

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KEKİK VE BİBERİYE YAĞLARIYLA ZENGİNLEŞTİRİLEN KİTOSAN
ÇÖZELTİLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTESİ VE
SOĞUKTA DEPOLANAN PİLİÇ GÖĞÜS ETİ KALİTESİNE ETKİLERİ**

Ayşe Ayça BAYKAL

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KEKİK VE BİBERİYE YAĞLARIYLA ZENGİNLEŞTİRİLEN KİTOSAN ÇÖZELTİLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTESİ VE SOĞUKTA DEPOLANAN PİLİÇ GÖĞÜS ETİ KALİTESİNE ETKİLERİ

Ayşe Ayça BAYKAL

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Çalışmanın amacı, kitosan ve kekik ve biberiye yağları ile zenginleştirilen kitosan çözeltilerinin antioksidan ve antibakteriyal aktivitelerini ve buzdolabı sıcaklığında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) 15 gün depolanan piliç göğüs eti kalitesine etkisini belirlemektir. Göğüs eti %1 kitosan (C) %1 kitosan + %1 kekik yağı (CT) ve %1 kitosan + %1 biberiye yağı (CR) çözeltilerine daldırılmış mikrobiyolojik ve oksidatif değişimler kaplanmamış kontrol (K) örneklerle karşılaştırılmıştır.

Kitosan çözeltisine kekik yağı ilavesi çözeltinin a^* , b^* renk değerinde ve opaklık değerinde önemli artışa, L^* değerinde ise azalışa neden olmuştur. En yüksek antioksidan aktivite ve antibakteriyal aktivite, kitosan-kekik yağı içeren çözeltide belirlenmiştir. CT gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyal aktivite gösterirken C ve CR çözeltilerinde daha düşük antioksidan aktivite görülmüş, antibakteriyal aktivite ise gözlenmemiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı (3.01 mg gae/ml), DPPH radikal inhibisyon yüzdesi (%72.8) ve FRAP değeri (1.38 mg TE/ml) CT çözeltisinde saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında C, CT ve CR ile kaplama, tavuk etinin pH değerinin ve tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) değerinin önemli düzeyde düşük kalmasına neden olmuştur. Depolama sonunda (15. gün) kontrol örneklerin pH değeri, kaplanmış örneklerin pH değerlerinden 0.75-0.92 birim daha yüksek olmuştur. TBARM sonuçları, CT ile kaplamanın üretim sonunda önemli düzeyde daha düşük malonaldehit oluşturduğunu (0.11 mg/kg) ortaya koymuştur. Mikrobiyolojik sonuçlar, kitosan çözeltileri ile kaplamanın tavuk etinde depolama boyunca, toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) ve toplam psikrotrofik bakteri (TAPB) çoğalmasında önemli düzeyde baskılandığını göstermiştir. Depolama sonunda, CT önemli düzeyde daha düşük TAMB ve TAPB sayılarına sahip olmuştur (sırasıyla 4.74 ve 4.65 log kob/g). Diğer yandan, kontrol örneklerin TAMB ve TAPB sayıları 6 günde 7.46 ve 6.93 log kob/g düzeylerine ulaşmıştır. Bu sonuçlara göre, kekik yağı ile zenginleştirilen kitosan çözeltisi ile kaplama, buzdolabı sıcaklığında depolanan tavuk göğüs etinin depolama süresini 15 güne uzatmaktadır.

Temmuz 2022, 90 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kitosan, kekik yağı, biberiye yağı, antioksidan aktivite, antibakteriyal aktivite, tavuk göğüs eti, soğuk depolama

ABSTRACT

Master Thesis

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CHITOSAN COATING SOLUTIONS ENRICHED WITH THYME AND ROSEMARY OILS AND THEIR EFFECTS ON THE QUALITY OF CHICKEN BREAST MEAT DURING CHILLED STORAGE

Ayşe Ayça BAYKAL

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

The purpose of the study was to investigate antioxidative and antibacterial activity of chitosan solutions enriched with or without thyme oil and rosemary oil and their effect on microbial and antioxidative quality of chicken breast meat during refrigerated storage ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) for 15 days. Chicken breast meat was dipped into 1% chitosan (C) solution, 1% chitosan and 1% thyme essential oil (EO) (CT), 1% chitosan and 1% rosemary EO (CR) enriched solutions and the changes in the quality of breast meat were compared with uncoated control samples (K).

