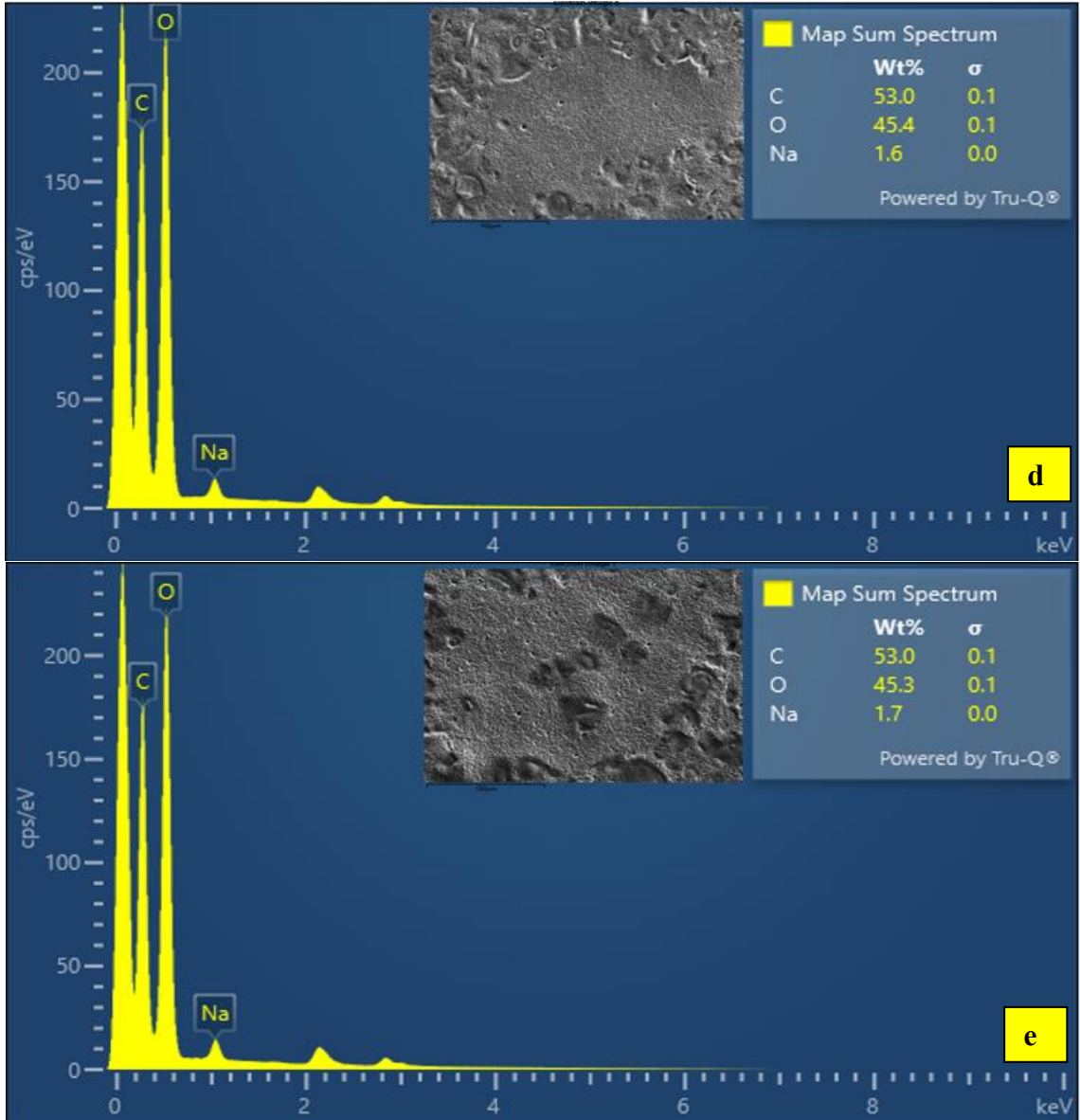
CMC kristalin ve lif tipi morfolojiyi gösterirken genel olarak homojen görümlü sonuçlar verir. EDX spektrumlarında (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10), CMC-nişasta kompozisyonu, yalnızca CMC'den daha fazla karbon ve oksijen elementi içeriği sergilemesi bekleniyordu (Hu ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2020). Literatürle uyumlu olarak, C ve O elementlerinin tepe yoğunluğunun arttığı, bu durumun da CMC ve nişastanın başarılı bir şekilde karıştığının göstergesi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, EDX sonuçlarına göre tüm filmler için C, O ve Na moleküllerinin ortalama ağırlıkça yüzde oranları sırasıyla $52,78 \pm 0,79$; $45,4 \pm 0,26$ ve $1,82 \pm 0,97$ şeklinde bulunmuştur. Na elementinin varlığı ise CMC polimerinin yanı sıra bakterilerin FTS ile yıkama işlemlerinden gelen dilüsyon sıvısı kaynaklı bulaşma ile ilişkilidir.



Şekil 4.8. Film örneklerinin Fe-SEM görüntüleri (a: Kontrol, b: Lp, c: LpIN, d: Bf, e: BfFOS)



Şekil 4.9. Film örneklerinin EDS görüntüleri (a: Kontrol, b: Lp, c: LpIN)

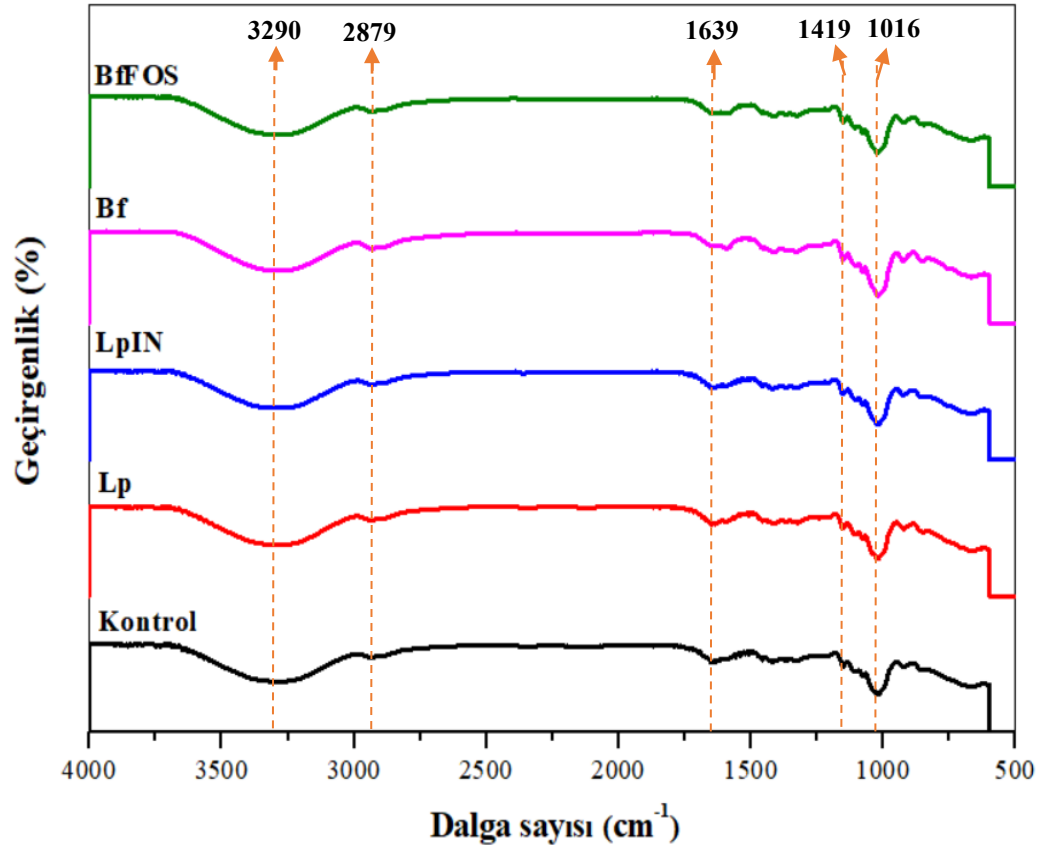


Şekil 4.10. Film örneklerinin EDS görüntüleri devamı (d: Bf, e: BfFOS)

4.1.9. Film örneklerinin FTIR spektrumları

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), numunenin kimyasal fonksiyonel gruplarının titreşim özelliklerini kızıl ötesi (IR) ışık yardımıyla tespit eden kimyasal analitik bir yöntemdir (Baker ve ark., 2014). Bu çalışmada FTIR analizi, CMC-nişasta filmi bileşenleri ile probiyotik ve prebiyotik hücreler arasındaki etkileşimi belirlemek amacıyla gerçekleştirildi. Örneklerin FTIR spektrumlarına (Şekil 4.11.) bakıldığında, 3290 cm^{-1} 'deki geniş emilim bandının OH grubunun gerilme frekansı olup molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağının oluşumuyla sonuçlanır. Diğer gerilme bandı da C-H ve CH_2 grubunu temsil eden $3000\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ bandında 2879 cm^{-1} tepe

noktasında bulunmuştur. 1635 ve 1410 cm^{-1} 'deki dalga sayıları arasındaki titreşimler CMC'deki asimetric ve simetric karboksilat gruplarını temsil etmektedir. 1000–1300 cm^{-1} bant aralığı, özellikle 1016 cm^{-1} tepe noktası C–O gerilme titreşimini temsil eder. Buna ilaveten, 1535–1640 cm^{-1} bant aralığındaki 1639 cm^{-1} tepe noktası, katı karboksilat grubunun –C=O ve –COO içerdiğini gösterir. 1420–1130 cm^{-1} bantındaki 1419 cm^{-1} kaynaklı titreşim ise –CH bükülmesini gösterir. Örnek gruplarının spektrumları arasında önemli farklılıklar bulunmamakla birlikte bulguların literatürde mevcut CMC ve/veya nişasta esaslı kompozit filmlerle yapılmış bazı çalışmalarla (Mei ve ark., 2021; Tran ve ark., 2023; Yao ve ark., 2022; Zabihollahi ve ark., 2020) da benzer olduğu sonucuna varılmıştır. Filmlere probiyotik bakteri ve prebiyotik dahil edilmesi, CMC filminin spektrumlarında piklerin alıkonma sürelerinde azalması sonucunda piklerde daralma gibi bazı ufak değişikliklere neden oldu. Ancak, bunun dışında örneklerin FTIR spektrumları genel olarak aynı davranışı sergilemektedir. Çalışmamızla benzer sonuçlar elde eden Li ve ark. (2020), nişastanın hidroksil grubu ile CMC'nin karboksil grubu arasında moleküller arası bir etkileşim gözlemlendiğini ve bu durumun filmlerde daha kompakt ve sert bir yapının oluşturulmasına yardımcı olduğunu söylemiştir. Ayrıca, probiyotik eklenmesinden sonra benzer spektrumların gözlenmesinin CMC-Nişasta matrisinin kimyasal yapısının değişmediğinin bir sonucu olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 4.11. Film örneklerinin FTIR spektrumları

4.1.10. Film örneklerinin probiyotik tutma kapasitesi

Film örneklerinde kurutma sonrasında her iki probiyotik bakteri türü için yapılan sayımlarda canlılık depolamanın 1., 3. ve 5. günlerinde tayin edilmiştir. Bulunan probiyotik canlılık değerleri Log kob/g şeklinde Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre, depolamanın birinci gününde Lp örneklerinde probiyotik canlılıkta başlangıca kıyasla yaklaşık 4 logaritmik birim bir azalma gözlemlenirken, probiyotik ikameli LpIN örneklerinde ise yaklaşık 3 logaritmik birim azalma söz konusudur. Burada, probiyotik ilavesinin probiyotik canlılığı daha fazla koruduğundan söz edilebilmektedir (Bambace ve ark., 2019; Soukoulis ve ark., 2014). Depolamanın üçüncü gününe gelindiğinde, başlangıca kıyasla her iki film örneğinde de yaklaşık 5 logaritmik birim bir azalma varken, 5. gün sonunda probiyotik canlılık görülmemiştir. Ancak, Bf filminde Bifidobakteri sayısında depolamanın birinci gününde başlangıca göre yaklaşık 4 logaritmik ünite azalma varken, bu sayı probiyotik katkılı BfFOS film örneği için yaklaşık 5 logaritmik birim azalma şeklinde olmuştur. Bunun sebebinin, *B. animalis* bakterisinin

zorunlu anaerob olmasının yanı sıra anaerobik şartların filmlerin kurutulması ve muhafazası esnasında sağlanamaması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.3. Film örneklerinde depolama süresince probiyotik canlılık (Log kob/g)

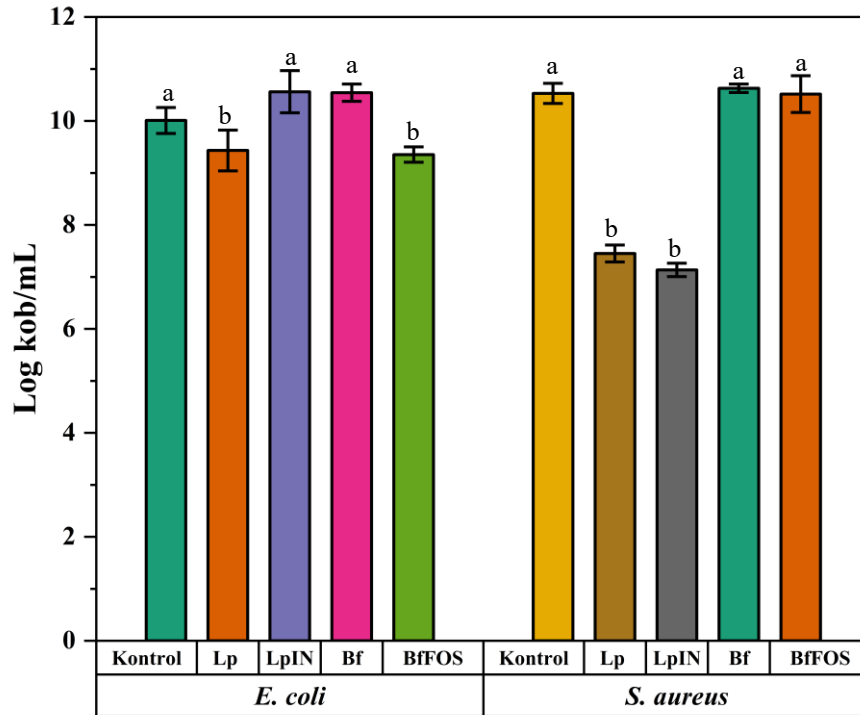
Örnek	0. gün	1. gün	3. gün	5. gün
Lp	10,54±0,095 ^{Aa}	6,16±0,23 ^{Ab}	5,43±0,10 ^{Ac}	0
LpIN	10,54±0,095 ^{Aa}	7,37±0,04 ^{Bb}	4,75±0,21 ^{Bc}	0
Bf	9,50±0,71 ^{Ba}	5,19±0,16 ^{Cb}	4,56±0,37 ^{Bb}	0
BfFOS	9,50±0,71 ^{Ba}	4,54±0,65 ^{Db}	0	0

Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS içeren film örnekleri. Farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir. Aynı satırda farklı küçük harfler aynı örneğe ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

4.1.11. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite analiz sonuçları

Sentezlenen filmlerin antibakteriyel etkinlikleri, *Lb. plantarum* (10^9 kob/mL) ve Bifidobakteri (10^8 kob/mL) yüklü film çözeltileri için hem gram pozitif (*S. aureus* ATCC 25923) hem de gram negatif (*E. coli* ATCC 8739) bakterilere karşı araştırılmıştır.

Numune ile sıvı bakteri ortamı arasındaki 16 saatlik temastan sonra *S. aureus* ve *E. coli* bakterisinin filmlere karşı sayılarındaki değişim Şekil 4.12'de gösterildiği gibidir. Buna göre, Kontrol filmlerinde *E. coli* sayısı $10,05\pm 0,25$ kob/mL'ye ulaşmıştır. *E. coli* için bakteriyel redüksiyon oranı Lp ve BfFOS filmleri için bir logaritmik birimden az olup bu filmlerde elde edilen *E. coli* sayıları istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$). Test edilen diğer filmlerin (LpIN ve Bf) ise *E. coli*'ye karşı Kontrol filmle aralarında antibakteriyel etkinlik konusunda herhangi bir fark bulunmadığı görülmektedir. Kontrol film örneğinde *S. aureus* sayısı $10,56\pm 0,27$ logaritmik birim iken bu sayı Lp ve LpIN filmlerinde sırasıyla $3,12\pm 0,16$ ve $3,43\pm 0,13$ Log kob/mL azalmıştır. Lp ve LpIN film örneklerinin bakteri sayısını indirgeme miktarlarının diğer filmlerle elde edilen değerler arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğu sonucuna varılmıştır. Test edilen diğer filmlerdeki *S. aureus* sayısının Kontrol filmde elde edilen sayıya kıyasla bir logaritmik birimden daha az bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bf ve BfFOS filmlerinde elde edilen bu azalmaların ise istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur.



Şekil 4.12. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite test sonuçları

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* spp. laktik ve asetik asitler (majör metabolitler), benzoik asit, 3-fenil laktik asit, D-glukuronik asit, 3-fenilpropanoik asit, p-kumarik asit, 2-hidroksi-benzoik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal özelliklere sahip değerli bileşikler üretir. Asitler, mikroorganizmaların hücre zarına yayıldıklarında, sitoplazmanın pH değerlerini düşürür ve böylece mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini engelleyerek azalan pH değerleri ile mikroorganizmaların büyümesini doğrudan engellediği bilinmektedir (Cizeikiene ve Jagelaviciute, 2021).

4.1.12. Film örneklerinin sindirim simülasyonu analiz sonuçları

Film örneklerinin, simüle edilmiş mide ortamında (SGF) ve kolon sisteminde (SIF) uğradığı değişimler işlem sonunda sıvı süspansiyonlarından alınan örneklerle belirlenen canlı probiyotik bakteri sayımları ile incelenmiştir. Bu analizde, fakültatif anaerob olması sebebi ile literatürde sıklıkla kullanılan *Lb. plantarum* bakterisinin sindirim sistemindeki akıbeti incelenebilmiştir. Çizelge 4.4 film örneklerinin iki

basamaklı sindirimi sonucunda saptanan probiyotik bakteri canlılığını göstermektedir. Buna göre başlangıçta $8,46 \pm 0,02$ log kob/g olan *Lb. plantarum* sayısına sahip Lp filmlerinde sindirim sonunda filmlerde probiyotik canlılık saptanmazken, LpIN filmlerinde sindirim sonrası probiyotik canlı sayısının $3,71 \pm 1,32$ log kob/g olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçlar incelediğinde, filmlere prebiyotik ilavesinin sindirim sisteminde probiyotik bakteri canlılığının korumasında etkin olduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmada filmlere % 2 inülin ikamesinin *Lb. plantarum* suşunun sindirim sonrası hayatta kalma oranını % 43,85 koruduğu görülmektedir. Prebiyotiklerin kullanımı, probiyotiklerin gıdalardaki hücre canlılığını ve metabolik aktivitesini artırarak son üründe ve gastrointestinal sistemde probiyotiklerin hayatta kalmasını iyileştirme potansiyelleri vardır (Ceylan ve Atasoy, 2023). Bu durum aynı zamanda, *Lb. plantarum* destekli CMC- nişasta yenilebilir filmlerinin fonksiyonel özelliğini destekleyen bir unsurdur.

Çizelge 4.4. Film örneklerinde sindirim süresince probiyotik canlılık (Log kob/g)

Örnek	Sindirim öncesi filmlere eklenen	Sindirim sonrası filmlerden elde edilen
Lp	$8,46 \pm 0,02$	1>
LpIN	$8,46 \pm 0,02$	$3,71 \pm 1,32$
Bf	NA	NA
BfFOS	NA	NA

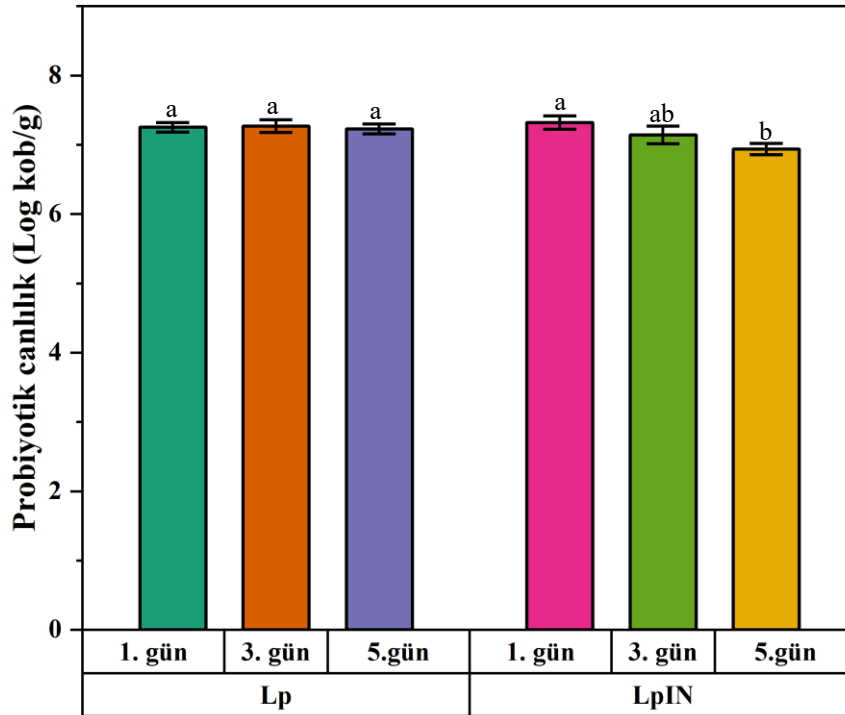
Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS içeren film örnekleri, NA: Analize alınmadı.