The addition of thyme EO into chitosan solution significantly increased the a^* and b^* values and opacity, and decreased L^* value. Among chitosan and chitosan EO solutions, CT possessed both antioxidant and antibacterial activity. CT was found to be antibacterial against some foodborne pathogens. The highest total phenolic content (3.01 mg gae/ml), percentage inhibition of DPPH radical (72.8%) and FRAP value (1.38 mg TE/ml) were observed in CT solution. On the other hand, no antibacterial activity and low antioxidant activity were detected for the C and CR coating solutions. Coating with C, CT and CR significantly reduced pH and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) of breast meat comparing to control samples. The pH of the control samples on the 15th day was 0.75 to 0.92 units higher than the pH values of the coated groups. Results of the TBARS revealed that the sample coating with CT had significantly the lowest value with 0.11 mg MDA/kg at the end of storage. Microbial results showed that coating significantly suppressed the growth of total viable counts and psychrotrophic bacteria counts during storage. CT significantly had the lowest total viable and psychrotrophic counts (4.74 and 4.65 log cfu/g, respectively) at the end of storage. On the other hand, total viable and psychrotrophic counts with the control group on the 6th day were 7.46 and 6.93 log cfu/g, respectively. Thus, chitosan coatings enriched with EO of thyme can preserve the quality of chicken breast meat in refrigerated storage for at least 15 days.

July 2022, 90 pages

Key Words: Chitosan, thyme oil, rosemary oil, antioxidant activity, antibacterial activity, chicken breast, refrigerated storage

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimiyle yolumu aydınlatan, zorlandığım her an ulaşabildiğim ve her zaman desteğini gördüğüm; anlayışlı ve fedakar davranışlarıyla çalışmamı kolaylaştıran değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayla SOYER'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), laboratuvar olanaklarından faydalandığım Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a ve Sayın Doç. Dr. Eda DEMİROK SONCU'ya, antimikrobiyal analizlerimin gerçekleştirilmesinde desteklerini esirgemeyen ve her zaman samimiyetle yardımcı olan Sayın Dr. Simel BAĞDER ELMACI'ya, analizlerim sürecinde çeşitli aşamalarda yardımlarını gördüğüm Sayın Arş. Grv. Betül ARSLAN ve Sayın Arş. Grv. Fatmagül HAMZAOĞLU'na, çalışma ortamını paylaştığım yüksek lisans öğrencisi Ali Mekarim Özgür'e içtenlikle teşekkür ederim. Ayrıca, antimikrobiyel analiz için *Salmonella* Enteritidis MET S1-660 ve *Salmonella* Typhimurium MET S1-663 suşlarını sağlayan Doç. Dr. Yeşim SOYER'e (ODTÜ Gıda Mühendisliği) teşekkür ederim.

İstatistik analizlerimi gerçekleştiren, her zaman desteğini yanımda hissettiğim ve moralim bozulduğunda sadece bir telefon kadar uzak olduğunu bildiğim lisans öğretimimin bana kazandırdığı çok kıymetli dostum Dr. Fadime Begüm TEPE'ye çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başlama fikrimi verdikleri cesaretle karara dönüştürmemi sağlayan, her zaman beni destekleyen ve daha iyisini başaracağıma inanan, annem Neşe BAYKAL'a, babam Ali Haydar BAYKAL'a ve ablam Aslı GÜNEYLİ'ye, en stresli zamanlarımda moralimi yükselten, varlıkları ile güçlendiğim yeğenlerim Yaman Ege ve Yağız Efe'ye en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Ayşe Ayça BAYKAL

Ankara, Temmuz 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Tavuk Eti	4
2.2 Kitosan	12
2.3 Uçucu Yağlar	19
2.4 Yenilebilir Film ve Kaplamalar ve Et ve Et Ürünlerinde Uygulamaları.....	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	38
3.1 Materyal	38
3.1.1 Piliç eti	38
3.1.2 Kitosan, kekik yağı ve biberiye yağı.....	38
3.2 Yöntem	38
3.2.1 Kaplama çözeltilerinin hazırlanması ve piliç etine uygulanması	38
3.2.2 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinde yapılan analizler	39
3.2.2.1 Opaklık ve renk ölçümü	40
3.2.2.2 Toplam fenolik madde analizi.....	40
3.2.2.3 Antioksidan aktivite analizleri	41
3.2.2.3.1 DPPH radikal temizleme analizi.....	41
3.2.2.3.2 Demir indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP) analizi	41
3.2.2.4 Antimikrobiyal aktivite analizi	42
3.2.3 Piliç etinde yapılan analizler	42
3.2.3.1 Kimyasal bileşim analizleri	42
3.2.3.2 pH analizi	43
3.2.3.3 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) analizi	43
3.2.3.4 Mikrobiyolojik analizler	44
3.2.4 İstatistik analiz	44
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	46