Yenilebilir filmlerde ve kaplamalarda prebiyotiklerin varlığının, probiyotiklerin canlılığının iyileştirilmesini ve devamlılığını olumlu yönde etkilediği bilinen bazı çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Bambace ve ark. (2019), sodyum aljinat kaplamasına inülin ve FOS (her prebiyotikten 80 g/kg çözelti) eklendiğinde *Lb. rhamnosus* CECT 8361'in canlılığının 21 günlük analiz boyunca $6,2$ log kob/g'ın üzerinde kaldığını belirtmişlerdir. *Lb. rhamnosus* GG canlılığı üzerine dört farklı prebiyotiğin (inülin, polidekstroz, glikoz-oligosakkaritler ve buğday dekstrini) etkisinin araştırıldığı jelatin bazlı filmlerle yapılan bir çalışmada ise, inülin depolama sırasında *Lb. rhamnosus* GG üzerindeki subletal etkileri kontrol etmede en etkili olanı şeklinde bulunsa da kullanılan tüm prebiyotiklerin yenilebilir filmlerdeki *Lb. rhamnosus* GG depolama stabilitesini iyileştirdiği bildirilmiştir (Soukoulis ve ark., 2014). Çalışmamızdan elde edilen bulgular da mevcut kaynakları benzer şekilde desteklemektedir.

4.2. Filmle Kaplanmış Gıda Örneklerinin Analiz Sonuçları

4.2.1. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Filmlerle (Kontrol, Lp, LpIN, Bf, BfFOS) kaplanan ve filmle kaplanmayan (Yb) yaban mersini örneklerindeki probiyotik canlılık, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te, küf-maya (YM) sayısındaki değişimler Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da, psikrofil bakteri (PSI) sayımı sonuçları ise Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterildiği gibidir. Yaklaşık 10 logaritmik birim probiyotik *Lb. plantarum* ilaveli Lp ve LpIN filmleri ile kaplanmış gıda örneklerinin 5 günlük depolamanın birinci, üçüncü ve beşinci günlerinde elde edilen sonuçlara göre (Şekil 4.13), probiyotik canlılığın genel olarak korunduğu maksimum 2,53 (LpIN 5. gün) minimum 2,15 (LpIN 1. gün) logaritmik birim azalma ile genel olarak canlılığın depolamanın sonunda yaklaşık 7 logaritmik birim ile sabit kaldığı görülmektedir. Bf ve BfFOS filmleri ile kaplanmış gıda örneklerinin beş günlük depolamasında elde edilen sonuçlara göre (Şekil 4.14), başlangıç probiyotik miktarı (9,5 logaritmik birim) ile kıyaslandığında depolamanın sonunda (5. gün) probiyotik canlılıktaki azalma bu filmler için sırasıyla % 62,30±1,41 ve % 66,24±2,18 olduğu görülmektedir. Depolamanın beşinci günü sonunda, Bf filmi ile kaplanmış yaban mersini örneklerinde probiyotik canlılık 3,58±0,13 Log kob/g iken BfFOS filmi ile kaplanmış gıda örneklerindeki probiyotik canlılık 3,21±0,21 Log kob/g olarak bulunmuştur. Prebiyotik eklenmiş filmlerin (LpIN ve BfFOS) beş günlük depolama sonunda başlangıça göre probiyotik canlılığı artırma konusunda herhangi bir etkisi görülme de FOS ikameli filmlerle kaplı örneklerde prebiyotiğin, depolamanın üçüncü gününde Bifidobakteri miktarında meydana gelen azalmayı beşinci gün sonunda arttırmaya katkıda bulunduğu görülmektedir. Gıdaya prebiyotik ilavesinin probiyotik canlılığı artırma ve korumada etkisi olduğu görülen çalışmalar olduğu gibi anlamlı bir etkisinin olmadığı çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Bambace ve arkadaşları, aljinat kaplamaya eklenen inülin ve oligofruktozun, 21 günlük buzdolabında saklama süresince taze yaban mersinlerinde *Lb. rhamnosus* canlılığını 6 Log kob/g'ın üzerinde tutarken, prebiyotik içermeyen örneklerdeki canlılığın yalnızca 7 gün boyunca bu seviyenin üzerinde kaldığı belirtilmiştir (Bambace ve ark., 2019). Bunun aksine, prebiyotiklerin (inülin veya oligofruktozun) *Lb. rhamnosus* canlılığı üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, 14 günlük soğuk depolama boyunca elmalara prebiyotik uygulandığında probiyotik canlılık üzerinde anlamlı bir etkisinin görülmediği bildirilmiştir (Röβle ve ark., 2010).

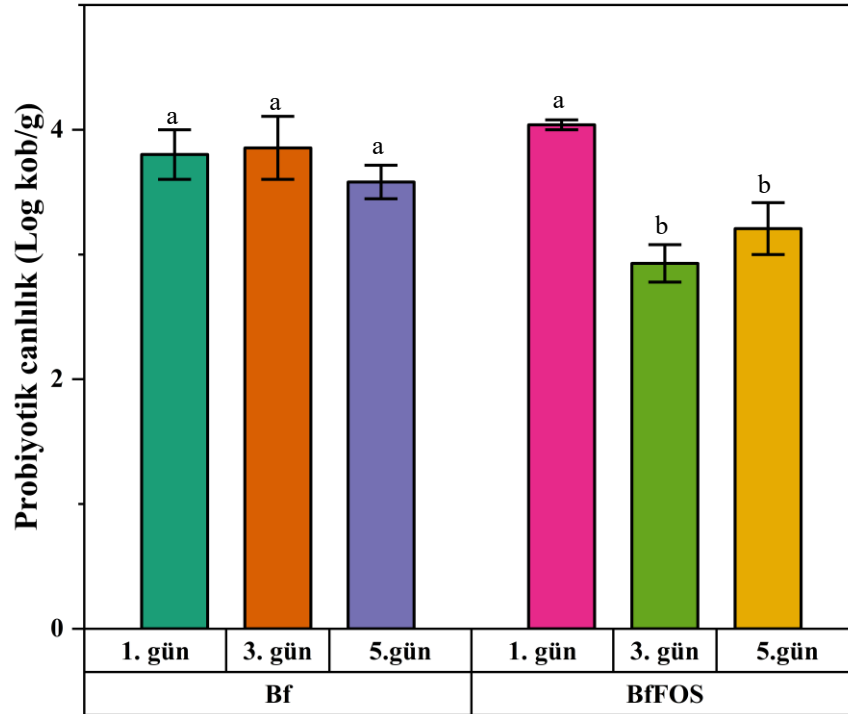


Şekil 4.13. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinde *Lb. plantarum* sayısındaki değişim

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin kaplanmış gıda. Farklı küçük harfler aynı örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmektedir.

Konjac zamkı ile kaplamasındaki *Lb. plantarum* suşlarının kivi dilimlerinin 4 °C'de 5 gün boyunca depolanması sırasındaki canlılığının incelendiği bir çalışmada probiyotik canlılığın 5 günlük depolamadan sonra yüksek bir seviyede ($7,1 \pm 0,03$ Log kob/g) kaldığı ve bunun da vücut kullanımı için yeterli miktarda (minimum eşik değeri 6 Log kob/g) olduğu sonucuna varılmıştır (Hashemi ve Jafarpour, 2021). Benzer şekilde, Khodaei ve Hamidi-Esfahani (2019) farklı oranlarda *Lb. plantarum* ($5,32 \times 10^{11}$; $2,92 \times 10^{13}$; $3,98 \times 10^{13}$; $5,76 \times 10^{13}$; $9,80 \times 10^{13}$ kob/mL) içeren CMC film çözeltileri ile kaplanmış çilek örneklerinin depolanması üzerine etkisini incelediği çalışmalarında, probiyotik canlı hücre sayılarının sabit ve genel olarak yüksek seviyelerde (> 6 Log kob/g) kaldığını bildirmiştir. Prebiyotik (oligofruktoz veya inülin) ve probiyotik kültür (*Lb. rhamnosus* veya *B. animalis* subsp. *lactis*) eklenerek hazırlanan sodyum aljinat filmlerle kaplanan taze elma dilimlerinde yapılan bir çalışmada, her iki probiyotüğün de 8 günlük depolamadan sonra üründe 9 Log kob/g'ın üzerinde kalmayı başardığı rapor

edilmiştir. Ancak, prebiyotik ilavesinin probiyotik canlılık üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (Alvarez ve ark., 2021).



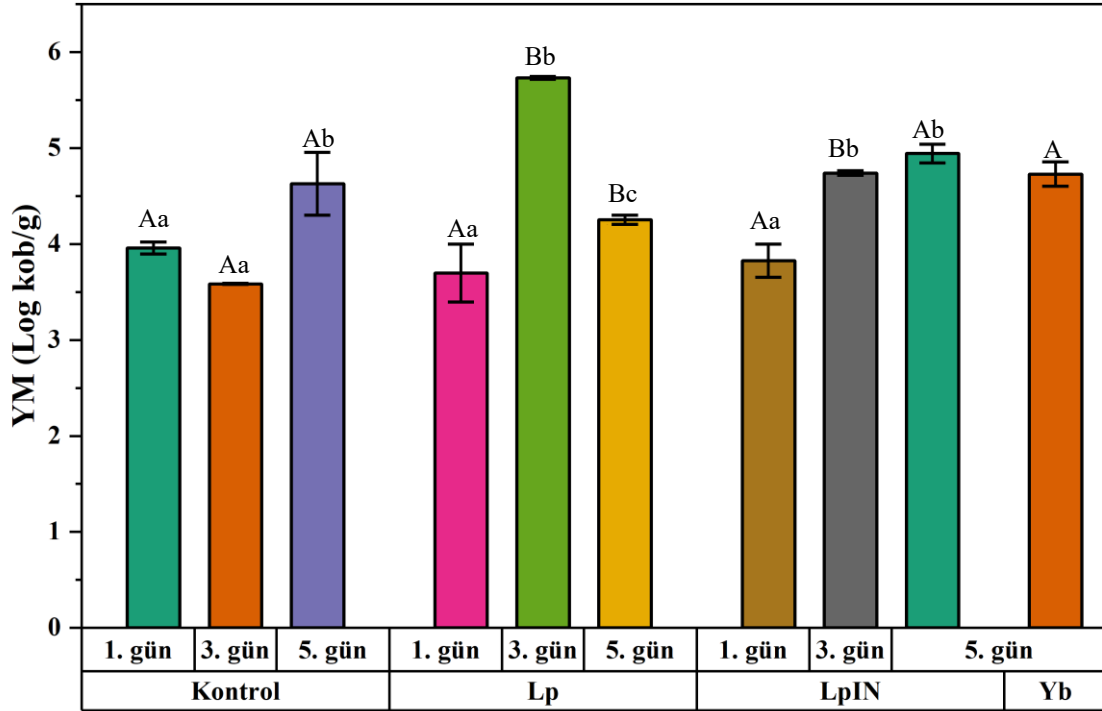
Şekil 4.14. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinde *B. animalis* sayısındaki değişim. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Bf: *B. animalis*, BfOS: *B. animalis*, % 2 FOS içeren film ile kaplanmış gıda. Farklı küçük harfler aynı örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmektedir.

Gıda ve İlaç Dairesi ve Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı'na göre, sağlığa yararı sağlamak için tüketim anında alınması gereken minimum probiyotik konsantrasyonu 10^6 – 10^7 kob/g (6-7 logaritmik birim) şeklinde olmalıdır (Romano ve ark., 2014). Fonksiyonel filmler ile kaplanan yaban mersini örnekleri incelendiğinde, bu durumun tüm filmlerle depolama süresince sağlandığı görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, prebiyotik eklenmesinin probiyotik canlılık üzerinde önemli bir etkisi bulunmadığına ($p > 0,05$) karar verilmiştir. Bu durum yapılan diğer çalışmalarda (Alvarez ve ark., 2021; Röbke ve ark., 2010) elde edilen sonuçlarla da uyumludur.

Depolama boyunca örneklerden alınan dilüsyonlarla yapılan ekimlerde besiyerlerinde küf-maya ve psikrofil bakteri gelişimleri incelenmiştir. Şekil 4.15 ve Şekil 4.17 incelendiğinde, depolamanın sonunda filmle kaplanmamış gıda örneklerinde (Yb) küf-maya ve psikrofil bakteri sayısı sırasıyla $4,73 \pm 0,13$ Log kob/g ve $6,69 \pm 0,09$ Log

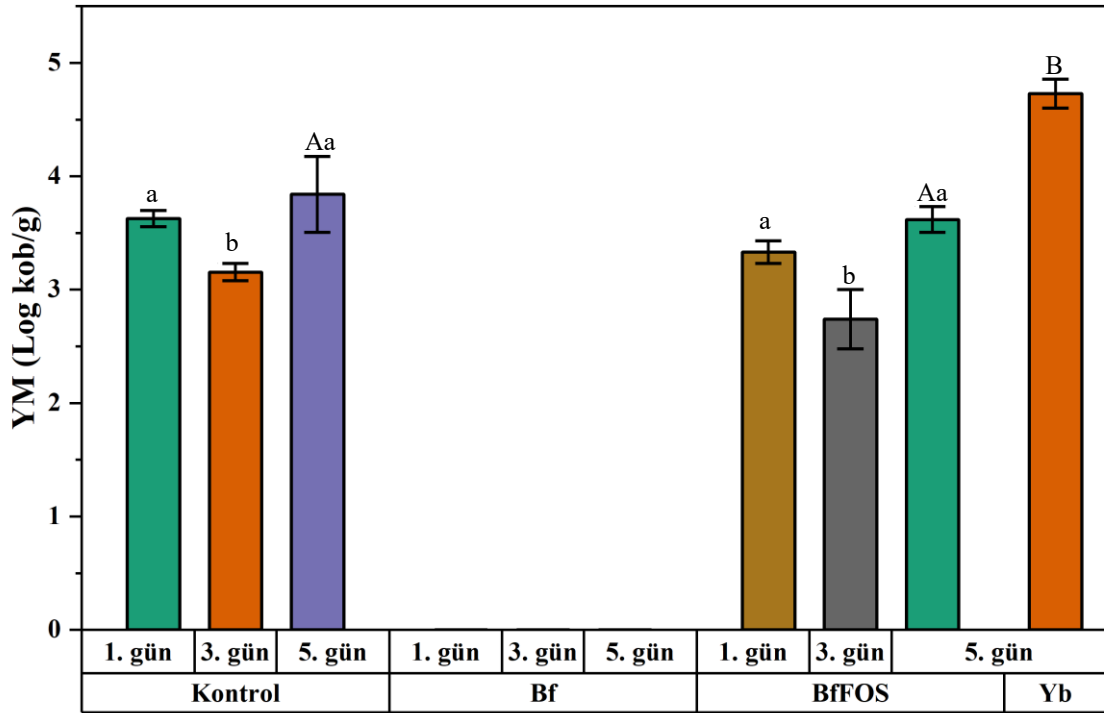
kob/g şeklinde saptanmıştır. Buna göre, Lp ile kaplanmış yaban mersini örneklerinin hem küf-maya hem de psikrofil bakteri açısından depolamanın 5. gün sonunda en düşük mikrobiyal yüklerle sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu değerler Lp filmi ile kaplanan gıda örneklerindeki küf-maya ve psikrofil bakteri sayıları için sırasıyla $4,25 \pm 0,05$ Log kob/g ve $4,24 \pm 0,06$ Log kob/g şeklinde bulunmuştur. Ayrıca, bu değerler depolamanın sonunda Kontrol ve LpIN filmleri ile kaplanan gıda örneklerinden elde edilen değerlerle kıyaslandığında aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bu sonuçların, patojenlerin inaktivasyonunu LAB metabolizması içinde üretilen organik asitlerin (örneğin; laktik ve asetik asitler), karbondioksitin, etanolün, peptit bileşiklerinin ve enzimlerin sebep olduğunu bildiren ve aynı zamanda LAB etkisi ile pH'taki azalmanın, LAB'lerin substratları ile patojenik mikroorganizmalar arasında bir ortam rekabeti oluşturarak gerçekleştirdiği engelleyici etkisini belirten çalışmalarla (Díaz-Montes ve Castro-Muñoz, 2021) uyumlu olduğu görülmektedir.

Buna ilaveten, Lp ile kaplanan örneklerde olduğu gibi, Bf ile kaplanmış yaban mersini örneklerinin hem küf-maya hem de psikrofil bakteri açısından depolamanın beşinci günü sonunda en düşük mikrobiyal yüke sahip oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.16 ve Şekil 4.18). Bu değerler Bf filmi ile kaplanan gıda örneklerinde küf-maya gelişimi depolama süresince görülmezken, psikrofil bakteri sayısı beşinci günün sonunda $3,39 \pm 0,01$ Log kob/g olduğu saptanmıştır. Psikrofil bakteri gelişimde ulaşılan bu minimum değer depolamanın sonunda Kontrol, BfFOS filmleri ile kaplanan ve kaplanmamış gıda örneklerinde (Yb) elde edilen değerlerle kıyaslandığında aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır ($p < 0,05$). Elde ettiğimiz sonuçların aksine, Bambace ve ark. (2019) *Lb. rhamnosus* CECT 8361 ikameli aljinat bazlı filmlerle kapladıkları taze yaban mersini örnekleri probiyotiksiz meyvelerden önemli ölçüde ($p < 0,05$) psikrotrof bakteri sayım değerleri gösterdiği belirtilmiştir. Buradan, çalışmamızda kullanılan CMC-Nişasta bazlı probiyotik filmlerin bahsi geçen aljinat filme nazaran psikrofil canlı sayısını indirgemedi etkili olduğu söylenebilir.



Şekil 4.15. LAB uygulanan yaban mersini örneklerindeki toplam küf-maya sayısındaki değişim

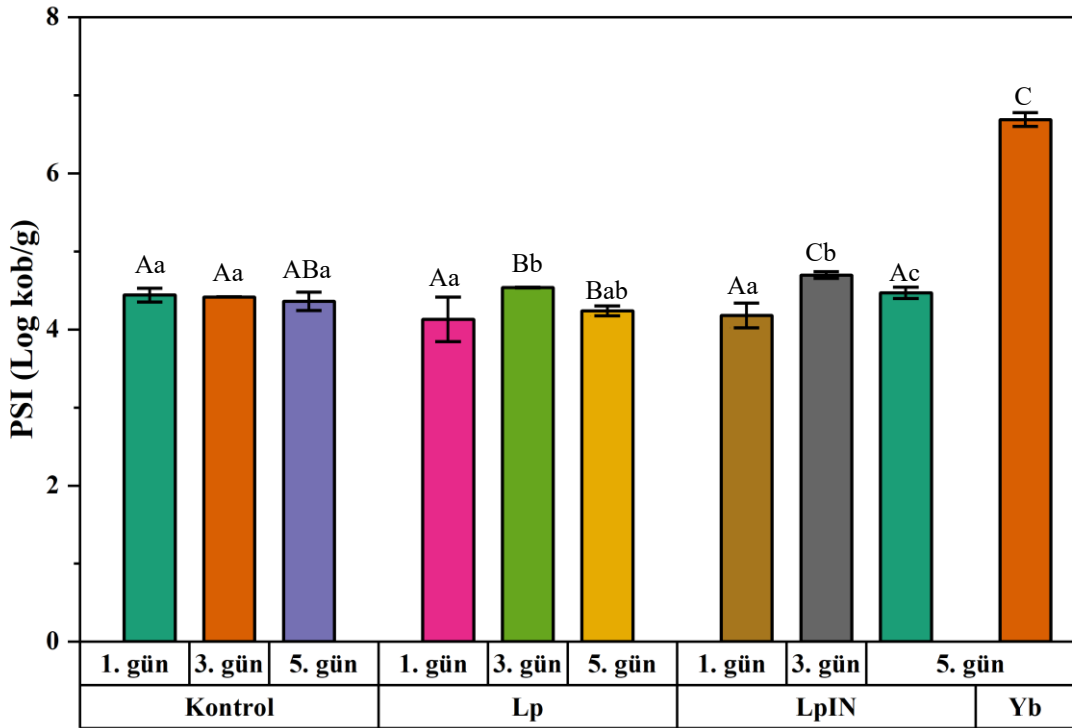
Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı küçük harfler farklı günlere ait örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu, farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 4.16. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerindeki toplam küf-maya sayısındaki değişim

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS içeren film ile kaplanmış gıda. Farklı küçük harfler farklı günlere ait örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu, farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Hashemi ve Jafarpour kivi örneklerinde yaptıkları çalışmada, meyve kaplamasındaki probiyotik işlemlerin kaplanmamış ve saf Konjac filmlerle kaplanmış gıda örneklerine kıyasla mantar sayısını önemli ölçüde azaltmada etkili olduğunu ve *Lb. plantarum* LP3'ün 5 günlük buzdolabında saklamadan sonra gıdadaki küf ve maya sayısını $23 \pm 0,8$ kob/g oranında azalttığını rapor etmiştir. Bu durumu, LAB bakterilerinin laktik asit üreterek ortamın pH'sını düşürmesi ve böylece gıdadaki istenmeyen mikroorganizmaların üremesini engellediği sonucu ile açıklamıştır (Hashemi ve Jafarpour, 2021). Alvarez ve ark. (2021), probiyotik ve hem probiyotik hem prebiyotik ikameli aljinat filmlerle kaplanmış elma dilimlerinde, ilk PSI sayımlarının 8 günlük depolamadan sonra probiyotik ikameli filmlerle kaplı örneklerde sadece aljinatla kaplanmış örneklere kıyasla biraz daha düşük ($p < 0,05$) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, probiyotikli ve probiyotiksiz örneklerde prebiyotik eklenmesinin depolama sonunda YM sayıları üzerinde hiçbir etkisi olmadığı da rapor edilen sonuçlar arasındadır (Alvarez ve ark., 2021).

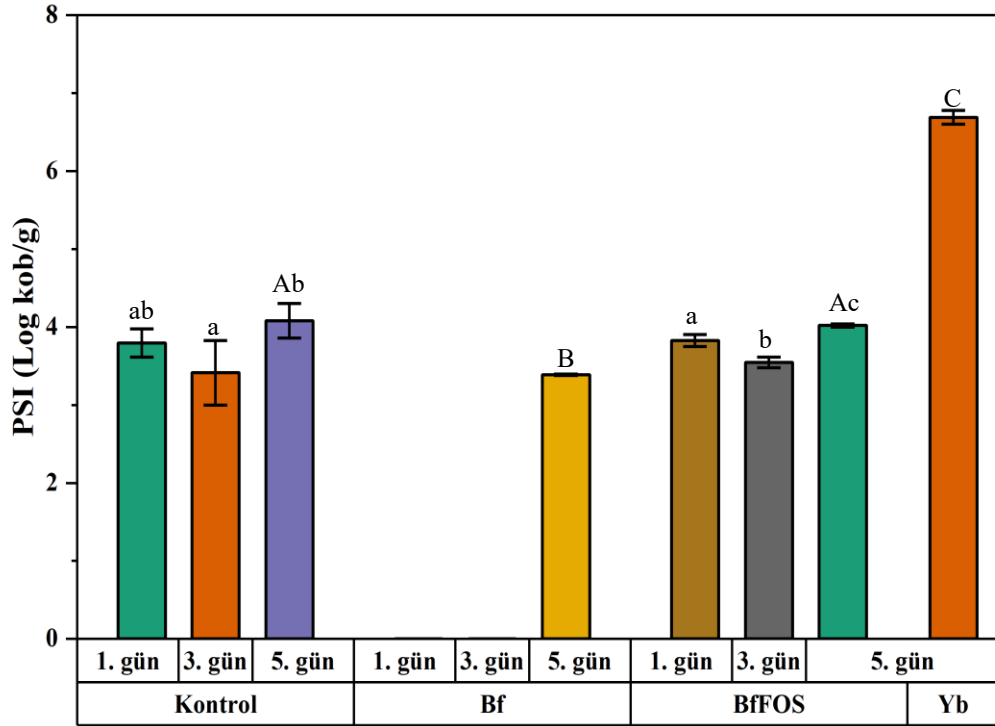


Şekil 4.17. LAB uygulanan yaban mersini örneklerindeki psikrofil bakteri sayısındaki değişim

Değerler ortalama \pm standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı küçük harfler farklı günlere ait örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu, farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Grafiklerde ifade edilen sonuçlara benzer şekilde, *Lb. plantarum* ikameli patates nişastasız filmlerinin üzüm örneklerinde mantar kaynaklı bozulmaları önlediği rapor edilmiştir (Marín ve ark., 2019). Aljinat filmlerle kaplanan yaban mersini örneklerinde, kaplama çözeltilerine probiyotik (*Lb. rhamnosus*) ve prebiyotik ikamelerinin etkisinin araştırıldığı çalışmada, 21 günlük depolama süresince *L. innocua* ile muamele edilmiş örneklerdeki *L. innocua* sayısının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiş (Bambace ve ark., 2019). Taze kesilmiş elma ve kavun dilimlerinde (sitrik ve askorbik asitler ile muamele edilmiş) yapılan bir çalışmada ise, meyve parçaları *Lb. plantarum* c19 (9 Log kob/ml) içeren bir solüsyona daldırıldıktan sonra aljinat veya kitosan ile kaplanmış. Tüm numuneler 14 gün boyunca 4 °C'de hava veya modifiye atmosferde (% 65 N₂, % 30 CO₂ ve % 5 O₂) depolandıktan sonra, YM ve PSI sayıları depolama süresi boyunca tespit sınırının altında kaldığı bildirilmiştir (Speranza ve ark., 2018). Çalışmamızda literatürde

mevcut çalışmalara benzer şekilde, kaplanmış gıda örneklerinde elde edilen YM ve PSI sayıları kaplanmamış örneklerde elde edilen sonuç ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) bir azalma söz konusudur.



Şekil 4.18. Bifidobakteri uygulanan yabancı mersini örneklerindeki psikrofil bakteri sayısındaki değişim

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yabancı mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS (mg/mL) içeren film ile kaplanmış gıda. Farklı küçük harfler farklı günlere ait örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu, farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Bifidobakteriler, *Actinobacteria* şubesine ait gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz ve katalaz negatif anaerobik bakteriler olup fruktoz-6-fosfat fosfoketolaz enziminin varlığıyla karakterize edilen metabolik bir yol aracılığıyla glikozu laktik ve asetik asitlere fermente edebilirler. Bifidobakterilere atfedilen birçok probiyotik özelliğin (immünoglobulin üretiminin indüklenmesi, konakçı tarafından metabolize edilmeyen substratların asimilasyonu yoluyla gıdanın besin değerinin iyileştirilmesi, antikarsinojenik aktivite ve folik asit sentezi) yanı sıra, bazı bifidobakterilerin organik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyalleri ürettiği bilinmektedir (Martinez ve ark., 2013). *B. animalis* dahil Bf ve BfFOS film kaplamalarından alınan sonuçlar incelendiğinde, probiyotik canlılığın daha fazla olduğu Bf filmleri ile kaplı gıda

örneklerinde YM ve PSI sayıları BfFOS filmlerle kaplanmış örneklere kıyasla daha düşüktür. Bu durum, probiyotik canlılığın belirli bir seviye üzerinde olmasının yabancı mersini örneklerinde YM ve PSI sayılarını azaltılabileceğinin göstergesidir. Çalışmamızdan elde edilen sonuca göre bu eşik değeri, depolamanın birinci ve üçüncü gününde *B. animalis* için sırasıyla $3,80 \pm 0,20$ ve $3,85 \pm 0,25$ Log kob/g (Bf film kaplı gıda örneklerindeki 1. ve 3. gün sonundaki probiyotik canlılık miktarları) şeklindedir.

Sonuç olarak, Yb örnekleri ile kıyaslandığında bütün kaplama türlerinin (Lp, LpIN, Bf, BfFOS) gıdada bozulma etmeni mikroorganizmaların azaltılmasında etkili olduğu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). CMC-Nişasta kaplama bile tek başına bu mikroorganizmaların azaltılmasında etkili iken, probiyotik ilavesinin bu durumu daha da etkili hale getirdiği söylenebilmektedir. Depolamanın son gününde, prebiyotik ilaveli filmlerle (LpIN ve BfFOS) kaplanmış yabancı mersini örneklerindeki YM ve PSI sayıları ile Kontrol filmlerle kaplanan gıdada yapılan mikrobiyal sayımlar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Çalışmamızda filmlere prebiyotik ilavesi Kontrol filmlerle benzer etkiyi gösterse de belki de uzun vadede depolanacak gıdalarda anlamlı bir fark oluşturup oluşturmayacağı irdelenebilir.

4.2.2. Enzimatik aktivite analiz sonuçları

Örneklerin enzimatik bozulma reaksiyonlarını belirlemek için PPO ve POD değerleri analiz edildi. Çizelge 4.5 yabancı mersini örneklerinin depolama sonrası enzim aktivite değerlerini, Şekil 4.19 ve 4.20 ise örneklere göre enzimatik aktivite değişimlerini göstermektedir. Buna göre, LAB ikameli kaplama uygulamalarındaki kaplanmamış örneklerde (Yb) gıdalarda bozulma etmeni PPO ve POD aktivitesi en yüksek değerlerine ulaşılmıştır. LAB ikameli filmler için, kaplama uygulamasının genel olarak PPO enzimatik aktivitesini azalttığı söylenebilmektedir. Tahir ve ark. (2020), kaplamaların yabancı mersininde 21 günlük depolama süresince PPO ve POD enzimlerinin aktivitelerini düşürdüğü beraberinde mikrobiyal çürümeyi geciktirdiği belirtilmiştir (Tahir ve ark., 2020). Çilek örneklerine yapılan kitosan, jelatin, nişasta ve sorbitol bazlı, monoterpenerler (geraniol ve timol) gibi bir dizi aktif biyolojik olarak parçalanabilir kaplamalardan bazılarının, *Botrytis cinerea*'nın mantar sporları aşılmasını ve 4 °C'de 7 gün boyunca saklanan örneklerde guaiakol peroksidaz (GPOD), PPO aktivitelerindeki artışı engellediği CAT aktivitesindeki azalmayı geciktirdiği bildirilmiştir. Bu anlamda en etkili kaplama uygulamasının kitosan (% 1) + nişasta (% 1) + sorbitol (% 0,5) + tween (% 0,05)

+ timol (% 0,02) olduğu rapor edilmiştir (Badawy ve ark., 2017). Ayrıca, oksidasyonunun inhibisyonu, meyve ve sebzelerin işlenmesinde kritik bir adımdır. Düşük oksijen geçirgenliğine sahip yenilebilir ambalaj malzemelerinin kullanımı besinleri korumakla kalmaz oksijene duyarlı gıdaların raf ömrünü uzatır. Taze kesilmiş meyve ve sebzeler, mekanik hasar nedeniyle artan bir solunum entropisine sahip olmakla birlikte, hidrokolloid bazlı filmlerin genellikle düşük bağıl nemde iyi gaz bariyeri yeteneklerine sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, yenilebilir probiyotik filmlerin kullanımı, reaktif substrat ile hava arasındaki gaz alışverişini azaltarak bir dizi oksidasyon reaksiyonunun meydana gelmesini önleyebilir (Chang ve ark., 2023).

Örneklerin antioksidan aktivitesi için CAT ve SOD aktivite değerleri analiz edildi. Çalışmamızda, CAT ve SOD gibi antioksidan aktivite ilişkili enzimler için en yüksek değerler Lp örneklerinde gözlemlenirken, minimum enzim aktivitesi değerleri ise, aynı enzimler için LpIN film uygulamalarından elde edilmiştir (Şekil 4.19). Buradan çıkarılan sonuç, probiyotik kaplamanın (Lp) genel olarak antioksidan aktivite ile ilişkili CAT ve SOD enzim aktivitesini arttırdığı yönündedir. Söz konusu enzimlerle ilgili artışların olduğu örnekler, kaplanmamış örneklerle kıyaslandığında, örnekler arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğu da görülmüştür. Ancak ortamda prebiyotik varlığı CAT ve SOD enzim aktivitelerini düşürmüştür. Bu farklılığın temel sebebi, prebiyotik ilavesinin probiyotik canlılığın beraberinde bakteri hücrelerinin metabolik faaliyetlerini hızlandırmasından kaynaklı olabileceği yönündedir. Bahsi geçen sonuçlara benzer şekilde, polisakkarit esaslı *Tragacanth* zıncığı ile kaplanmış kayısı örneklerinde yapılan bir çalışmada kaplama uygulamasının örneklerdeki antioksidan ilişkili enzim (CAT ve SOD) gruplarının aktivitelerini, kaplanmamış örneklere nazaran arttırdığı bildirilmiştir (Ali ve ark., 2020).

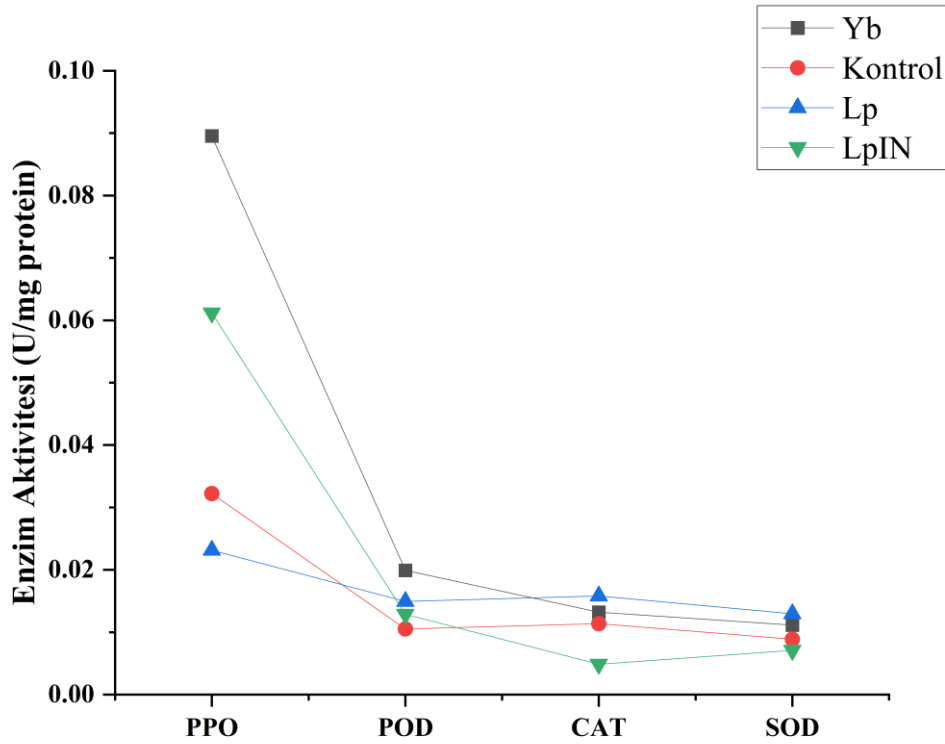
B. animalis ikameli uygulamanın örnek grupları incelendiğinde, maksimum PPO ve POD aktivite değerleri sırasıyla, Bf ve Kontrol kaplamalarından elde edilmiştir (Şekil 4.20). Bu durumda, Kontrol, Bf ve BfFOS kaplama uygulamalarının gıdalarda bozulma etmeni enzim gruplarının (PPO ve POD) aktiviteleri üzerine doğrusal bir etkisi bulunmadığı söylenebilmektedir. Kontrol film kaplamaların ise PPO aktivitesi için en düşük değeri sağlarken POD aktivitesi için maksimum aktiviteye neden olduğu görülmektedir. Bu durumların temel sebebi meyvelerin analize dek her ne kadar soğuk

zincir koşulları sabit tutulsa da, hasat sonrası karşılaştığı farklı etmenlerden farklı şekillerde etkilenmeleri ile açıklanabilir.

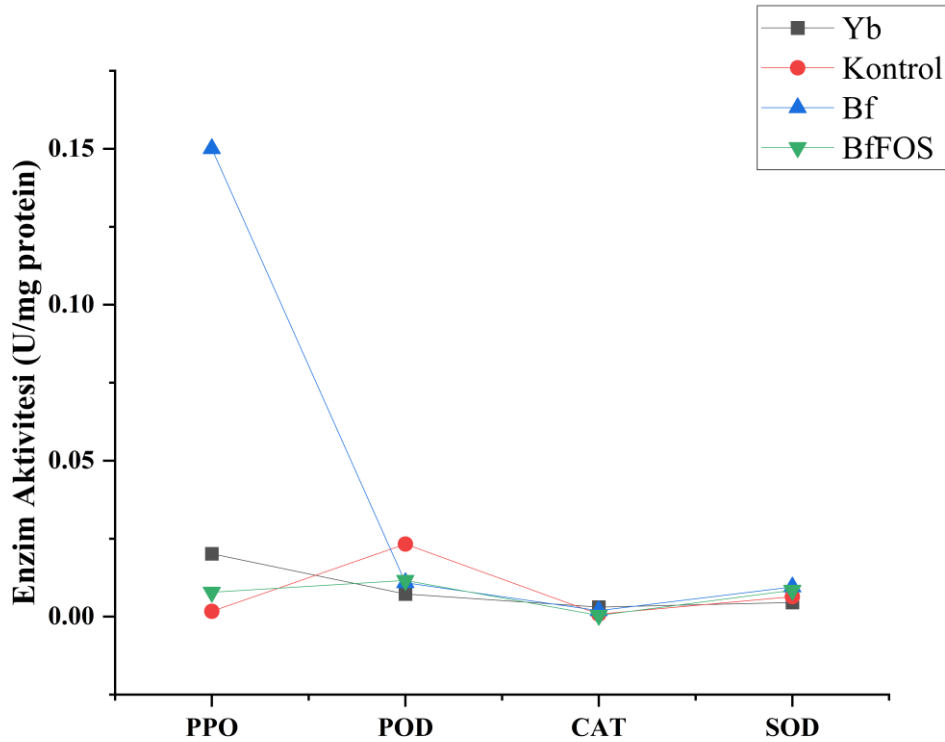
Çizelge 4.5. Yaban mersini örneklerinde depolama sonrası enzim aktiviteleri değerlerindeki değişim

Örnek	Enzim aktivitesi (U/mg protein)			
	PPO	POD	CAT	SOD
Yb	0,090±0,001 ^a	0,020±0,004 ^a	0,013±0,001 ^b	0,011±0,000 ^b
Kontrol	0,032±0,001 ^c	0,011±0,001 ^c	0,011±0,001 ^b	0,008±0,001 ^c
Lp	0,023±0,004 ^d	0,015±0,001 ^b	0,016±0,002 ^a	0,013±0,000 ^a
LpIN	0,061±0,002 ^b	0,013±0,001 ^{bc}	0,005±0,000 ^c	0,007±0,001 ^d
Yb	0,020±0,008 ^b	0,007±0,000 ^c	0,003±0,000 ^a	0,005±0,001 ^b
Kontrol	0,002±0,002 ^c	0,023±0,002 ^a	0,001±0,000 ^b	0,006±0,001 ^{ab}
Bf	0,150±0,012 ^a	0,011±0,002 ^b	0,002±0,001 ^{ab}	0,010±0,004 ^a
BfFOS	0,008±0,001 ^{bc}	0,012±0,001 ^b	0,000±0,000 ^b	0,009±0,002 ^{ab}

Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı küçük harfler aynı enzime ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 4.19. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinin enzim aktivitesi analiz sonuçları



Şekil 4.20. Bifidobakteri uygulanan yabancı mersini örneklerinin enzim aktivitesi analiz sonuçları

4.2.3. Fizikokimyasal analiz (renk, pH, ağırlık kaybı) sonuçları

Gıda ürünlerine serbest formda probiyotik bakteri ilavesi, gıdanın duyuşal özelliklerini önemli ölçüde değiştirebildiği bilinmekte olup metabolik aktivite sırasında aşırı asitlenme veya aşırı proteoliz gibi olaylar, ürünün tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğini azaltabilmektedir. Probiyotiklerin yenilebilir filmlere veya kaplamalara dahil edilmesi, serbest formda eklenmeleri halinde oluşabilecek istenmeyen duyuşal değişiklikleri ortadan kaldırmaya veya kontrol etmeye yardımcı olabilir (Pavli ve ark., 2018).

Çizelge 4.6, yabancı mersini örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerlerinde depolama boyunca meydana gelen değişimleri göstermektedir. LAB ve Bifidobakteri ikameli filmlerin denemeleri farklı günlerde yapıldığı için kaplanmış gıdalara ilişkin renk değerleri her kaplama türü için o gün kullanılan kaplanmamış yabancı mersini örneklerine göre değerlendirilmiştir.

LAB bakterisi ile yapılan kaplamalarda, parlaklığın göstergesi olan L^* değerlerine bakıldığında, depolamanın birinci gününde en yüksek parlaklık Yb için $30,36 \pm 1,14$ şeklinde bulunurken, depolamanın sonunda en yüksek parlaklık değeri $30,99 \pm 1,48$ ile

LpIN örneğinde görülmüştür. Depolama periyodu boyunca örneklerin parlaklık değerlerinde azalma meydana gelirken beşinci gün sonunda LpIN örneğinde bu durum tam tersidir. Ancak genel olarak depolama sonunda parlaklık değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Yeşil rengin göstergesi olan negatif a^* değerlerine bakıldığında, değerlerin -2,94 ile -1,10 aralığında değiştiği görülmektedir. Depolama başlangıcında örneklerin a^* değerleri arasındaki fark önemli değil iken ($p > 0,05$) depolamanın son gününde Lp ve LpIN örneklerinin Yb ve Kontrol örnekleri ile arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur. Mavi rengin göstergesi olan negatif b^* değerleri ise depolamanın 1. ve 3. gününde tüm örnekler arasındaki fark anlamlı iken ($p < 0,05$) depolamanın beşinci gününde örneklerin b^* değerleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Sonuç olarak, depolama sonunda örneklerin hem a^* hem de b^* değerlerinde genel olarak bir azalma saptandığı söylenebilir.