4.1 Kitosan, Kitosan-Kekik Yağı ve Kitosan-Biberiye Yağı Çözeltilerinin Fizikokimyasal, Antioksidan ve Antimikrobiyal Analiz Sonuçları	46
4.1.1 Opaklık ve renk	46
4.1.2 Toplam fenolik madde miktarı	48
4.1.3 Antioksidan aktivite	50
4.1.3.1 DPPH radikal temizleme	51
4.1.3.2 Demir indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP)	53
4.1.4 Antimikrobiyal aktivite	54
4.2 Kekik ve Biberiye Yağlarıyla Zenginleştirilen Kitosan Çözeltilerinin Soğukta Depolanan Piliç Göğüs Eti Kalitesine Etkileri	56
4.2.1 Piliç göğüs eti bileşimi	56
4.2.2 pH değeri	57
4.2.3 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı	60
4.2.4 Mikrobiyal değişim	63
4.2.4.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı	63
4.2.4.2 Toplam aerob psikrotrofik bakteri sayısı	66
5. SONUÇ	70
KAYNAKLAR	72
EKLER	86
EK 1 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri	87
EK 2 C, CT ve CR Çözeltileri ve Daldırma İşlemini ve Antimikrobiyal Aktiviteyi Gösteren Fotoğraflar	88
ÖZGEÇMİŞ	90

SİMGELER DİZİNİ

Co ⁺²	Kobalt
cP	Centipoise
HCl	Hidroklorik asit
kcal	kilokalori
kDa	kilodalton
Mg ⁺²	Magnezyum
NaOH	sodyum hidroksit
Ni ⁺²	Nikel
nm	nanometre
ppm	milyonda bir kısım (parts per million)
Zn ⁺²	Çinko

Kısaltmalar

AB	Avrupa Birliği
BHA	Bütillenmiş hidroksi anizol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
cfu	Koloni oluşturan birim (Colony Forming Unit)
DA	Asetilasyon derecesi
DD	Deasetilasyon derecesi
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, Radikal temizleme aktivitesi
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
FC	Folin Ciocalteu
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FRAP	Demir iyonu indirgeme antioksidan kuvveti (Ferric ion reducing antioxidant power)
GRAS	Genel olarak güvenilir kabul edilen (Generally Recognized as Safe)
Kob	Koloni oluşturan birim
MAA	modifiye atmosfer ambalajlama
MDA	Malondialdehit
Gae	Gallik asit
TE	Troloks eşdeğeri
MRD	Maksimum Recovery Diluent
mRNA	messenger RNA (Haberci Ribonükleik asit)
PCA	Plate Count Agar
TBARM	Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi
TBHQ	Tersiyer bütül hidroksi kinon
TCA	Trikloroasetik asit
UY	Uçucu yağ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kitosan ve kitinin kimyasal yapıları	13
Şekil 2.2 Uçucu yağların önemli koruyucu bileşenlerinin kimyasal yapı formülleri	21
Şekil 4.1 Farklı çözeltilerin renk değerleri (L^* , a^* , b^*).....	47
Şekil 4.2 Farklı çözeltilerin opaklık değeri	48
Şekil 4.3 Kitosan kaplama çözeltilerinin toplam fenolik madde içeriği	49
Şekil 4.4 Farklı çözeltilerin antioksidan aktiviteleri (DPPH)	52
Şekil 4.5 Farklı çözeltilerin antioksidan aktiviteleri (FRAP).....	53
Şekil 4.6 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TBARM değişimi	61
Şekil 4.7 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TAMB sayısındaki değişim	65
Şekil 4.8 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TAPB sayısındaki değişim	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Türkiye 2019-2020 yılı kümes hayvancılığı üretim, kesim miktarları	4
Çizelge 2.2 Bozulmuş tavuk etinden izole edilen bakteriler. Farklı kaynaklardan toplanan depolama koşulları ve bakteri sayıları (log kob/g).....	8
Çizelge 2.3 Depolama başlangıcında kanatlı etine kontamine olan çeşitli bakteriyel gruplara ve türlere ait rapor edilmiş sayılar (log kob/g).....	9
Çizelge 4.1 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerin renk (L*, a* ve b*) ve opaklık değerleri	46
Çizelge 4.2 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerin toplam fenolik madde miktarları (µg gae/ml çözelti)	49
Çizelge 4.3 Farklı çözeltilerin DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi (%) ve FRAP demir indirgeme kuvveti (µg TE/ml çözelti)	51
Çizelge 4.4 Kitosan ve kitosan-uçucu yağ karışımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları (inhibisyon zon çapları)	55
Çizelge 4.5 Piliç göğüs eti bileşimi (%).....	57
Çizelge 4.6 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında pH değerindeki değişime uygulama x süre interaksyonunun etkisi.....	58
Çizelge 4.7 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TBARM değerindeki (mg MDA/kg et) değişime uygulama x süre interaksyonunun etkisi	61
Çizelge 4.8 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TAMB sayısındaki (log kob/g) değişime uygulama x süre interaksyonunun etkisi.....	64
Çizelge 4.9 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TAPB sayısındaki (log kob/g) değişime uygulama x süre interaksyonunun etkisi.....	67