Bifidobakteri ikameli filmlerde ise beşinci gün sonunda en parlak örneğin kaplanmamış yaban mersini örnekleri olduğu görülmektedir. Depolamanın ilk gününde parlaklık açısından örnekler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmasa ($p > 0,05$) da depolama sonundaki parlaklık farkı istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$). Örneklerin a^* değerlerinde genel olarak bir azalma gözlemlenirken b^* değerlerinde depolamanın ilk gününe nazaran bir artış söz konusudur. Ancak depolamanın sonunda örneklerin b^* değerleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

LAB içerikli filmlerle kaplı örneklerin b^* mavilik değerleri depolamanın birinci gününde kaplanmamış örneklere kıyasla kaplanmış örneklerde artış söz konusu iken, Bifidobakteri ikameli filmlerle kaplanan örnekler için bu durum tam tersi yönde olmuştur. Kaplanmamış örneklerle karşılaştırıldığında kaplanmış örneklerde mavilik değerlerinde azalma gerçekleşmiştir. Bu durumun nedeni, farklı kaplama filmlerinin farklı parlaklık (L^*) değerlerine sahip olmasından ileri gelmektedir. Tahir ve ark. (2020), yaban mersini örneklerindeki kaplama etkini gözlemledikleri çalışmalarında, örneklerin artan mavilik değerlerini aynı örneklerin kaplamalarının örneklerde diğerlerine nazaran yüksek parlaklık değerlerine neden olması ile ilişkilendirmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlarla benzer şekilde, Melikoğlu ve ark. (2022) CMC kaplanmış ve kaplanmamış çilek örneklerinde depolama sonrası örneklerin L^* değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığını rapor etmiştir. Farklı oranlarda *Lb. plantarum* yüklü CMC kaplı çilek örneklerinde yapılan başka bir çalışmada farklı örneklerin L^* , a^* ve b^* değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı ($p > 0,05$),

kaplamanın renk özellikleri üzerinde depolama süresince önemli bir etkisinin bulunmadığı ortaya konulmuştur (Khodaei ve Hamidi-Esfahani, 2019). Hashemi ve Jafarpour (2021), probiyotikle kaplanmış kivilerde renk değerlerinde önemli bir fark gözlenmediğini ($p > 0,05$) çalışmalarında rapor etmiştir. Bu sonucu, taze kesilmiş kivilerin renk değişimlerinin kaplamaya eklenen probiyotik türlerinden etkilenmediği şeklinde açıklamıştır.

Probiyotik bakteri içeren yenilebilir filmlerin duyuşal özellikleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Elma dilimleri ile kaplama materyalinde LAB bakterisinin etkisinin incelendiğı bir çalışmada, kaplamanın gıdanın görünüş, doku, tat ve genel kabul edilebilirliği üzerinde herhangi bir değişime sebep olmadığı rapor edilmiştir (Alvarez ve ark., 2021). Benzer şekilde fırınlanmış elma örneklerine *Lb. plantarum* içerikli metilselüloz film kaplamalarının etkisinin incelendiğı çalışmada, kaplamaların kontrole kıyasla duyuşal kalite parametreleri üzerinde büyük farklılıklar oluşturmadığı rapor edilmiştir (Tavera-quiros ve ark., 2015).

Çizelge 4.6. Yaban mersini örneklerinde depolama süresince renk değerlerindeki değişim

Örnek	Gün	L*	a*	b*	Örnek	Gün	L*	a*	b*
Yb	1	30,36±1,14 ^A	-2,80±0,36 ^{AB}	-3,06±0,22 ^A	Yb	1	26,96±0,51 ^A	-3,73±0,04 ^{AB}	-3,30±0,09 ^A
Kontrol		29,75±0,02 ^{AB}	-2,39±0,05 ^B	-3,39±0,01 ^B	Kontrol		25,18±0,08 ^A	-3,61±0,21 ^A	-1,41±0,13 ^B
Lp		28,08±0,04 ^C	-2,94±0,33 ^A	-3,66±0,15 ^C	Bf		25,75±0,72 ^A	-4,05±0,37 ^{AB}	-2,67±0,38 ^{AB}
LpIN		28,87±0,06 ^{BC}	-2,64±0,23 ^{AB}	-4,09±0,04 ^D	BfFOS		26,22±2,29 ^A	-4,37±0,53 ^B	-2,85±0,88 ^{AB}
Yb	3	27,32±1,41 ^A	-2,79±0,14 ^A	-2,84±0,12 ^A	Yb	3	34,99±1,13 ^A	-2,85±0,80 ^A	-4,64±0,28 ^A
Kontrol		29,56±2,00 ^A	-2,23±0,07 ^B	-1,26±0,17 ^B	Kontrol		26,92±0,94 ^B	-2,33±0,59 ^A	-2,08±0,15 ^B
Lp		30,97±1,16 ^A	-2,49±0,40 ^{AB}	-3,59±0,41 ^C	Bf		27,17±1,44 ^B	-3,43±0,25 ^{AB}	-3,76±0,14 ^C
LpIN		29,70±2,90 ^A	-2,72±0,05 ^A	-1,98±0,17 ^D	BfFOS		24,89±0,37 ^C	-4,12±0,74 ^B	-1,16±0,22 ^D
Yb	5	29,38±3,17 ^A	-2,31±0,17 ^A	-2,50±0,26 ^A	Yb	5	33,24±2,64 ^A	-2,16±0,51 ^A	-3,55±0,21 ^A
Kontrol		28,98±1,88 ^A	-2,22±0,43 ^A	-2,17±0,37 ^A	Kontrol		28,05±2,35 ^{AB}	-2,10±0,29 ^A	-3,14±0,27 ^A
Lp		28,95±2,15 ^A	-1,10±0,54 ^B	-2,82±1,17 ^A	Bf		27,03±0,42 ^B	-2,52±0,12 ^{AB}	-3,36±0,14 ^A
LpIN		30,99±1,48 ^A	-1,83±0,15 ^C	-1,87±0,30 ^A	BfFOS		30,24±4,10 ^{AB}	-3,03±0,35 ^B	-2,99±0,73 ^A

Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.7 depolama öncesinde ve sonrasında analiz edilen yaban mersini örneklerine ilişkin pH ve ağırlık kaybı değerlerini göstermektedir. Buna göre, örneklerin tümü için depolamanın son gününde elde edilen pH değerlerinin depolama öncesi (0. gün) henüz kaplanmamış yaban mersini örneği ile (Yb) benzer olduğu ($p > 0,05$), ancak beşinci gün örneklerine bakıldığında örnekler arasında en asidik değerin $3,69 \pm 0,10$ ile LpIN kodlu yaban mersini örneklerine ait olduğu sonucuna varılmıştır. Depolama sonunda ise örnekler arasında en yüksek ağırlık kaybının yine LpIN kodlu örneklere ait olduğu ve Kontrol örneğine kıyasla bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğu görülmektedir. Prebiyotik ikamesi, *Lb. plantarum* canlılığını korurken bakterilerin metabolik aktivitesini buna bağlı olarak oluşturdukları metabolik yan ürünleri (laktik asit gibi) de arttırdığı söylenebilir (Oliveira ve ark., 2014). Gıdanın yüzeyinde gerçekleşen bu faaliyetler, gıdanın asiditesini artırmanın yanı sıra ağırlığının da azalması gibi duyu kalite parametrelerinde bozulmalara yol açan durumlara neden olabildiği düşünülmektedir. İleri seviyelerde ise istenmeyen koku ve tat unsurları gözlemlenebilmektedir. Çalışmamızda, Kontrol ve Yb gruplarının ağırlık kaybı arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Bifidobakteri ikameli (Bf ve BfFOS kodlu) filmlerle kaplanmış yaban mersini örneklerine bakıldığında ise, bu örneklere ait pH değerleri ile kaplanmamış (Yb) ve sadece CMC-Nişasta ile kaplanmış (Kontrol) gıda örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunamamıştır. LAB ikameli film örnekleri ile kaplanmış gıda örneklerine benzer şekilde *B. animalis* ikameli Bf ve BfFOS kaplama uygulamalarının Yb örneklerine kıyasla gıda örneklerinin ağırlık kaybında bir miktar artışa sebep olduğu görülmektedir.

Khodei ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, probiyotik içeren çileklerin, kaplanmamış kontrol ve sadece CMC kaplı örneklerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde ($p < 0,05$) daha düşük pH değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Khodaei ve Hamidi-Esfahani, 2019). Başka bir çalışmada araştırmacılar, *Lb. rhamnosus* ile birleştirilmiş minimal işlenmiş kavunlar için düşük pH değeri bildirilmiş olup bu durumu probiyotik hücrelerin kavun yüzeyinde çoğalması ve asit üretmesinden ileri gelebileceği şeklinde yorumlamıştır (Oliveira ve ark., 2014). Bu çalışmalara benzer şekilde, çalışmamızdaki LAB yüklü filmlerle kaplanmış gıda örnekleri depolamanın beşinci gün sonunda kontrol örneklerine kıyasla daha düşük pH değerlerine sahiptir.

Çizelge 4.7. Yaban mersini örneklerinde depolama süresince pH ve ağırlık değişimi

Örnek	Gün	pH	% ağırlık kaybı	Örnek	Gün	pH	% ağırlık kaybı
Yb	0	3,81±0,22 ^{ab}	-	Yb	0	3,23±0,18 ^a	-
Yb	5	3,94±0,35 ^{ABab}	5,61±1,11 ^C	Yb	5	3,32±0,12 ^{Aa}	0,78±0,17 ^B
Kontrol		3,99±0,07 ^{ABab}	7,46±0,27 ^C	Kontrol		3,34±0,06 ^{Aa}	0,86±0,01 ^{AB}
Lp		3,97±0,33 ^{Ba}	14,30±0,75 ^B	Bf		3,33±0,19 ^{Aa}	1,06±0,13 ^A
LpIN		3,69±0,10 ^{Ab}	19,30±2,82 ^A	BfFOS		3,38±0,25 ^{Aa}	0,86±0,03 ^{AB}

Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı küçük harfler farklı günlere ait örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu, farklı büyük harfler aynı güne ait farklı değerlerin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

4.2.4. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik içerik tayini sonuçları

Depolamanın son gününde alınan örneklerin DPPH ve ABTS⁺ radikallerini süpürme aktiviteleri, toplam fenolik içerik test sonuçları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.21-4.23'te gösterildiği gibidir. LAB ikameli film uygulamasında, gıdaların serbest radikal süpürme etkinliklerinde hem DPPH hem de ABTS testleri ile en etkin olan grupların sırasıyla Kontrol film örnekleri ile kaplanmış yaban mersini örnekleri ve kaplanmamış yaban mersini örnekleri olduğu görülmektedir. DPPH radikal süpürme aktivitesi LAB ikameli film uygulaması için sırasıyla Kontrol>Lp>Yb>LpIN şeklinde iken ABTS testinde bu sıralama Yb>Kontrol>Lp>LpIN şeklinde olmuştur. LAB ikameli filmlerde prebiyotik varlığı antioksidan aktiviteyi düşürdüğü söylenebilirken, Bifidobakteri ikameli film uygulamasında ise prebiyotik ikamesi DPPH süpürme aktivitesini arttırmıştır. Bu aktivitenin, Bifidobakteri uygulamasının örnekleri arasında BfFOS>Bf>Kontrol>Yb şeklinde sıralandığı görülmektedir. Ancak aynı sıralama ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesinde saptanamamıştır. Bu sıralama ABTS⁺ radikalini süpürme aktivitesi değerleri için Bf > Yb > Kontrol > BfFOS şeklinde bulunmuştur.

Antioksidan özellikler örnek grupları arasında değişkenlik gösterse de söz konusu farklılığın temel sebebi, temin edilen yaban mersini örneklerinin her ne kadar yerel marketlerden temin edildikten analize alınana kadar geçen sürede ve analizler süresince soğuk zincir koşulları sabit tutulsa da hasattan yerel pazara uzanan süreçte meyvenin karşılaştığı sıcaklık değişimleri, fiziksel hasar gibi faktörlerin antioksidan aktiviteyi değiştirmesi ile sonuçlanmasıdır. Ayrıca çalışmamızda, *Lb. plantarum*'un ve *B. animalis*'in ilk büyümesi anaerobik koşullar altında yapılmış olsa da, meyve yüzeyindeki film tabakası çok ince olduğundan, ortamın aerobik hale geldiği ve bakteriyeye

antimikrobiyal bileşikler ve ayrıca belki de farklı türde bileşikler üretmesi için farklı stres faktörleri oluşturabileceği bilinmektedir (Marín ve ark., 2019).

Hidroksil radikalleri, hücreler veya biyomoleküllerle etkileşime girebilir ve oksidatif stres nedeniyle gıda kalitesinde önemli bir azalmaya yol açabilmektedir. Bazı çalışmalar *Lb. plantarum* tarafından üretilen EPS'nin hidroksil radikallerini etkili bir şekilde temizlediğini (Min ve ark., 2019), EPS'nin hücre içi antioksidan enzim sistemlerini desteklediği (Li ve ark., 2020), lipid peroksidasyonunu engellediği ve hücre bütünlüğünü koruduğunu belirtmişlerdir. DPPH radikal temizleme kapasitesi, yenilebilir probiyotik filmlerin antioksidan kapasitesini yansıtan önemli bir göstergedir (Chang ve ark., 2023). Hashemi ve Jafarpour (2021)'un kivi örneklerinde yaptıkları çalışmaya göre, probiyotikle zenginleştirilmiş kaplanmış örneklerin depolama sırasında dikkate değer DPPH radikal temizleme aktivitesi gösterdiği bilinmektedir.

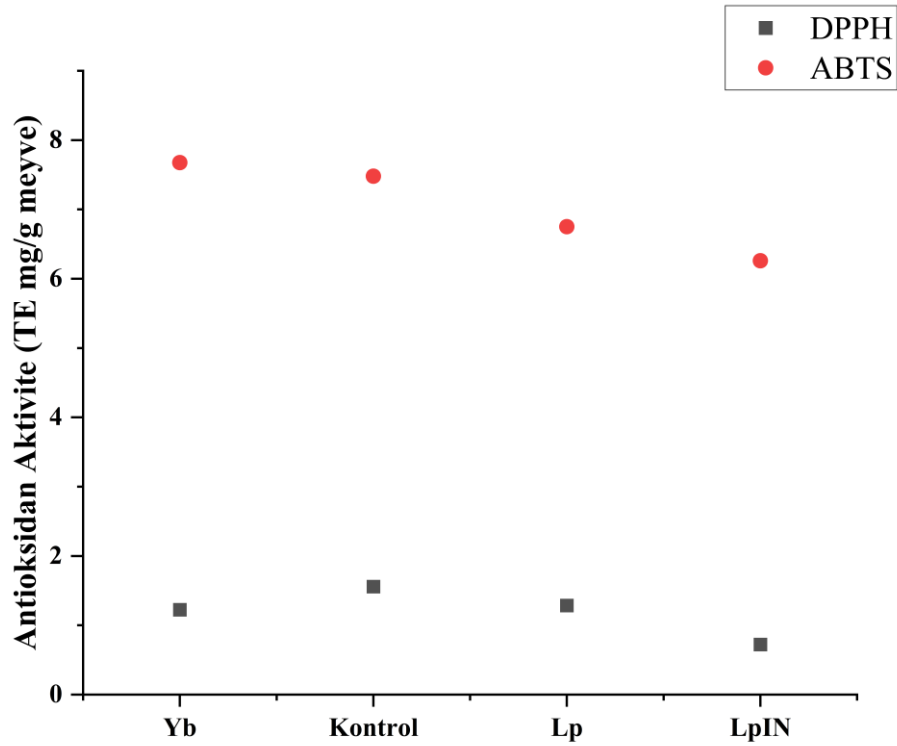
Çizelge 4.8. Yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite ve fenolik içerik test sonuçları

Uygulama	Örnek	DPPH (TE mg/g meyve)	ABTS (TE mg/g meyve)	Fenolik içerik (GAE mg/g meyve)
<i>Lb. plantarum</i> uygulanmış örnek grupları	Yb	1,23±0,13 ^b	7,68±0,55 ^a	1,39±0,11 ^b
	Kontrol	1,56±0,08 ^a	7,48±0,50 ^b	1,79±0,01 ^a
	Lp	1,29±0,10 ^b	6,75±1,07 ^b	1,74±0,01 ^a
	LpIN	0,72±0,00 ^c	6,26±1,12 ^b	1,11±0,06 ^c
<i>B. animalis</i> uygulanmış örnek grupları	Yb	0,43±0,02 ^c	3,38±0,09 ^b	1,41±0,15 ^b
	Kontrol	0,73±0,06 ^b	0,87±0,14 ^c	1,31±0,05 ^b
	Bf	0,75±0,02 ^b	4,38±0,08 ^a	1,52±0,13 ^{ab}
	BfFOS	1,38±0,09 ^a	0,00±0,00 ^d	1,74±0,12 ^a

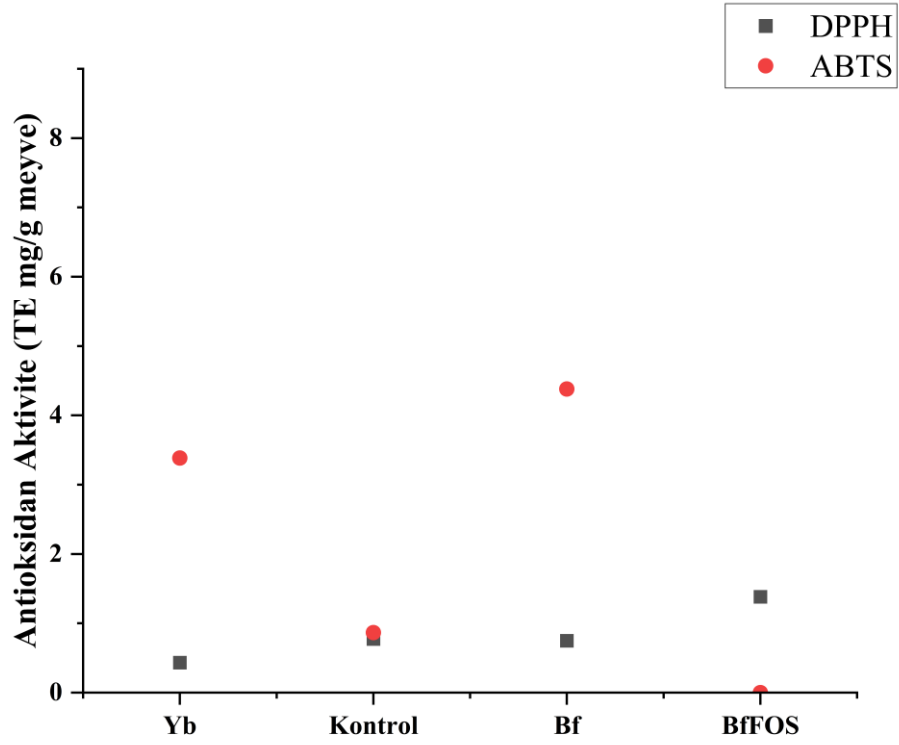
Değerler ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Yb: Kaplanmamış yaban mersini, Kontrol: CMC-Nişasta, Lp: *Lb. plantarum*, LpIN: *Lb. plantarum*+% 2 inülin, Bf: *B. animalis*, BfFOS: *B. animalis*, % 2 FOS kaplanmış yaban mersini örnekleri. Farklı küçük harfler aynı uygulamaya ait farklı örnek değerlerinin istatistiksel olarak farklı ($\alpha=0,05$) olduğunu ifade etmektedir.

Çalışılan meyve özütlerinin toplam fenolik içerikleri (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.23) Folin-Ciocalteu metodu ile belirlenmiş olup toplam fenolik içerik bakımından en zengin örnek grupları LAB ve Bifidobakteri uygulaması için sırasıyla, Kontrol filmle kaplanmış (1,79 mg GAE/g) ve BfFOS filmle kaplı (1,74 mg GAE/g) örnek grupları şeklinde bulunmuştur. Burada, her iki kaplama uygulamasının genel olarak örneğin fenolik içeriğini koruduğu ifade edilebilir. Bu çalışmanın LAB ikameli film uygulamasında, Kontrol grubu ve Lp film örnek grubu ile çalışılan yaban mersini örnekleri arasında fenolik içerik bakımından herhangi bir fark yoktur ($p > 0,05$). Çalışmamızla uyumlu olarak, Tumbarski ve ark. (2022) CMC ve CMC+propolis etkisini gözlemledikleri yaban

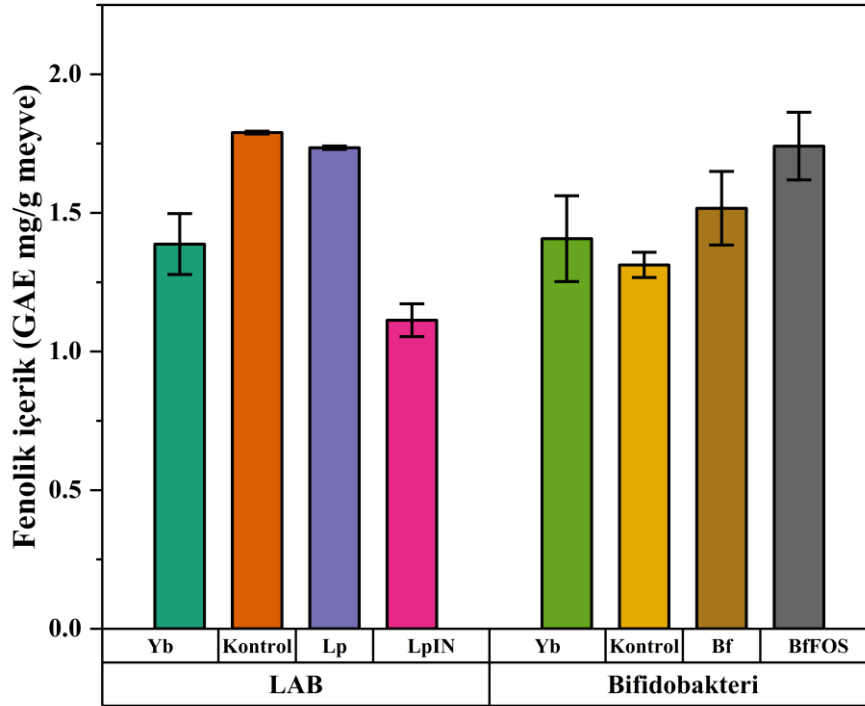
mersini örneklerinde, 20 günlük depolama boyunca toplam fenolik içerik kademeli olarak azalsa da kaplanmış örneklerdeki toplam fenolik içeriğin, kaplanmamış örneklere kıyasla hep yüksek seviyelerde kaldığını belirtmiştir. Bir başka çalışmada, GA ve AB meyve özütü ile güçlendirilen GA-AB filmlerinin, kaplanmamış yaban mersini örneklerine kıyasla toplam fenolik içeriğin daha iyi korunmasını sağladığı rapor edilmiştir (Tahir ve ark., 2020).