1. GİRİŞ

Kanatlı eti yüksek besin değeri, uygun fiyatı ve tüketiminde dinsel ve kültürel etken bulunmaması nedeniyle küresel düzeyde en çok tüketilen hayvansal gıdadır. Bu özellikleri nedeniyle 1960'lı yılların başından itibaren kanatlı eti tüketimi beş kat artarak dünyada başlıca hayvansal protein kaynağı haline gelmiş ve domuz etinden daha yüksek oranda tercih edilmeye başlanmıştır (Anonymous 2021a). 2020 yılında bir önceki yıla oranla dünyada tavuk eti üretimi %2.6, koyun eti üretimi %0.2 artarken; domuz eti üretimi %4, sığır eti üretimi %1.2 azalmıştır (Anonymous 2020). Tavuk ve hindi etinin sahip olduğu yüksek besin değeri, kaliteli protein içeriği ve yüksek doymamış yağ asidi oranı gibi özelliklerinin yanı sıra derisiz tüketildiğinde düşük oranda yağ içermesi nedeniyle sağlıklı bir gıda olmasının tüketimdeki artışın önemli sebeplerinden olduğu düşünülmektedir (Alvarado ve Thompson 2011).

Genel olarak kümes hayvanları kaliteli hayvansal protein kaynaklarından biridir ve 100 gram kanatlı eti için protein içeriği 25 gram olarak bildirilmiştir. Bu oran 100 gram sığır etinde 22.6 gram, keçi etinde 21.4 gram iken domuz etinde 18.7 gramdır (Singh ve Singh 2018). Pişmiş 100 gram derili tavuk göğüs eti günlük protein ihtiyacının yaklaşık olarak %58'ini karşılamakta ve düşük yağ oranının yanı sıra yüksek vitamin-mineral içeriğiyle de dikkat çekmektedir (Alvarado ve Thompson 2011).

Taze kanatlı eti ve ürünleri yüksek nem oranı ve protein içeriğine sahip olması nedeniyle mikrobiyal gelişime açıktır ve hızlı bozulan gıdalardır (Silva vd. 2018). Kanatlı etinin mikrobiyal raf ömrü gıda güvenliğinin yanı sıra ticari açıdan da önemlidir (Stopforth 2017). İyi kalitede ürünlerin üretimini sağlarken aynı zamanda gıda güvenliğini sağlayarak raf ömrünü uzatmak gıda işlemenin en temel amacıdır. Böylelikle ekonomik kayıplar önlenirken gıdalar tüketime uygun ve tercih edilebilir hale getirilmektedir (Alexandre vd. 2013).

Taze etin bozulmasının mikrobiyal gelişim dışında iki ana nedeni daha vardır. Bunlar lipit oksidasyonu ve otolitik enzimlerin neden olduğu reaksiyonlardır. Raf ömrünü etkileyen

en önemli faktörün mikrobiyal gelişim olduğu söylenebilir. Ancak mikroorganizma gelişimi olmaksızın, sıcaklık, nem, ışık, endojen enzimler ve oksijen mevcudiyeti gibi ortam koşulları etin kalite özelliklerinde istenmeyen değişimler meydana getirerek raf ömrünü etkileyebilmektedir (Stopforth 2017). Tavuk etinin yüksek doymamış yağ asidi içeriği nedeniyle lezzetini bozan ve kalite kaybına neden olan oksidatif reaksiyonlara maruz kaldığı bilinmektedir (Takma ve Korel 2019).

Tüketicilerin doğal katkı maddelerine yönelik artan ilgisi dikkatleri uçucu yağlara yöneltmiştir. Uçucu yağlar bitkilerden elde edilen doğal maddeler olup, içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahiptirler (Perdones vd. 2016). Uçucu yağların fenol, terpen, alkol, aldehit, keton, ester, eter gibi ana kimyasal bileşiklerinden fenol ve terpenlerin uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinde rol oynadığı bilinmektedir. Monoterpenler, öjenol, karvakrol, sinnamaldehit ve timol varlığının güçlü antimikrobiyal etkiye katkı sağladığı birçok çalışmada bildirilmiştir (Elsabee vd. 2016). Bununla birlikte uçucu yağların gıdalarda kullanımı yüksek maliyet, yoğun aroma ve potansiyel toksisite gibi dezavantajlara sahiptir ve bu durum gıdalarda kullanımını sınırlandırmaktadır. Uçucu yağların kitosan kaplamalarla birleştirilerek kullanımının bahsedilen olumsuzlukları giderebileceği önerilmiştir (Sun vd. 2014).

Yenilebilir kaplama malzemesi olarak kitosan sahip olduğu özellikler ile gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (Sun vd. 2014). Kitosan antimikrobiyal ve antioksidan etki gösterebilen, koruyucu film ve kaplama oluşturma kabiliyeti ile fonksiyonel özelliğe sahip, toksik olmayan, biyo-uyumlu bir polisakkarit olup GRAS (Genel olarak güvenilir kabul edilen) olarak sınıflandırılmaktadır. Bu yönüyle potansiyel bir doğal koruyucudur (dos Santos vd. 2012, Sun vd. 2014, Valipour Kootenaie vd. 2017).

Yenilebilir kaplamaya eklenen uçucu yağlar artan antimikrobiyal aktivite ve uzun süreli etki ile raf ömründe artış sağlayabilmektedir (dos Santos vd. 2012). Bu sayede uçucu yağların antimikrobiyal etkileri korunurken, uygulama dozu azaltılarak ürünün duyuşal niteliğinin bozulması önlenabilmektedir (Perdones vd. 2016). Uçucu yağ ile zenginleştirilen kitosan ile muamele sonucunda mikrobiyal gelişimin önlenerek gıda güvenliğinin sağlandığı ve lipid oksidasyonunun yavaşlatılarak et ürünlerinin raf ömrünün

uzamasına önemli derecede katkı sağlandığı bilinmektedir (Arslan ve Soyer 2018).

Tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilen ve hızlı bozulan tavuk göğüs etinin raf ömrünü uzatmak için gıda endüstrisi yeni yöntemler arayışındadır (Petröu vd. 2012). Hem lipit oksidasyonunu geciktirmek hem mikrobiyal gelişimi önlemek raf ömrünün uzamasına önemli katkı sağlayacaktır. Artan tüketici bilinci ve sağlıklı ürün arayışı ile sentetik antimikrobiyal ve antioksidan katkı maddelerine karşı alternatif doğal koruyucuların önem kazandığı bilinmektedir (Georgantelis vd. 2007). Kitosanın (Kanatt vd. 2013, Eldaly vd. 2018) ve uçucu yağların (Liu vd. 2009, Rimini vd. 2014, Hać-Szymańczuk vd. 2017) ayrı ayrı tavuk eti kalitesinin iyileştirilmesine yönelik araştırmalar mevcuttur. Ancak, kitosan-uçucu yağ ile zenginleştirilen çözeltilerle muamele edilen tavuk etlerinin kalitesinin ortaya konulduğu çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, kekik ve biberiye yağlarıyla zenginleştirilen kitosan çözeltilerinin antioksidan ve antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi ve soğukta depolanan piliç göğüs eti kalitesine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Kekik ve biberiye'nin tavuk ürünlerinin pişirilmesinde en çok tercih edilen baharat çeşitleri olması nedeniyle kaplama olarak uygulanmasının lezzeti olumlu yönde etkileyeceği düşünülmektedir. Antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri bilinen uçucu yağların aynı niteliklere sahip kitosan çözeltilerine aynı konsantrasyonlarda dahil edilmesinin yarattığı etkinin incelenmesi; mikrobiyal gelişime ve lipit oksidasyonuna açık olduğu bilinen piliç göğüs etine uygulanan kaplamanın 4 °C'de 15 gün depolama süresince pH, mikrobiyal yük ve TBARM (Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi) değeri gibi kalite parametrelerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Tavuk Eti