Şekil 4.21. LAB uygulanan yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite değişim sonuçları



Şekil 4.22. Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinin antioksidan aktivite değişim sonuçları



Şekil 4.23. LAB ve Bifidobakteri uygulanan yaban mersini örneklerinin fenolik içerikleri

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı gıda yönünde artan talepleri, üreticilerin bu amaçla, kimyasal koruma yöntemleri içermeyecek beraberinde minimum işlem görmüş tarladan sofraya ulaşabilecek raf ömrü uzun gıda ürünlerini geliştirme çabaları, bu alanda yapılabilecek çalışmaların önünü açmıştır. Bu tez çalışması ile, sentezlenen CMC-Nişasta esaslı probiyotik ve hem probiyotik hem prebiyotik ikameli yenilebilir filmler sentezlenmiş olup filmlerin yaban mersini örnekleri üzerindeki gıda kalite parametreleri üzerine etkileri ayrıntılı olarak ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Sonuç olarak, CMC-Nişasta esaslı kaplamalar yardımı ile taze yaban mersini örneklerinde probiyotik canlılığın 7 logaritmik birim ve üzeri seviyelerde tutulması, meyvenin fonksiyonel gıda olarak tüketilmesini sağlamakla kalmayıp hem Lp hem de Bf film kaplamaları, gıdanın depolama süresince küf-maya ve psikrofil bakteri kaynaklı mikrobiyolojik bozulmalarının da önüne geçmiştir. Burada Lp film kaplamaları küf-maya ve psikrofil bakteri gelişimini kaplanmamış gıda örneğine kıyasla sırasıyla yaklaşık 0,5 ve 2 logaritmik birim düşüş sağlarken, Bf yenilebilir film kaplamaları ile yaban mersini örneklerinde küf-maya gelişimi tamamen bertaraf edilebilmiş bunun yanı sıra Yb örneklerine kıyasla psikrofil bakteri gelişimi yaklaşık 3 logaritmik birim azaltılabilmektedir.

Simüle edilmiş sindirim kanalında ilerleyen film örneklerinden yalnızca probiyotik ikameli Lp filminde probiyotik canlılık korunamaz iken, % 2 inülin ikameli LpIN filminde başlangıca kıyasla yaklaşık 4 logaritmik birim azalma ile *Lb. plantarum* canlılığını koruduğu tespit edilmiştir. Bu durum, LpIN filmlerle kaplanacak gıda örneklerinin probiyotik tüketimi sağlaması açısından fonksiyonel gıda olarak tüketilebileceğinin kanıtı olmuştur.

Çalışmamızda fark edilen diğer bir unsur da, sıcaklığın düşük seviyelerde (4°C) tutulması probiyotik canlılığın muhafaza edilmesinde olumlu etki göstermiştir. Bu sonuca, literatürde mevcut benzer çalışmalarla ve çalışmamızda soğukta muhafaza edilen film ve gıda örneklerindeki probiyotik canlılık oranlarından yola çıkılarak varılmıştır. Probiyotik ikameleri, soğuk zincir süresince gıdada oluşabilecek psikrofil canlı ve küf-maya gelişimini azaltabilecek etkili bir yöntem olmuştur. Ayrıca, *Lb. plantarum* yüklü filmlerin (Lp ve LpIN) *S. aureus* sayısını 3 logaritmik birim azaltmada etkili olduğu görülmüş ve bu film kombinasyonları ile kaplanacak gıda örneklerinde bu

mikroorganizma kaynaklı gıda kontaminasyonunu önlemede etkin olabileceği düşünülmektedir.

Yaban mersini örneklerinde, CMC esaslı filmlerin probiyotiklerle desteklendiğinde (özellikle Lp film kaplamaları) antimikrobiyal etki mekanizmalarının arttırdığı, böylelikle gıdada oluşabilecek PPO kaynaklı oksidatif bozulmaların önüne geçerek raf ömrünü uzattığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca depolama sonunda elde edilen gıda görüntülerinde, kaplamanın bir nem bariyeri görevi görerek gıdada olası büzülmeyi geciktirmede etkili olduğu görülmüştür.

Elde edilen antioksidan aktivite ilişki enzim aktivitesi değerleri (CAT, SOD) de DPPH-ABTS radikallerini süpürme aktivite sonuçları ile uyumlu olarak, CMC-Nişasta esaslı kaplama uygulamalarının genel olarak, taze yaban mersini örneklerinde antioksidan özelliği arttırdığını göstermektedir. Aynı zamanda, bu çalışmada toplam fenolik içerik değerlerinin yüksek olduğu örnek grupları yine kaplanmış gıdalar olmuştur. Pek çok hastalıkla yakından ilişkili olduğu bilinen serbest radikallerin olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılmasında kullanılan antioksidanların ve fenoliklerin bulunduğu gıdaların tüketim anına dek bu değerli yapıları yüksek oranlarda ihtiva etmeleri, gıdanın fonksiyonel özelliğini korumak açısından etkili bir yöntem olmuştur.

Buna ek olarak, kaplamaların kaplanmamış gıdalara kıyasla gıdanın renk özelliklerinin korunmasında etkili olduğu ancak probiyotik-prebiyotik ilavesinin renk değerleri üzerinde büyük farklılıklar oluşturmadığı sonucuna varılmıştır. Probiyotik ilavesinin gıda yüzeyinde mevcut mikrobiyotanın muhtemel metabolik faaliyetleri sonucunda, taze yaban mersini örneklerinin pH ve yüzde ağırlık kaybı değerlerinde artışa sebep olduğu görülmüştür.

Yaban mersini meyvesinin raf ömrü, meyve çeşidi, olgunluk, hasat yöntemi ve depolama koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlı olup soğuk depolamada meyvenin organoleptik ve besinsel özelliklerini korurken bozulmayı azaltmak ve raf ömrünü uzatmak için çeşitli yöntemler uygulanmıştır. Bu yöntemler arasında probiyotik ikameli film uygulamaları oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, selüloz kaynaklı biyopolimer olan karboksimetil selüloz ve nişasta doğal polimerlerinin birbirlerini tamamlayıcı film oluşturucu mekanik özelliklerinden yararlanılarak, probiyotik ve hem probiyotik hem prebiyotik taşıyıcı kaplama materyali olarak kullanım imkanları araştırılmıştır. Bu anlamda literatüre yeni bir çalışma kazandırılmıştır.

5.2 Öneriler

Günümüze kadar yapılan araştırmalar ve çalışmamızdan elde edilen sonuçlar dikkate alındığında;

-probiyotik ve prebiyotik ikameler her ne kadar süt ve süt ürünleri ile ilişkilendirilse de, bu fonksiyonel kaynakların yalnızca bu tip gıdalarla değil bunlara alternatif olabilecek meyve-sebze grubu gibi gıdalarla da alınabilmesinin mümkün olacağı,

- son yıllarda, sağlığa olumlu etkileri sebebiyle bu ikamelerin endüstriyel ve ticari çaplı üretimi ve/veya tüketimi artarken, insan sağlığına etkilerinin de her defasında takip edilmesi istenen bir diğer husus olacağı,

- bahsi geçen suşların ve substratlarının hangi dozda, gıda üzerinde hangi formda ve ne şekilde korunacağı önemli olup yapılacak olan yeni çalışmalarda bu hususların kontrolünün pratikte de uygulanabilirliği konusunda yardımcı olacağı,

- probiyotik suşların mide sıvısındaki düşük pH değerlerinden etkilendiği ve canlılıklarının kolon sıvısına taşınmasında zorluklar meydana geldiği, bu sebeple, bu suşların mide ortamındaki zorluklara direnç kazanmasına yönelik yenilebilir filmlerle ilgili yapılacak ekstra çalışmalara ihtiyaç olduğu,

- CMC-Nişasta bazlı filmlerin meyve ve sebzelerde gerekli olan önemli bariyer özelliklerinin (ağırlık kaybının önlenmesi (nem tutma), mikroorganizmaların engellenmesi, aerobik solunumun yavaşlatılması ve parlaklık sağlayarak görünümün iyileştirilmesi) sağlanması açısından daha da geliştirilmesi konusunda yeni çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu,

- yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıdanın raf ömrünü, güvenliğini ve besin değerini iyileştirirken, bu yapılara aynı zamanda probiyotik ve antimikrobiyal ikamelerin eklenmesinin, tüketicilere ek sağlık yararının yanı sıra gıdayı koruma etkinliklerini de artırarak gıda endüstrisinde sürdürülebilir ve evre dostu bir üzüm sunacağı, ancak, bu ikamelerin hangi dozda ve ne derecede etkili olacakları konusunda daha fazla kapsamlı çalışmaya ihtiyaç olduğu,

- bu amaçla probiyotik ve prebiyotik ikamelerin farklı meyve-sebze ya da gıda gruplarında etkisinin denenebileceği başka çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.

6. KAYNAKLAR

- Abdulhameed, A., Mbuvi, H. M., Changamu, E., Maingi, F., Mbuvi, H. M., Changamu, E. O., ve Maingi, F. M., 2019, Microwave synthesis of Carboxymethylcellulose (CMC) from Rice Husk, *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 12(December), 33–42. <https://doi.org/10.9790/5736-1212013342>
- Akman, P. K., Bozkurt, F., Dogan, K., Tornuk, F., ve Tamturk, F., 2021, Fabrication and characterization of probiotic *Lactobacillus plantarum* loaded sodium alginate edible films, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 84–92. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00619-6>
- Ali, A., ve Ahmed, S., 2018, Development of Hydrogels from Edible Polymers, In *Polymers for Food Applications*, Springer International Publishing: Cham, Switzerland, pp. 551–589. ISBN 9783319946252
- Ali, S., Anjum, M. A., Nawaz, A., Naz, S., Ejaz, S., Sardar, H., ve Saddiq, B., 2020, Tragacanth gum coating modulates oxidative stress and maintains quality of harvested apricot fruits, *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2439–2447. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.179>
- Ali, S., Khan, A. S., Malik, A. U., ve Shahid, M., 2016, Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruits, *Food Chemistry*, 206, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.021>
- Alvarez, M. V., Bambace, M. F., Quintana, G., Gomez-Zavaglia, A., ve Moreira, M. del R., 2021, Prebiotic-alginate edible coating on fresh-cut apple as a new carrier for probiotic lactobacilli and bifidobacteria, *LWT*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110483>
- Badawy, M. E. I., Rabea, E. I., El-nouby, M. A. M., Rania, I. A., Taktak, N. E. M., Badawy, M. E. I., Rabea, E. I., El-nouby, M. A. M., ve Rania, I., 2017, Strawberry Shelf Life, Composition, and Enzymes Activity in Response to Edible Chitosan Coatings, *International Journal of Fruit Science*, 17(2), 117–136. <https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1219290>
- Baker, M. J.; Gazi, K. A.; Brown, A. T., Gibbins, K.G., Williams, T.A., Clarke, J.R., Bassan, P.; Gardner, P., 2014, Using fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials, *Nat. Protoc.*, 9, 1771–1791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>
- Bambace, M. F., Alvarez, M. V., ve Moreira, M. del R., 2019, Novel functional blueberries: Fructo-oligosaccharides and probiotic lactobacilli incorporated into alginate edible coatings, *Food Research International*, 122(January), 653–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.040>
- Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., ve Gottifredi, J. C., 2007, Water vapor permeability of edible starch based films, *Journal of Food Engineering*, 80(3), 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016>

- Beuchat, L. R., 1983, Influence of Water Activity on Growth, Metabolic Activities and Survival of Yeasts and Molds, *Journal of Food Protection*, 46(2), 135–141. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-46.2.135>
- Biswas, A., Furtado, R. F., Bastos, M. do S. R., Benevides, S. D., Oliveira, M. de A., Boddu, V., ve Cheng, H. N., 2018, Preparation and characterization of carboxymethyl cellulose films with embedded essential oils, *Journal of Materials Science Research*, 7(4), 16. <https://doi.org/10.5539/jmsr.v7n4p16>
- Bonilla, J., ve Sobral, P. J. A., 2016, Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts, *Food Bioscience*, 16, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.07.003>
- Bono, A., Ying, P. H., Yan, F. Y., Muei, C. L., Sarbatly, R., ve Krishnaiah, D., 2009, Synthesis and characterization of carboxymethyl cellulose from palm kernel cake, *Advances in Natural and Applied Sciences*, 3(1), 5–11.
- Ceylan, H., 2022, *Bifidobacterium bifidum* BB-12 ve *Lactobacillus rhamnosus* GG İçeren Yenilebilir Filmlerin Geliştirilmesi ve Kaplama Materyali Olarak Dilimlenmiş Eritme Peynirinde Kullanım Olanaklarının Araştırılması, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Şanlıurfa, 193s.
- Ceylan, H. G., ve Atasoy, A. F., 2022, Optimization and characterization of prebiotic concentration of edible films containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® and its application to block type processed cheese, *International Dairy Journal*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105443>
- Ceylan, H. G., ve Atasoy, A. F., 2023, New Bioactive Edible Packing Systems: Synbiotic Edible Films/Coatings as Carriers of Probiotics and Prebiotics, *Food and Bioprocess Technology*, 16(7), 1413–1428. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02983-1>
- Chandrababu, K. A., ve Ep, B., 2023, A comprehensive review on classification and application of edible films, *The Pharma Innovation Journal*, SP-12(11): 1240-1244.
- Chang, S., Guo, Q., Du, G., Tang, J., Liu, B., Shao, K., ve Zhao, X., 2023, Probiotic-loaded edible films made from proteins, polysaccharides, and prebiotics as a quality factor for minimally processed fruits and vegetables: A review, *International Journal of Biological Macromolecules*, 253(P5), 127226. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127226>
- Cizeikiene, D., ve Jagelaviciute, J., 2021, Investigation of Antibacterial Activity and Probiotic Properties of Strains Belonging to *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Genera for Their Potential Application in Functional Food and Feed Products. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(5), 1387–1403. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09777-5>
- Coimbra, P., Marona, B., Henriques, M. H. F., Campos, L., Sousa, J. S., Braga, M. E. M., Gomes, D. M. G. S., Vitorino, C., ve Gaspar, C., 2023, *Edible films based on potato and quince peels with potential for the preservation of cured cheese*. 40(February).

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101176>

- Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., Khakpour, M., ve Khaksar, R., 2015, Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 606–613. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.006>
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., ve Ghasemi, Y., 2019, Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications, *Foods*, 8(3), 1–27. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
- de Farias, Y. B., Coutinho, A. K., Assis, R. Q., ve Rios, A. de O., 2020, Biodegradable sodium alginate films incorporated with norbixin salts, *Journal of Food Process Engineering*, 43(2). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13345>
- Dianin, I., Oliveira Junior, A., Pimentel, T., Hernandez, N., ve Costa, G., 2019, Edible biofilms formulated with whey proteins isolate and *L. casei* probiotic culture: characterization and application in tomatoes or grapes, *Chemical Engineering Transactions*, 75, 469-474. <https://doi.org/10.3303/CET1975079>
- Díaz-Montes, E., ve Castro-Muñoz, R., 2021, Edible films and coatings as food-quality preservers: An overview, *Foods*, 10(2), 1–26. <https://doi.org/10.3390/foods10020249>
- Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A. M., Shojaee-Aliabadi, S., ve Koushki, M. R., 2018, Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters, *LWT*, 87, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.066>
- Erci, F., 2018, Yeşil sentez ile elde edilen metal nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliklerinin değerlendirilmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 195s.
- Erci, F., ve Bayram Sariipek, F., 2023, Fabrication of antimicrobial poly(3-hydroxybutyrate)/poly(ϵ -caprolactone) nanofibrous mats loaded with curcumin/ β -cyclodextrin inclusion complex as potential wound dressing, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 89(October), 105023. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105023>
- Erol, O., 2024, Use of Natural Antioxidants in Edible Films and Coatings, *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 8 (2), 114–121.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., ve Ibarz, A., 2011, Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use, *Trends in Food Science and Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>
- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., ve Entezami, A. A., 2010, Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative Food Science and*

- Emerging Technologies*, 11(4), 697–702. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.001>
- Ghasemi, Z., Alizadeh Khaled-Abad, M., Almasi, H., ve Nikoo, M., 2022, Carboxymethyl cellulose based bioactive edible films with *Lactobacillus casei* and fish protein hydrolysates, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(6), 85–102. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70439.1048>
- Hashemi, S. M. B., ve Jafarpour, D., 2021, Bioactive edible film based on Konjac glucomannan and probiotic *Lactobacillus plantarum* strains: Physicochemical properties and shelf life of fresh-cut kiwis, *Journal of Food Science*, 86(2), 513–522. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15568>
- Hu, D., Wang, H., ve Wang, L., 2016, Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl cellulose blend films. *LWT*, 65, 398–405. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.033>
- Izzo, L., Luz, C., Ritieni, A., Quiles Beses, J., Mañes, J., ve Meca, G., 2020, Inhibitory effect of sweet whey fermented by *Lactobacillus plantarum* strains against fungal growth: A potential application as an antifungal agent, *Journal of Food Science*, 85(11), 3920–3926. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15487>
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A., 2012, Edible and Biodegradable Starch Films: A Review, *Food Bioprocess Technol* 5, 2058–2076. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0835-4>
- Kanmani, P., ve Lim, S. T., 2013, Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films, *Food Chemistry*, 141(2), 1041–1049. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.103>
- Keller, J. D., 1986, Sodium Carboxymethylcellulose (CMC), In: Glicksman, M., Ed., *Food Hydrocolloids*, CRC Press, Boca Raton, 67 p.
- Khodaei, D., ve Hamidi-Esfahani, Z., 2019, Influence of bioactive edible coatings loaded with *Lactobacillus plantarum* on physicochemical properties of fresh strawberries, *Postharvest Biology and Technology*, 156(January), 110944. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110944>
- Kontominas, M. G., 2020, Use of alginates as food packaging materials. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101440>
- Kukrety, A., Singh, R. K., Singh, P., ve Ray, S. S., 2018, Comprehension on the synthesis of carboxymethylcellulose (CMC) utilizing various cellulose rich waste biomass resources, *Waste and Biomass Valorization*, 9(9), 1587–1595. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9903-3>
- Kumar, A., Hasan, M., Mangaraj, S., M, P., Verma, D. K., ve Srivastav, P. P., 2022, Trends in Edible Packaging Films and its Prospective Future in Food: A Review, *Applied Food Research*, 2(1), 100118. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100118>
- Kumar, B., Priyadarshi, R., Sauraj, Deeba, F., Kulshreshtha, A., Gaikwad, K. K., Kim, J.,

- Kumar, A., ve Negi, Y. S., 2020, Nanoporous sodium carboxymethyl cellulose-g-poly (Sodium acrylate)/FeCl₃ hydrogel beads: Synthesis and characterization, *Gels*, 6(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/gels6040049>
- Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., ve Gaikwad, K. K., 2022, Edible films and coatings for food packaging applications: a review, *Environmental Chemistry Letters*, 20(1), 875–900. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>
- Lan, W., Zhang, R., Ji, T., Sameen, D. E., Ahmed, S., Qin, W., Dai, J., He, L., ve Liu, Y., 2021, Improving nisin production by encapsulated *Lactococcus lactis* with starch/carboxymethyl cellulose edible films. *Carbohydrate Polymers*, 251(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117062>
- Lee, K. J., Oh, Y. C., Cho, W. K., ve Ma, J. Y., 2015, antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening hplc assay, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/165457>
- Li, S., Ma, Y., Ji, T., Sameen, D. E., Ahmed, S., Qin, W., Dai, J., Li, S., ve Liu, Y., 2020, Cassava starch/carboxymethylcellulose edible films embedded with lactic acid bacteria to extend the shelf life of banana. *Carbohydrate Polymers*, 248(July), 116805. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116805>
- Li, X., Zhang, X., Lv, J., Zhang, X., Li, Y., Han, X., ve Zhang, W., 2024, Development of starch-based films reinforced with curcumin-loaded nanocomplexes: Characterization and application in the preservation of blueberries, *International Journal of Biological Macromolecules*, 264(P1), 130464. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130464>
- Liu, P., Zhai, M., Li, J., Peng, J., ve Wu, J., 2002, Radiation preparation and swelling behavior of sodium carboxymethyl cellulose hydrogels, *Radiation Physics and Chemistry*, 63(3–6), 525–528. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(01\)00649-1](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(01)00649-1)
- Liu, Q., Han, J., Zhang, Y., Li, S., ve Li, J., 2012, Antimicrobial and antioxidant activities of carboxymethyl cellulose edible films incorporated with rosemary extracts on fresh beef during refrigerated storage, *Advanced Materials Research*, 554-556, 1187–1194. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.554-556.1187>
- Lopez-Polo, J., Muñoz-Shugulí, C., Patiño Vidal, M., ve Patiño Vidal, C., 2024, Electrospun edible films and coatings: Development, functionality and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 143(May 2023). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104253>
- López De Lacey, A. M., López-Caballero, M. E., Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M. C., ve Montero, P., 2012, Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.07.001>
- Majeed, T., Dar, A. H., Pandey, V. K., Dash, K. K., Srivastava, S., Shams, R.,