Et, hayvanların iskelet kaslarından oluşan ve gıda olarak tüketilebilen kısımlarıdır. Taze et ise yakın zamanda elde edilmiş ve soğutma dışında herhangi bir işlem görmemiş vakumlu veya atmosferik gaz ile ambalajlanmış etler olarak tanımlanmaktadır (Zhou vd. 2010). Üretimi oldukça maliyetli olan etin, dünyadaki başlıca protein kaynağı olduğu bilinmektedir (Silva vd. 2020). Et kaynakları olarak çoğunlukla sığır, domuz ve kümes hayvanları kullanılırken, daha az olarak koyun, keçi ve manda tercih edilmektedir. Bazı bölgelerde deve, at, devekuşu, tıbet sığırları (yak), av hayvanları et kaynağı olarak tüketilebilmektedir (Anonymous 2014). Kümes hayvanları eti tavuk, hindi, kaz ve ördeği içermektedir. Bu grup içerisinde en çok tavuk ve hindi etleri tüketilmektedir (Singh ve Singh 2018). Kanatlı eti üretiminde tavuk türü %89 ile en ön sırada yer alırken, hindi türü %5, ördek %4, kaz ve gine tavuğu %2 oran ile üretime katılmaktadır (Anonymous 2021b).

Ülkemizde 2020 yılı Ocak- Aralık döneminde tavuk üretimi bir önceki yılın aynı dönemine göre %0.1, kesilen tavuk sayısı %0.5, hindi eti üretimi ise %2.4 azalmıştır. Çizelge 2.1'de 2019 ve 2020 yılı kümes hayvancılığı üretim ve kesim miktarları ile değişim oranları görülmektedir (Anonim 2021).

Çizelge 2.1 Türkiye 2019-2020 yılı kümes hayvancılığı üretim, kesim miktarları (Anonim 2021)

	Ocak- Aralık		
	2019	2020	Değişim (%)
Tavuk Eti (Ton)	2 138 451	2 136 263	-0,1
Kesilen Tavuk (Bin adet)	1 207 088	1 200 707	-0,5
Hindi eti (Ton)	59 640	58 212	-2,4

Beslenme açısından bakıldığında ağırlıklı olarak tavuk ve hindi olmak üzere kanatlı etinin besleyici değerinin diğer etlerden daha yüksek olduğu kabul edilmektedir ve derisiz olarak düzenli tüketimi önerilmektedir (Bordoni ve Danesi 2017). Kanatlı etinin konjuge

linoleik asit (CLA), vitaminler ve antioksidanlar gibi biyoaktif maddeler içermesi ve dengeli bir n-6 ve n-3 çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) oranına sahip olması nedeniyle sağlıklı bir gıda olduğu bilinmektedir. Ayrıca sodyum ve kolesterol içerikleri düşüktür (Xiccato vd. 2010). Kanatlı etinin yağ miktarı elde edildiği kas grubuna göre değişmekle birlikte göğüs etinde 2.8 g/100 g, derili butta ise 13 g/100 g olarak bilinmektedir (Barroeta 2007). Kanatlı eti ayrıca taurin, glutatyon, anserin gibi biyoaktif bileşenler içermektedir ve bunların miktarı hayvanın beslenme kompozisyonunun değiştirilmesi ile arttırılabilmektedir (Bordoni ve Danesi 2017).