- Jeevarathinam, G., Singh, P., Echegaray, N., ve Pandiselvam, R., 2023, Role of additives in starch-based edible films and coating: A review with current knowledge, *Progress in Organic Coatings*, 181(March), 107597. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.107597>
- Manzoor, S., Wani, S. M., Ahmad Mir, S., ve Rizwan, D., 2022, Role of probiotics and prebiotics in mitigation of different diseases, *Nutrition*, 96, 111602. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111602>
- Marín, A., Plotto, A., Atarés, L., ve Chiralt, A., 2019, *Lactic acid* bacteria incorporated into edible coatings to control fungal growth and maintain postharvest quality of grapes. *HortScience*, 54(2), 337–343. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13661-18>
- Martinez, F. A. C., Balciunas, E. M., Converti, A., Cotter, P. D., ve De Souza Oliveira, R. P., 2013, Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review, *Biotechnology Advances*, 31(4), 482–488. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.010>
- Massoud, R., Khodaeii, D., Hamidi-Esfahani, Z., ve Khosravi-Darani, K., 2023, The effect of edible probiotic coating on quality of fresh fruits and vegetables: fresh strawberries as a case study, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(4), 2517–2526. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01332-0>
- Mei, L., Shi, L., Song, X., Liu, S., Cheng, Q., Zhu, K., ve Zhuge, R., 2021, Characterization of carboxymethyl cellulose films incorporated with Chinese fir essential oil and their application to quality improvement of Shine Muscat grape, *Coatings*, 11(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/coatings11010097>
- Melikoğlu, A. Y., Hayatioğlu, N., Hendekçi, M. C., Tekin, İ., Ersus, S., 2022, Development and characterization of edible films based on carboxymethyl cellulose enriched with pomegranate seed oil and the coating of strawberries, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(7), art. no. e16607. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16607>
- Min, W., Fang, X., Wu, T., Fang, L., Liu, C., ve Wang, J., 2019, Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(6), 758–766. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.12.004>
- Mishra, V., Shah, C., Mokalsh, N., Chavan, R., Yadav, H., ve Prajapati, J., 2015, Probiotics as potential antioxidants: A systematic review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(14), 3615–3626. <https://doi.org/10.1021/jf506326t>
- Monteiro, S. S., Silva, W. P. da, Monteiro, S. S., Gomes, J. P., Pereira, E. M., ve Ferreira, J. P. de L., 2022, Probiotic coating applied to papaya slices for high quality snack production by convective drying, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16183>
- Nan, N. F. C., Zainuddin, N., ve Ahmad, M., 2019, Preparation and swelling study of CMC hydrogel as potential superabsorbent, *Pertanika Journal of Science and*

Technology, 27(1), 489–498.

- Neri, L., Pittia, P., Bertolo, G., Torreggiani, D., ve Sacchetti, G., 2010, Influence of water activity and molecular mobility on peroxidase activity in salt and sorbitol-maltodextrin systems, *Journal of Food Engineering*, 101(3), 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.07.010>
- Ngo, T. M. P., Nguyen, T. H., Dang, T. M. Q., Tran, T. X., ve Rachtanapun, P., 2020, Characteristics and antimicrobial properties of active edible films based on pectin and nanochitosan, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/ijms21062224>
- Oliveira, P. M., Júnior, B. R. D. C. L., Martins, M. L., Martins, E. M. F., Ramos, A. M., 2014, Minimally processed yellow melon enriched with probiotic bacteria, *Semina: Ciências Agrárias*, 35(5):2415–2425. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n5p2415>
- Orozco-Parra, J., Mejía, C. M., ve Villa, C. C., 2020, Development of a bioactive synbiotic edible film based on cassava starch, inulin, and *Lactobacillus casei*, *Food Hydrocolloids*, 104, 105754. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105754>
- Panahirad, S., Dadpour, M., Peighambaroust, S. H., Soltanzadeh, M., Gullón, B., Alirezalu, K., ve Lorenzo, J. M., 2021, Applications of carboxymethyl cellulose- and pectin-based active edible coatings in preservation of fruits and vegetables: A review, *Trends in Food Science and Technology*, 110(November 2020), 663–673. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.025>
- Pandhi, S., Kumar, A., ve Alam, T., 2019, Probiotic edible films and coatings: concerns, applications and future prospects, *Journal of Packaging Technology and Research*, 3(3), 261–268. <https://doi.org/10.1007/s41783-019-00069-6>
- Pavli, F., Tassou, C., Nychas, G. E., ve Chorianopoulos, N., 2018, Probiotic incorporation in edible films and coatings: bioactive solution for functional foods, *Int J Mol Sci.*, Jan 4;19(1):150. doi: 10.3390/ijms19010150. PMID: 29300362; PMCID: PMC5796099.
- Pei, J., Palanisamy, C. P., Srinivasan, G. P., Panagal, M., Kumar, S. S. D., ve Mironescu, M., 2024, A comprehensive review on starch-based sustainable edible films loaded with bioactive components for food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, 274(P1), 133332. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133332>
- Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Gonçalves, E. M., ve Silva, C. L. M., 2013, Kinetics of changes in the physical quality parameters of fresh tomato fruits (*Solanum lycopersicum*, cv. 'Zinac') during storage, *Journal of Food Engineering*, 114(3), 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.024>
- Pop, O. L., Pop, C. R., Dufrechou, M., Vodnar, D. C., Socaci, S. A., Dulf, F. V., Minervini, F., ve Suharoschi, R., 2020, Edible films and coatings functionalization by probiotic incorporation: A review, *Polymers*, 12(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/polym12010012>

- Prakoso, F. A. H., Indiarto, R., ve Utama, G. L., 2023, Edible Film Casting Techniques and Materials and Their Utilization for Meat-Based Product Packaging, *Polymers*, 15(13). <https://doi.org/10.3390/polym15132800>
- Qin, S., Sun, H., Wan, X., Wu, Y., Lin, X., Kan, H., Hou, D., Zheng, Z., He, X., ve Liu, C., 2023, Carboxymethylcellulose reinforced starch films and rapid detection of spoiled beverages. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10(January), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1099118>
- Rahman, M. S., Hasan, M. S., Nitai, A. S., Nam, S., Karmakar, A. K., Ahsan, M. S., Shiddiky, M. J. A., ve Ahmed, M. B., 2021, Recent developments of carboxymethyl cellulose, *Polymers*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/polym13081345>
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., ve Martin-Belloso, O., 2013, Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes, *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.021>
- Rocha, A. M. C. N., ve Morais, A. M. M. B., 2002, Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed “Jonagored” apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(1), 120–126. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1006>
- Romano, N., Tavera-quiros, M. J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., ve Gómez-zavaglia, A., 2014, Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria, *FRIN*, 64, 560–566. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.018>
- Rößle, C., Brunton, N., Gormley, R. T., Ross, P. R., ve Butler, F., 2010, Development of potentially synbiotic fresh-cut apple slices, *Journal of Functional Foods*, 2(4), 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2010.09.001>
- Šešlija, S., Nešić, A., Škorić, M. L., Krušić, M. K., Santagata, G., ve Malinconico, M., 2018, Pectin/carboxymethylcellulose films as a potential food packaging material. *Macromolecular Symposia*, 378(1), 1–5. <https://doi.org/10.1002/masy.201600163>
- Shahrampour, D., Khomeiri, M., Razavi, S. M. A., ve Kashiri, M., 2020, Development and characterization of alginate/pectin edible films containing *Lactobacillus plantarum* KMC 45, *LWT*, 118(October 2019), 108758. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108758>
- Silva, S. P. M., Ribeiro, S. C., ve Silva, C. G., 2022, Application of an alginate-based edible coating with bacteriocin-producing *Lactococcus* strains in fresh cheese preservation, *LWT - Food Science and Technology*, 153, 112486. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112486>
- Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Yonekura, L., Parmenter, C., ve Fisk, I. D., 2014, Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. *Food Chemistry*,

159, 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.008>

- Speranza, B., Campaniello, D., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., ve Corbo, M. R., 2018, Viability of *Lactobacillus plantarum* on Fresh-Cut Chitosan and Alginate-Coated Apple and Melon Pieces, *Frontiers in microbiology*, 9, 2538. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02538>.
- Sun, H., Hao, D., Tian, Y., Huang, Y., Wang, Y., Qin, G., Pei, J., ve Abd El-Aty, A. M., 2022, Effect of Chitosan/Thyme Oil Coating and UV-C on the Softening and Ripening of Postharvest Blueberry Fruits, *Foods*, 11(18), 2795. <https://doi.org/10.3390/foods11182795>
- Tahir, H. E., Zhihua, L., Mahunu, G. K., Xiaobo, Z., Arslan, M., Xiaowei, H., Yang, Z., ve Mariod, A. A., 2020, Effect of gum arabic edible coating incorporated with African baobab pulp extract on postharvest quality of cold stored blueberries, *Food Science and Biotechnology*, 29(2), 217–226. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00659-9>
- Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Rodríguez, F. J., Ramírez, J., Carmona, A., ve Martín-Belloso, O., 2007, Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits, *Journal of Food Science*, 72(4), 190–196. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00318.x>
- Tavera-quiros, M. J., Romano, N., ve Mobili, P., 2015, Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing *Lactobacillus plantarum*, *Journal of Functional Foods*, 16, 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.024>
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., ve Kopsahelis, N., 2019, Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value, *Nutrients*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
- Tran, T. T. V., Nguyen, N. N., Nguyen, Q. D., Nguyen, T. P., ve Lien, T. N., 2023, Gelatin/carboxymethyl cellulose edible films: modification of physical properties by different hydrocolloids and application in beef preservation in combination with shallot waste powder, *RSC Advances*, 13(15), 10005–10014. <https://doi.org/10.1039/d3ra00430a>
- Tumbariski, Y. D., Todorova, M. M., Topuzova, M. G., Georgieva, P. I., Petkova, N. T., ve Ivanov, I. G., 2022, Postharvest biopreservation of fresh blueberries by propolis-containing edible coatings under refrigerated conditions, *Current Research in Nutrition and Food Science*, 10(1), 99–112. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.10.1.08>
- Valdés, A., Burgos, N., Jiménez, A., ve Garrigós, M. C., 2015, Natural pectin polysaccharides as edible coatings, *Coatings*, 5(4), 865–886. <https://doi.org/10.3390/coatings5040865>
- Viacava, G. E., Roura, S. I., ve Agüero, M. V., 2015, Optimization of critical parameters

- during antioxidants extraction from butterhead lettuce to simultaneously enhance polyphenols and antioxidant activity, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 146, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2015.05.002>
- Yang, L., Xi, Y., Luo, X. Y., Ni, H., ve Li, H. H., 2019, Preparation of peroxidase and phenolics using discarded sweet potato old stems, *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40568-9>
- Yao, Y., Sun, Z., Li, X., Tang, Z., Li, X., Morrell, J. J., Liu, Y., Li, C., ve Luo, Z., 2022, Effects of Raw Material Source on the Properties of CMC Composite Films, *Polymers*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.3390/polym14010032>
- Yaradoddi, J. S., Banapurmath, N. R., Ganachari, S. V., Soudagar, M. E. M., Mubarak, N. M., Hallad, S., Hugar, S., ve Fayaz, H., 2020, Biodegradable carboxymethyl cellulose based material for sustainable packaging application, *Scientific Reports*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78912-z>
- Yöntem, M. ve Ünaldı, M., 2018, *Biyokimya*, İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Zabihollahi, N., Alizadeh, A., Almasi, H., Hanifian, S., ve Hamishekar, H., 2020, Development and characterization of carboxymethyl cellulose based probiotic nanocomposite film containing cellulose nanofiber and inulin for chicken fillet shelf life extension, *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 409–417. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.066>
- Zhang, S., Wei, F., ve Han, X., 2018, An edible film of sodium alginate/pullulan incorporated with capsaicin, *New Journal of Chemistry*, 42(21), 17756–17761. <https://doi.org/10.1039/C8NJ04249G>

EKLER

EK-1 Sonuçlara ait varyans analiz tabloları

Çizelge 1. Filmlerin kalınlık, nem, şişme derecesi, renk ve opaklık değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı	Sd	Kt	Ko	F	P
Kalınlık	4	0,001	0,000	4,582	0,009**
Nem	4	12,738	3,184	1,409	0,290
Şişme derecesi	4	8709,957	2177,489	11,071	0,001**
L*	4	11485,043	2871,261	3,359	0,029*
a*	4	0,050	0,012	2,459	0,088
b*	4	0,358	0,090	41,870	0,000***
ΔE	4	1,416	0,354	16,250	0,000***
Opaklık	4	22,308	5,577	214,376	0,000***

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 2. Filmlerin su tutma kapasitesi değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı	Sd	Kt	Ko	F	p
Örnek (A)	4	10,903	2,726	120,264	0,000***
Saat (B)	4	105,028	26,257	1158,452	0,000***
AXB	16	3,741	0,234	10,316	0,000***
Hata	50	1,133	0,023		

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 3. Filmlerin probiyotik tutma kapasitesi değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı	Sd	Kt	Ko	F	p
Gün					
Lp	3	168,122	56,041	6302,257	0,000***
LpIN	3	178,654	59,551	8539,323	0,000***
Bf	3	136,017	45,339	550,367	0,000***
BfFOS	3	184,741	61,580	533,190	0,000***
Örnek					
0. gün	1	1,607	1,607	12,634	0,024*
1. gün	3	13,667	4,556	72,596	0,000***
3. gün	3	55,626	18,542	780,626	0,000***
5. gün	-	-	-	-	-

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 4. Filmlerin antimikrobiyal aktivite değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı	Sd	Kt	Ko	F	p
<i>E. coli</i>	4	4,053	1,013	11,823	0,001**
<i>S. aureus</i>	4	38,569	9,642	228,343	0,000***

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 5. Gıdada probiyotik canlılık değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
Probiyotik canlılık	Lp	2	0,003	0,001	0,204	0,821
	LpIN	2	0,218	0,109	10,065	0,012*
	Bf	2	0,126	0,063	1,551	0,286
	BfFOS	2	2,004	1,002	44,690	0,000***

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 6. *Lb. plantarum* ikameli film uygulamasında gıda örneklerindeki YM sayısı varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
Gün	Kontrol	2	1,673	0,836	22,701	0,002**
	Lp	2	6,629	3,315	106,661	0,000***
	LpIN	2	2,122	1,061	79,063	0,000***
Örnek	1. gün	2	0,102	0,051	1,226	0,358
	3. gün	2	5,242	2,621	13,220	0,006**
	5. gün	3	0,751	0,250	7,418	0,011*

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 7. *B. animalis* ikameli film uygulamasında gıda örneklerindeki YM sayısı varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
Gün	Kontrol	2	0,739	0,370	8,990	0,016*
	Bf	-	-	-	-	-
	BfFOS	2	1,209	0,604	19,844	0,002**
Örnek	1. gün	-	-	-	-	-
	3. gün	-	-	-	-	-
	5. gün	2	2,074	1,037	21,947	0,002**

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 8. *Lb. plantarum* ikameli film uygulamasında gıda örneklerindeki PSI sayısı varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
Gün	Kontrol	2	0,010	0,005	0,729	0,521
	Lp	2	0,268	0,134	4,714	0,059
	LpIN	2	0,405	0,202	18,916	0,003**
Örnek	1. gün	2	0,168	0,084	2,215	0,190
	3. gün	2	0,118	0,059	91,525	0,000***
	5. gün	3	12,333	4,111	535,803	0,000***

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 9. *B. animalis* ikameli film uygulamasında gıda örneklerindeki PSI sayısı varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
Gün	Kontrol	2	0,670	0,335	3,973	0,080
	Bf	-	-	-	-	-
	BfFOS	2	0,343	0,172	46,676	0,000***
Örnek	1. gün	-	-	-	-	-
	3. gün	-	-	-	-	-
	5. gün	3	19,289	6,430	447,459	0,000***

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 10. Probiyotik film uygulamasında gıda örneklerinin enzim aktivitesi değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
<i>Lb. plantarum</i> uygulanmış örnek grupları	PPO	3	0,008	0,003	516,322	0,000***
	POD	3	0,000	0,000	10,861	0,003**
	CAT	3	0,000	0,000	36,999	0,000***
	SOD	3	0,000	0,000	48,572	0,000***
<i>B. animalis</i> uygulanmış örnek grupları	PPO	3	0,045	0,015	299,458	0,000***
	POD	3	0,000	0,000	75,956	0,000***
	CAT	3	0,000	0,000	27,049	0,000***
	SOD	3	0,000	0,000	3,083	0,090

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 11. Probiyotik film uygulamasında gıda örneklerine ait renk değerleri varyans analiz sonuçları

Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p	
<i>Lb. plantarum</i> uygulanmış örnek grupları	1. gün	L*	3	8,972	2,991	9,250	0,006**
		a*	3	0,505	0,168	2,302	0,154
		b*	3	1,698	0,566	30,838	0,000***
	3. gün	L*	3	20,786	6,929	1,760	0,232
		a*	3	0,571	0,190	4,166	0,047*
		b*	3	9,245	3,082	51,634	0,000***
	5. gün	L*	3	8,371	2,790	0,548	0,663
		a*	3	2,720	0,907	41,002	0,000***
		b*	3	1,533	0,511	1,231	0,360
<i>B. animalis</i> uygulanmış örnek grupları	1. gün	L*	3	31,009	10,336	1,901	0,208
		a*	3	0,653	0,218	1,199	0,370
		b*	3	8,234	2,745	7,343	0,011*
	3. gün	L*	3	178,408	59,469	54,205	0,000***
		a*	3	5,363	1,788	4,492	0,040*
		b*	3	14,268	4,756	7,021	0,012*
	5. gün	L*	3	67,949	22,650	3,075	0,091
		a*	3	1,629	0,543	4,540	0,039*
		b*	3	0,535	0,178	1,071	0,414

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 12. Probiyotik film uygulamasında gıda örneklerindeki pH ve ağırlık kaybı değerleri varyans analiz sonuçları

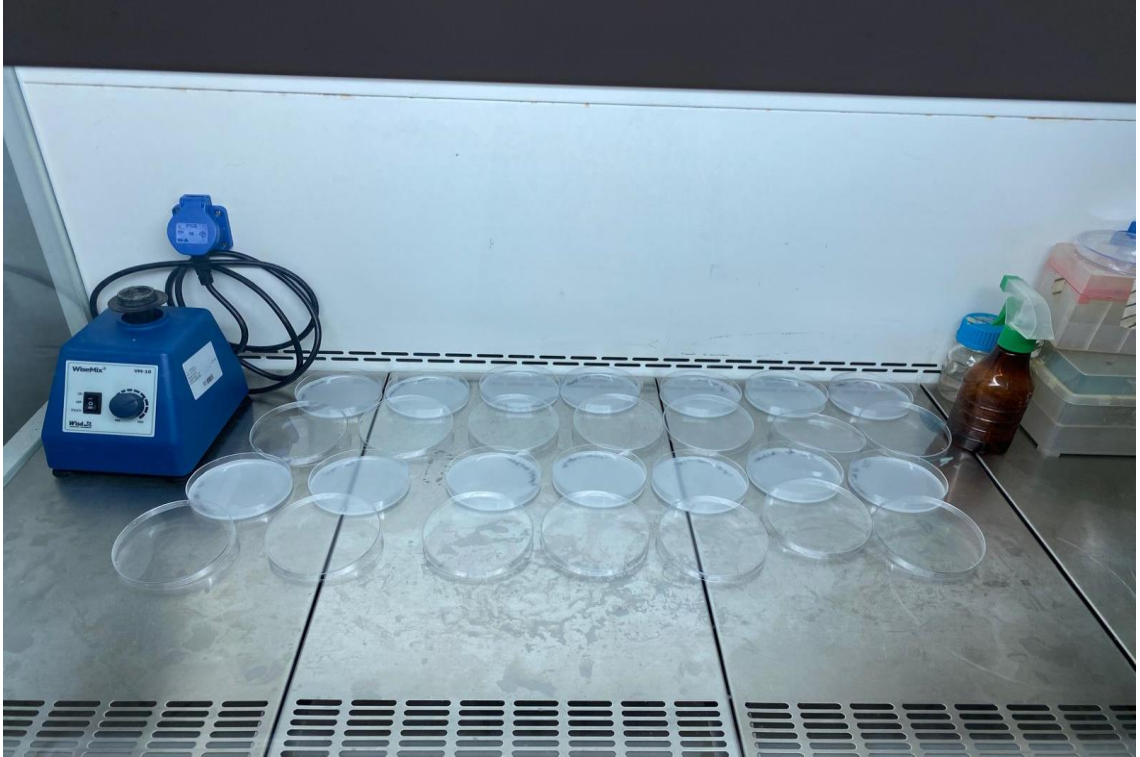
Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
<i>Lb. plantarum</i> uygulanmış örnek grupları	pH	4	0,551	0,138	2,329	0,127
	Ağırlık kaybı (%)	3	358,541	119,514	48,602	0,000***
<i>B. animalis</i> uygulanmış örnek grupları	pH	4	0,038	0,009	0,324	0,856
	Ağırlık kaybı (%)	3	0,129	0,043	3,665	0,063

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

Çizelge 13. Probiyotik film uygulamasında gıda örneklerindeki antioksidan aktivite ve fenolik içerik değerleri varyans analiz sonuçları

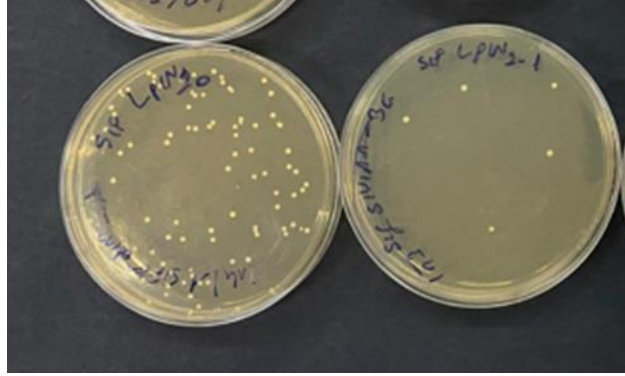
Varyansın kaynağı		Sd	Kt	Ko	F	p
<i>Lb. plantarum</i> uygulanmış örnek grupları	DPPH	3	1,093	0,364	42,799	0,000***
	ABTS	3	9,243	3,081	5,351	0,026*
	Fenolik içerik	3	0,904	0,301	77,258	0,000***
<i>B. animalis</i> uygulanmış örnek grupları	DPPH	3	1,420	0,473	107,679	0,000***
	ABTS	3	38,308	12,769	1483,285	0,000***
	Fenolik içerik	3	0,306	0,102	6,980	0,013*

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05

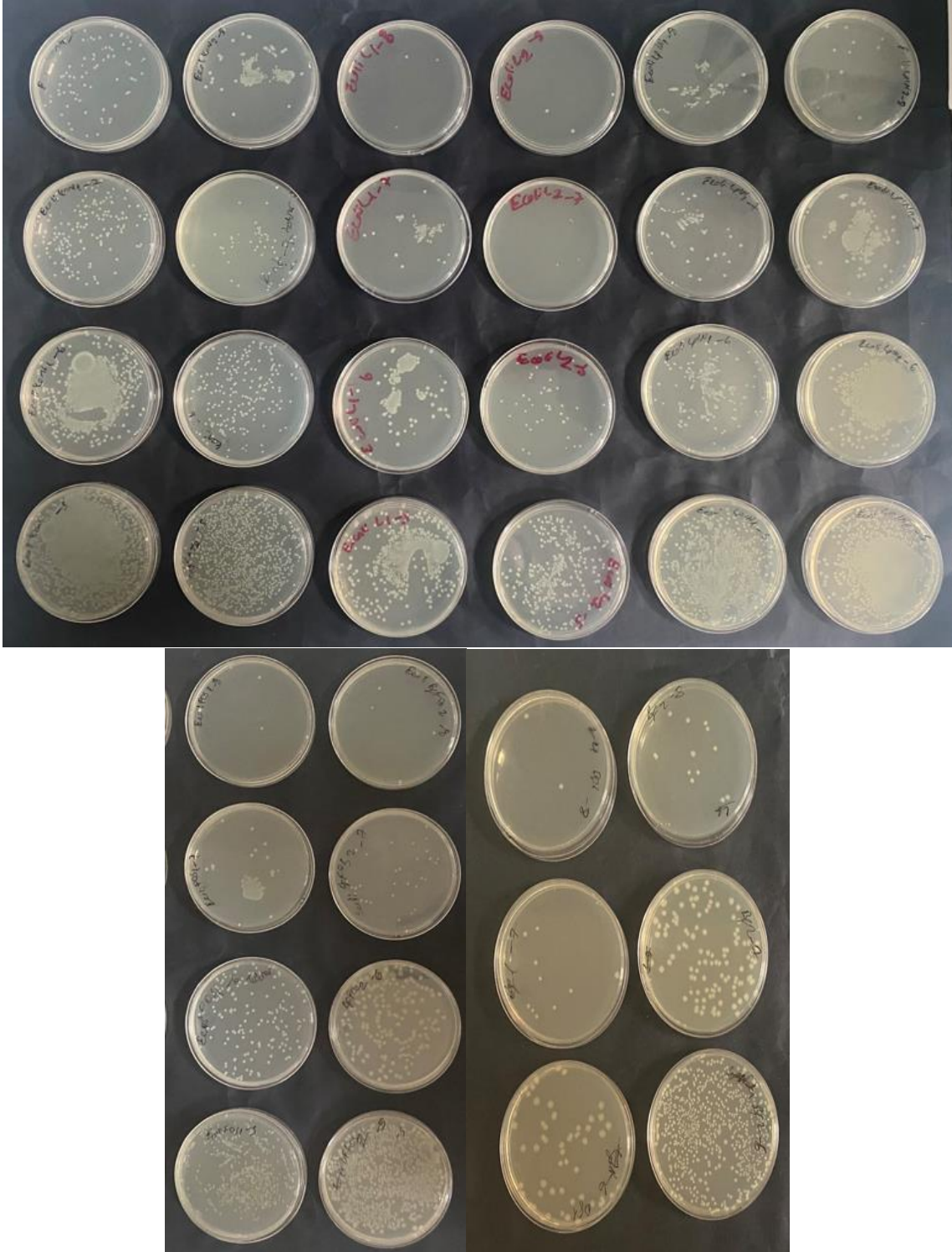
EK-2 Deneysel çalışmalar esnasında kaydedilen görüntüler**Şekil 1.** Film çözeltilerinin hazırlanması ve gıdaya uygulanması**Şekil 2.** Film örneklerinin steril kabinde kurutulması



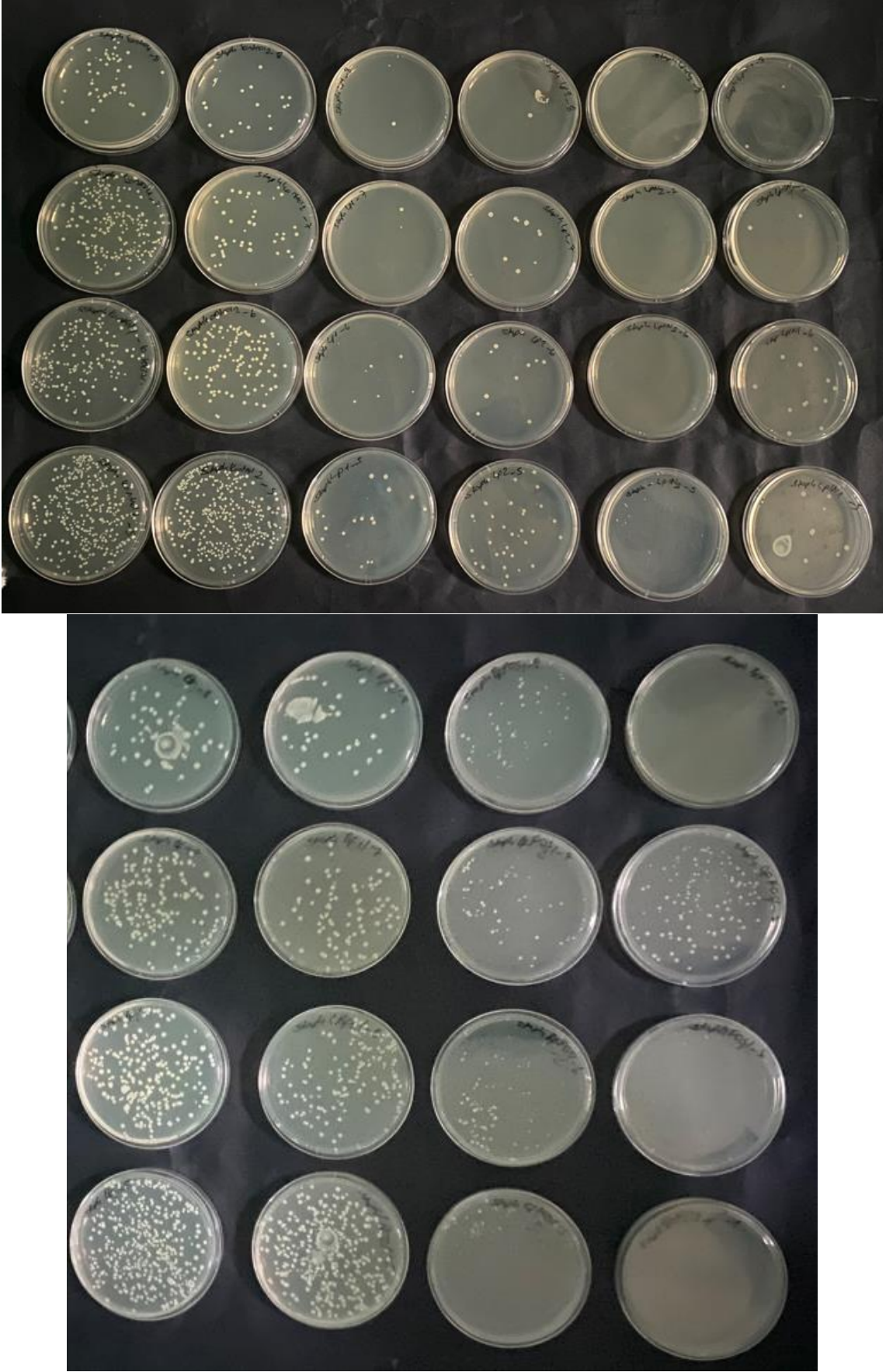
Şekil 3. Probiyotik bakterilerin anaerobik koşullarda büyütülmesi



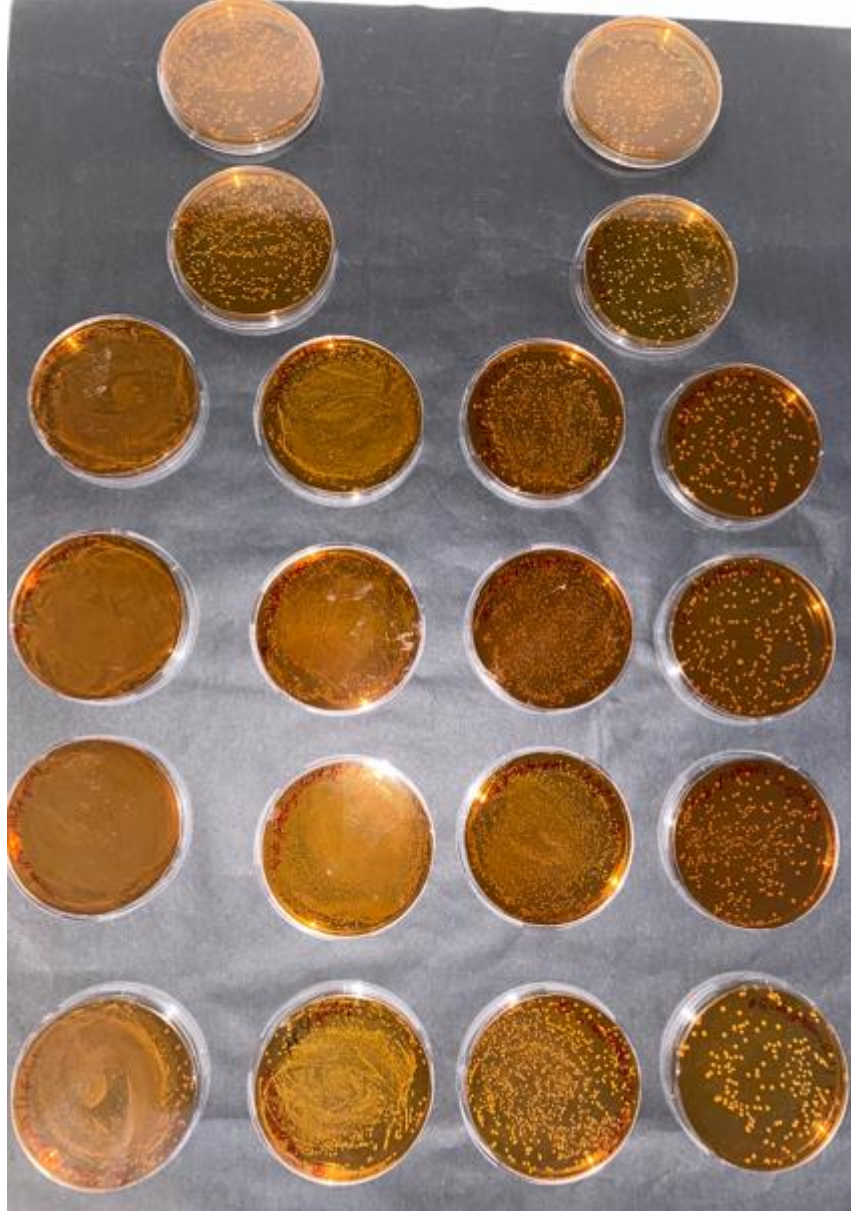
Şekil 4. Film örneklerinin sindirim sonrası probiyotik canlı sayım sonucu



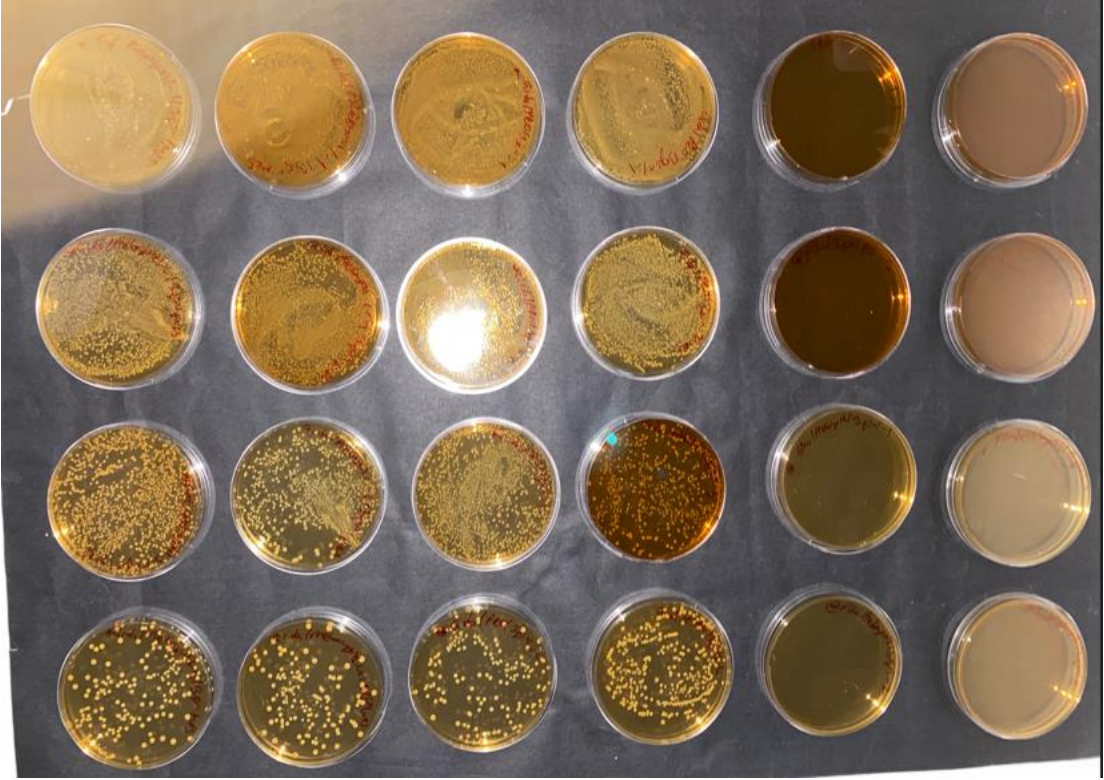
Şekil 5. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite testlerinde *E. coli* sayım sonuçları



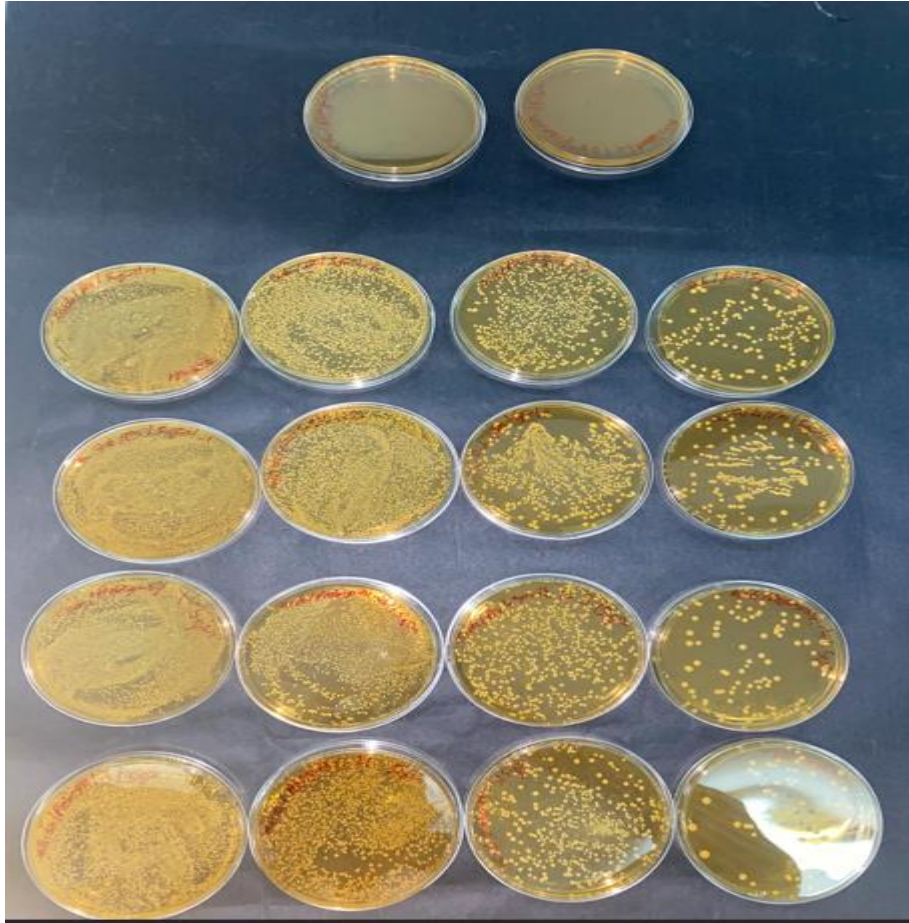
Şekil 6. Film örneklerinin antibakteriyel aktivite testlerinde *S. aureus* sayım sonuçları



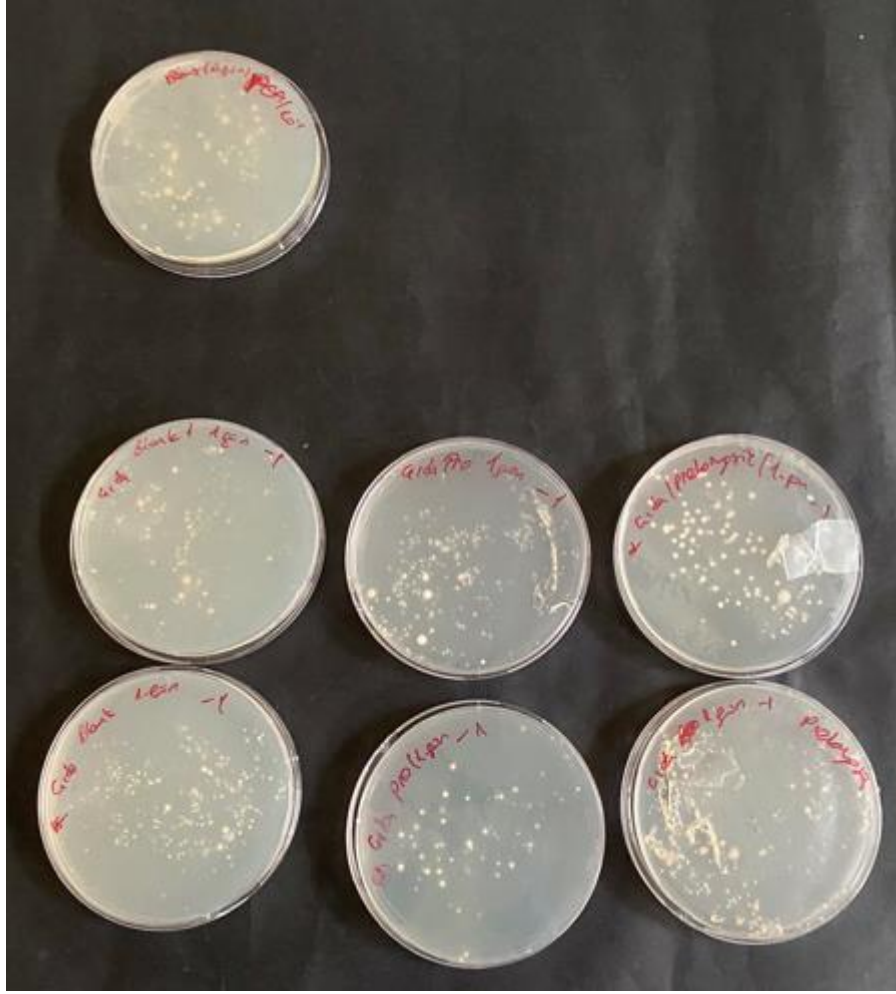
Şekil 7. Film ve gıda örneklerinde *Lb. plantarum* sayılarının tespiti (depolama 1. gün)