Et kalitesi genel olarak duysal özellikler, hijyenik özellikler, besinsel özellikler ve teknolojik özellikler ile birlikte değerlendirilmektedir (Neacsu vd. 2016). Tüketici tercihini ve memnuniyetini etkilediği bilinen kanatlı eti kalite özellikleri başlıca görünüm ve tekstür olmak üzere sululuk, lezzet ve işlevselliştir. Çiğ etin kalite değerlendirmesinde genel görünümünün yanı sıra koku ve yapışkan tabaka oluşumu gibi bozulma belirtilerinin bulunmaması etken iken; piştikten sonraki kalite değerlendirmesinde ise kısmen genel görünümün etken olduğu, esas olarak ise tat, sululuk ve yumuşaklık gibi faktörlerin kararı belirlediği bilinmektedir (James ve James 2008).

Gıda kalitesi gıdanın fiziksel, kimyasal ve duysal özellikleri ile belirlenirken, sağlık ve güvenlik unsurlarıyla da bağlantılı olan geniş bir kavramdır (Alexandre vd. 2013). Etin kalitesini belirleyen görünüm ve mikrobiyal kriterlerdeki kabul edilemez düzeydeki bir değişim etin raf ömrünü sınırlandıracaktır (James ve James 2008). Etin raf ömrü ve kalitesini başta mikroorganizma yükü olmak üzere depolama sıcaklığı, nem, atmosferik oksijen varlığı, ışık, endojen enzimler gibi faktörler tek başına ya da birbirleriyle etkileşimli olarak belirlemektedir. Bu faktörler etin renk, koku, tat ve tekstür gibi kalite parametrelerinde olumsuz değişikliklere neden olarak kalite kayıplarına ve hatta bozulmalara neden olabilmektedir. Mikroorganizma varlığı olmaksızın lipoliz, proteoliz ve oksidasyon reaksiyonları sonucunda etin bozulması mümkün olsa da, mikrobiyal gelişim düzeyinin taze et kalite korunmasında en önemli faktör olduğu bilinmektedir (Zhou vd. 2010).

Soğukta depolanan et ürünlerinin raf ömrünü kısaltan başlıca faktör mikrobiyal

faaliyettir. Mikrobiyal yükün artmasına bağlı olarak yüzeyde yapışkan tabaka (likalanma) ve kötü koku oluşumu gibi değişimler meydana gelmektedir. Kanatlı eti için depolama sıcaklığına bağlı olarak raf ömrü değişmektedir ve (-4)-(-1)^oC depolama sıcaklığında 32 gün, (-1)-(+2)^oC depolama sıcaklığında 17 gün, (+2)-(+5)^oC depolama sıcaklığında 12 gün, (+5)-(+8)^oC aralığında 7 gün olarak bildirilmiştir. Soğuk depolamada mikrobiyal faaliyeti ve dolayısıyla raf ömrünü etkileyen en önemli faktör sıcaklıktır. Sıcaklığın önemi göz önüne alındığında kesimden tüketime kadar geçen sürede soğuk zincirin kırılmaması önemlidir. Soğuk zincirdeki aşamalar kesimden hemen sonra soğutma ile başlamakta ve bundan sonraki tüm aşamalarda (işleme sonrası depolama, taşıma, satış) ve en nihayetinde mutfaklardaki depolamada soğuk zincirin kırılmaması önem arz etmektedir (Cemeroğlu ve Soyer 2005). Depolama sıcaklığının yanı sıra raf ömrüne etki eden diğer faktörler; işlenmiş ürünün mikrobiyolojik durumu-kontaminasyon seviyesi, ambalaj türü (vakum ambalajlama, modifiye atmosfer ambalajlama gibi) ve dondurarak depolama uygulanıyor ise dondurma işleminin koşulları olarak sıralanabilir (Mead 2004).