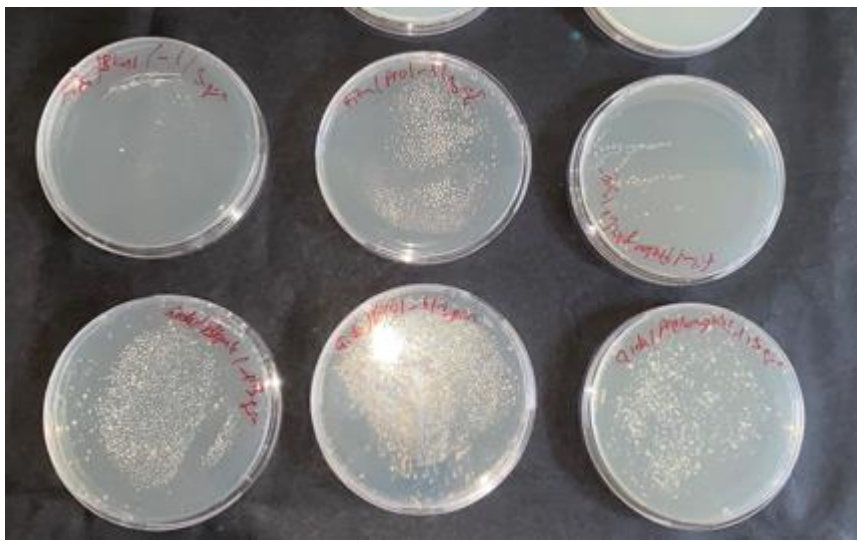
Şekil 8. Film ve gıda örneklerinde *Lb. plantarum* sayılarının tespiti (depolama 3. gün)



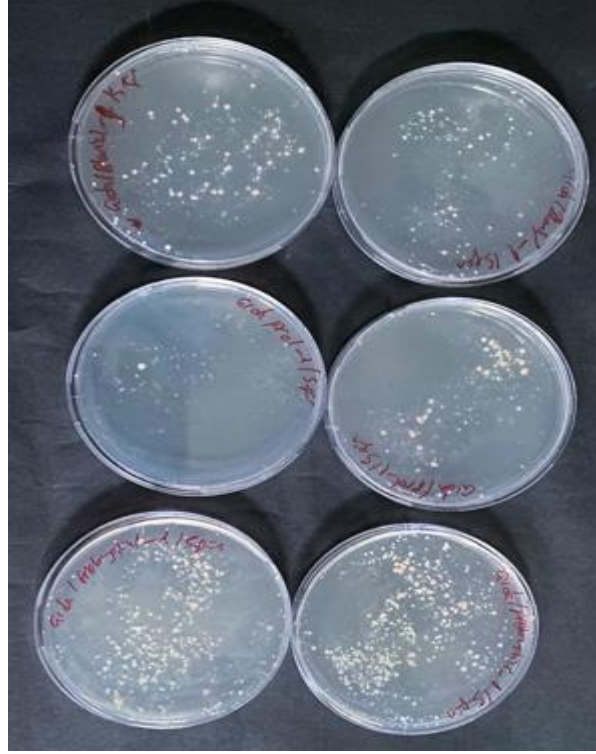
Şekil 9. Film ve gıda örneklerinde *Lb. plantarum* sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



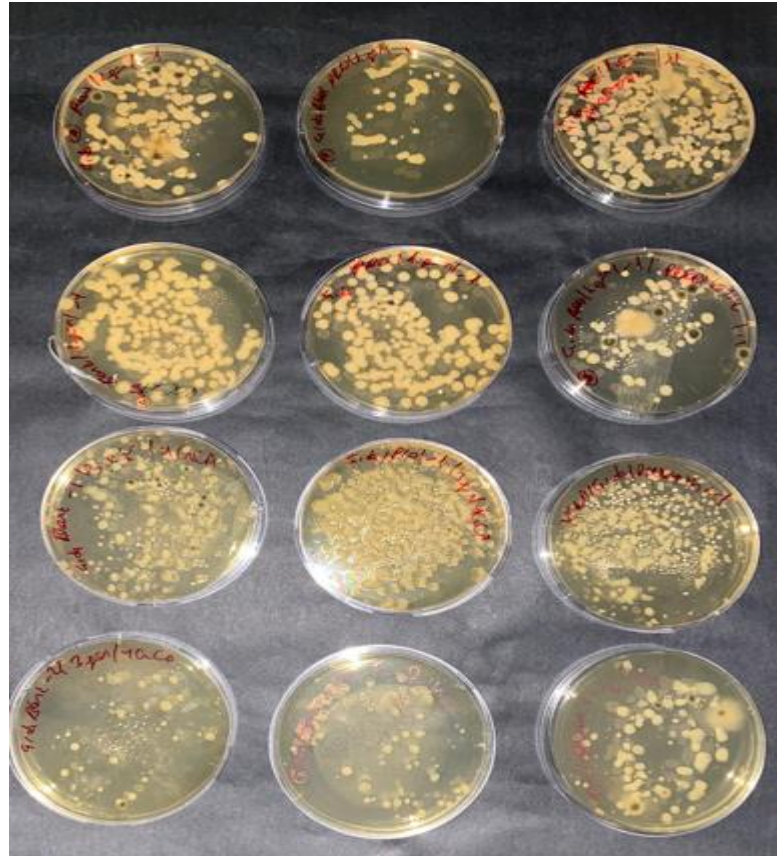
Şekil 10. LAB ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde psikrofil canlı sayılarının tespiti (depolama 1. gün)



Şekil 11. LAB ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde psikrofil canlı sayılarının tespiti (depolama 3. gün)



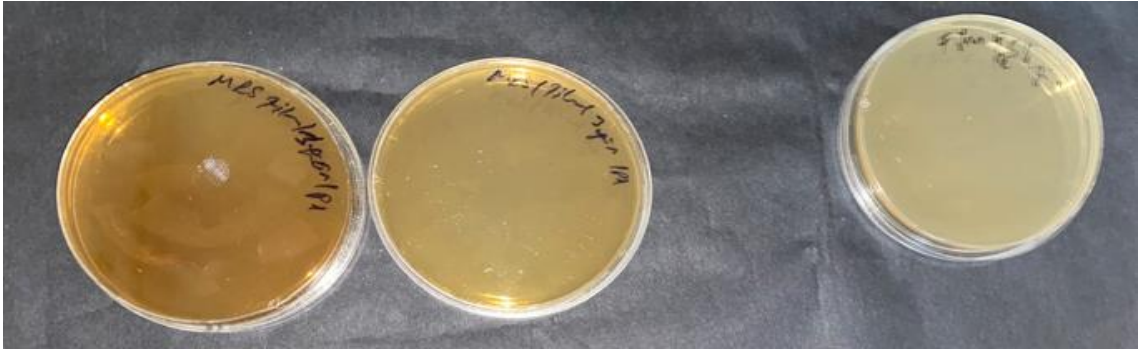
Şekil 12. LAB ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde psikrofil canlı sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



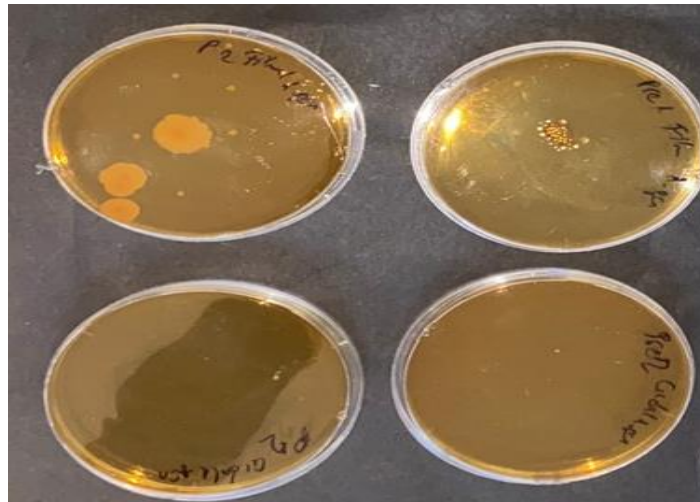
Şekil 13. LAB ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde küf-maya canlı sayılarının tespiti (depolama 1. ve 3. gün)



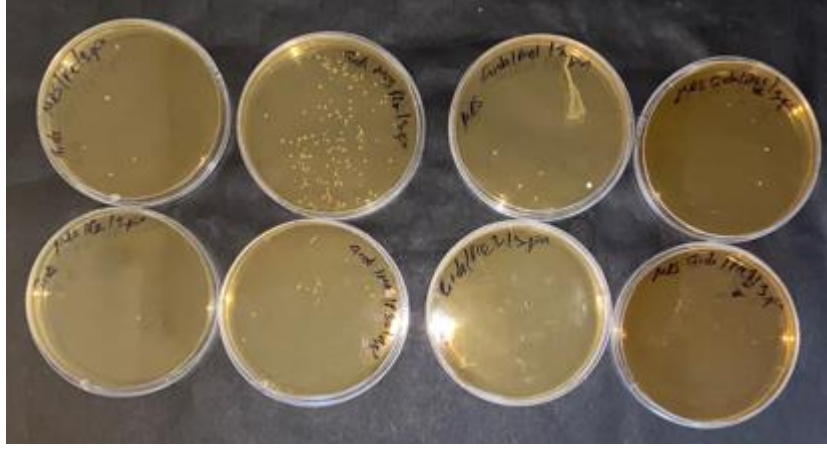
Şekil 14. LAB ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde küf-maya canlı sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



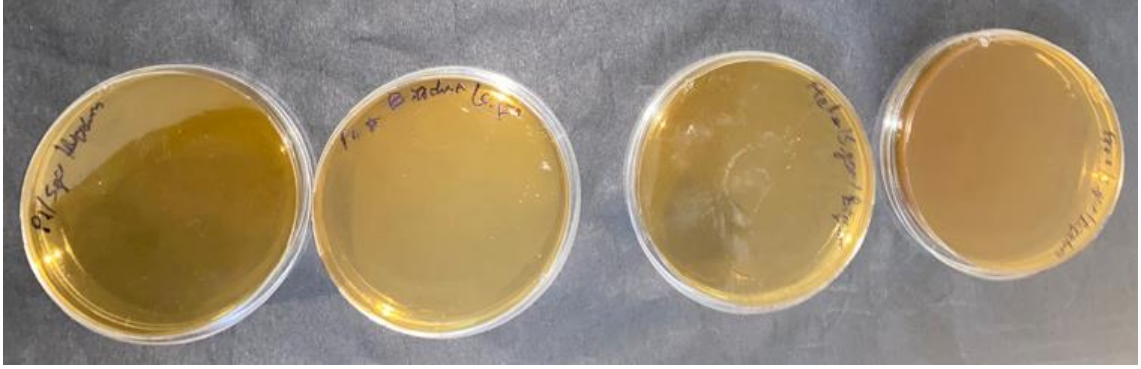
Şekil 15. Film örneklerinde *B. animalis* sayılarının tespiti (depolama 1. ve 3. gün)



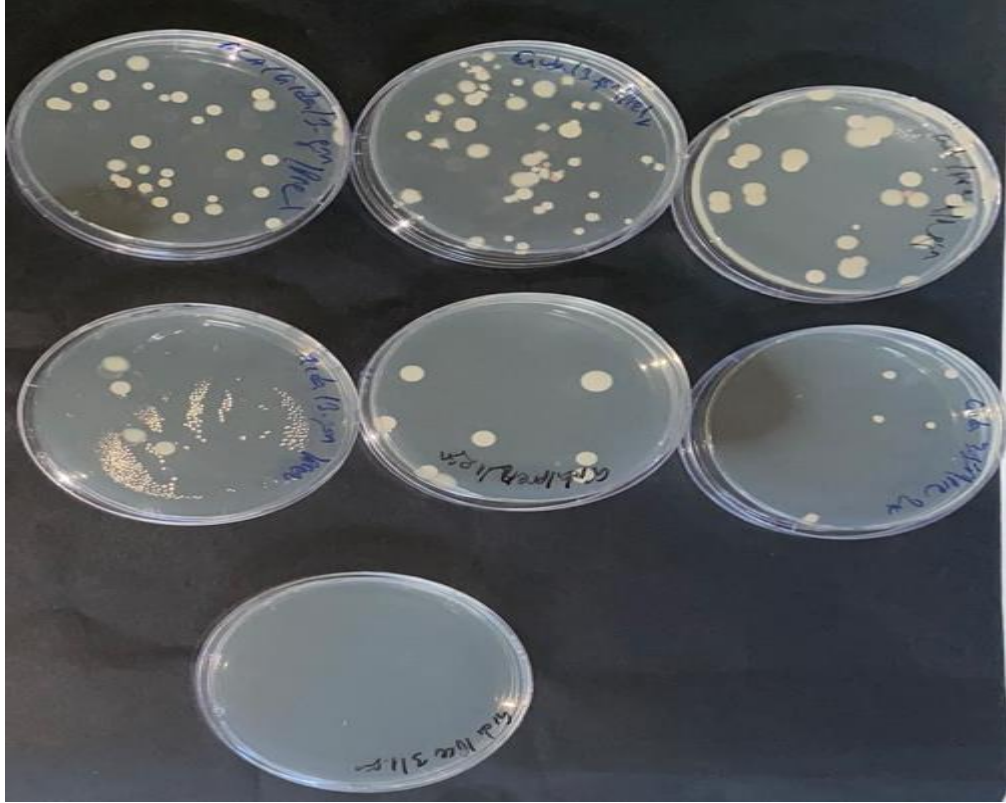
Şekil 16. Gıda örneklerinde *B. animalis* sayılarının tespiti (depolama 1. gün)



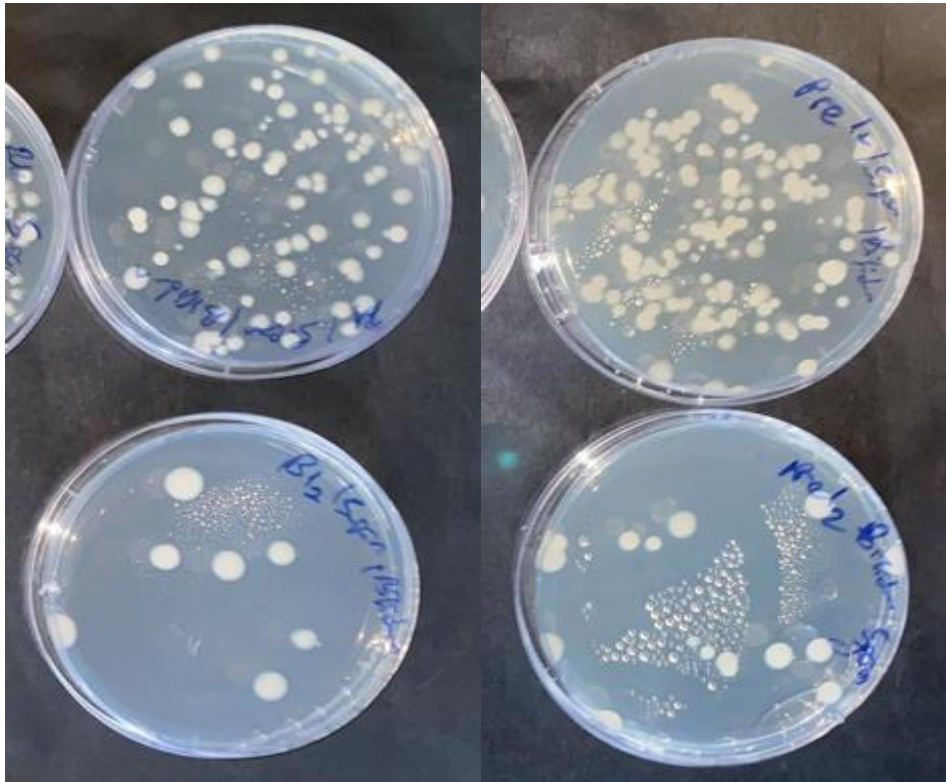
Şekil 17. Gıda örneklerinde *B. animalis* sayılarının tespiti (depolama 3. gün)



Şekil 18. Gıda örneklerinde *B. animalis* sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



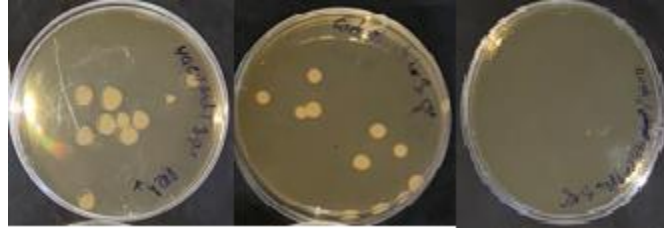
Şekil 19. *B. animalis* ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde psikrofil canlı sayılarının tespiti (depolama 1. ve 3. gün)



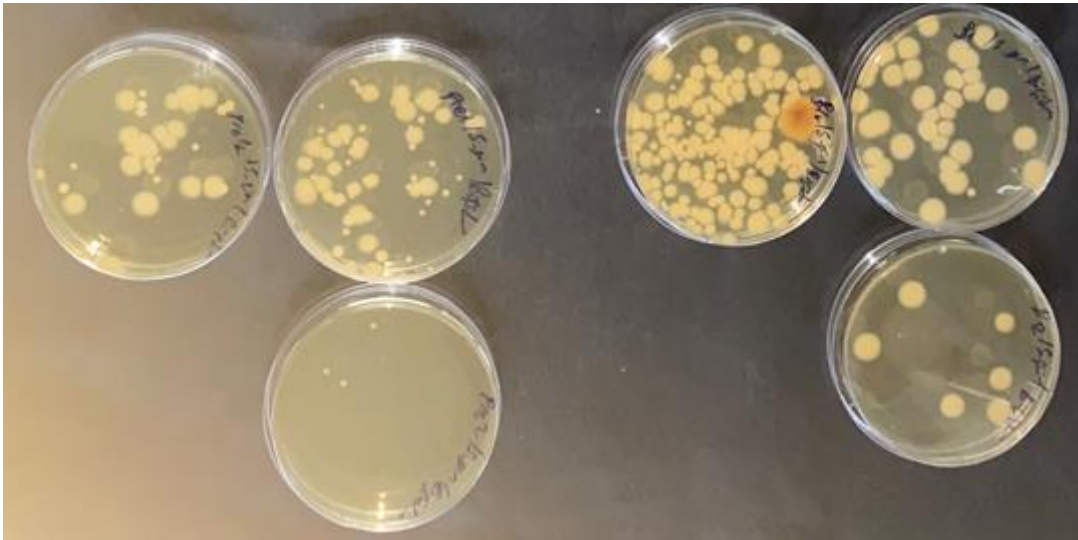
Şekil 20. *B. animalis* ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde psikrofil canlı sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



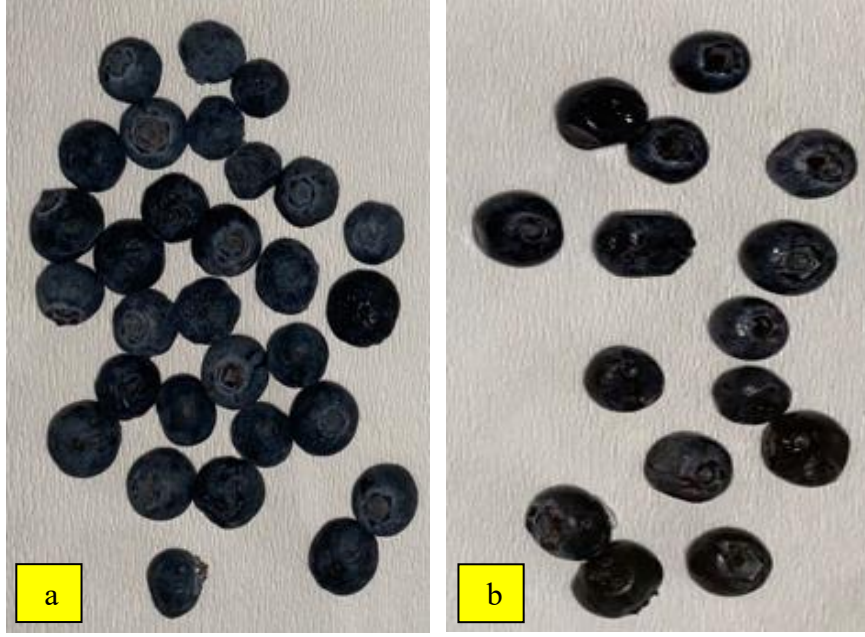
Şekil 21. *B. animalis* ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde küf-maya canlı sayılarının tespiti (depolama 1. gün)



Şekil 22. *B. animalis* ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde küf-maya canlı sayılarının tespiti (depolama 3. gün)



Şekil 23. *B. animalis* ikameli filmlerle kaplı gıda örneklerinde küf-maya canlı sayılarının tespiti (depolama 5. gün)



Şekil 24. Kaplanmamış (a) ve CMC-Nişasta Kontrol film ile kaplanmış (b) gıda örnekleri