Soğukta depolanan etin bozulması aerobik mezofil bakterilerin yanı sıra 0 ^oC civarında gelişim yeteneğine sahip psikrotrof mikroorganizmalar nedeniyle de gerçekleşmektedir. Etin soğukta depolanması süresince ette bulunan çoğu mikroorganizmanın gelişiminin durduğu, depolama sıcaklığının artması durumunda mikroorganizma gelişim hızının arttığı bilinmektedir. Et depolama sıcaklığı olarak kabul edilen (-1.5)-(+5) ^oC'nin alt ve üst limitleri arasında bile mikrobiyal gelişim hızında sekiz kata kadar artış olabildiği ve depolama sıcaklığındaki her 2-3 ^oC'lik artışın mevcut depolama ömrünü yarıya indirdiği bildirilmiştir (James ve James 2008). Depolama sıcaklığı ne kadar düşükse bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimi o ölçüde yavaşlayacak ve raf ömrünün uzaması sağlanacaktır (Corry 2007). Üretim sonrası dağıtım ve depolama koşullarına da gereken özen gösterilmelidir. Bu amaçla et nakliyesinde kullanılan araçların iyi bir soğutma sistemine sahip olması ve bunların izlenmesi önem arz etmektedir (Kataria ve Morey 2020).

Kanatlı etinin mikrobiyolojik kalitesinin korunması çiğ etin başlangıçtaki mikrobiyal yükü, hayvanın kesim sırasındaki fizyolojik durumu, işletmede kontaminasyona maruz kalması, sıcaklık ve depolama koşulları gibi etkenlere bağlıdır (Stopforth 2017). Canlı

hayvanın ete dönüşümü çiftikten mezbahaya taşıma, indirme, yakalama ve kesilmesi de dahil olmak üzere birçok aşamayı içermektedir. Hayvanların yetiştirildiği ve kesiminin yapıldığı ortam etin mikrobiyal kalitesini belirlemektedir. Taze etin en olası kontaminasyon kaynakları hayvanın kendisi (deri, tüy, boşaltım sistemi organları ve ürünleri), yaşadığı ve temas halinde olduğu cansız ortam (hava, toprak, su, yem) ve kesim şartları (alet-ekipmanlar ve işçiler) olarak sıralanabilmektedir (Stopforth 2017). Kanatlı hayvanların tüyü, derisi, bağırsakları ve sindirim sisteminde *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *C. perfringens* gibi çok sayıda mikroorganizma çeşidi yaşamaktadır (Mulder 2004, Singh ve Singh 2018). Çapraz kontaminasyon genellikle işletme sanitasyonunun yetersiz olduğu işletmelerde haşlama ve yolma işlemi sırasında su ve ekipman aracılığıyla, iç organ çıkarılması sırasında bağırsak parçalanması ve ekipman aracılığıyla, karkas soğutma sırasında su ve hava aracılığıyla, kesim sırasında ise ekipman aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bunların haricinde işleme öncesinde hayvanın yakalama, nakletme ve tutulma süreçlerinde tüy ve derisine dışkı bulaşması nedeniyle de çapraz kontaminasyon riski bulunmaktadır. Bunu önlemek için her nakliyeden sonra hayvanların taşındığı kasa yada konteynerler mutlaka temizlenerek dezenfekte edilmelidir (Mulder 2004).

Soğukta depolanan tavuk etinde bozulma, bozulma yapan mikroorganizmaların çoğalması ve oluşturdukları metabolitlerin ette birikmesi ile olmaktadır. Bu metabolitlerin birikimi etin tadında, kokusunda, renginde ve tekstüründe istenmeyen değişimlere neden olmaktadır (Rouger vd. 2017). Tavuk etinde mikrobiyolojik bozulmaya etki eden en önemli faktörler; başlangıç kontaminasyon düzeyi, depolama sıcaklığı ve ambalajlama yöntemidir (atmosferik, vakum, modifiye atmosfer). Depolama boyunca mikrobiyal yük giderek artmaktadır. Tavuk etinde mikrobiyolojik bozulma için üst limit toplam canlı bakteri sayısının 7 log kob/g'ye ulaşmasıdır (Höll vd. 2016, Zhang vd. 2012). Kanatlı etlerinin bozulmasına neden olan başlıca bakteriler *B. thermosphacta*, laktik asit bakterileri (LAB), *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* spp.'dir. Bununla birlikte çizelge 2.2'den de anlaşılacağı üzere, bozulmadan bu bakterilerin sorumlu olduğu da kesin olarak söylenemez. Aslında, bozulmuş kanatlı etlerindeki mikrobiyal kontaminantların çeşitliliği, bozulma yapan bakterilerin kesin bir şekilde tanımlanmasını güçleştirmektedir.

Çizelge 2.2 Bozulmuş tavuk etinden izole edilen bakteriler. Farklı kaynaklardan toplanan depolama koşulları ve bakteri sayıları (log kob/g)

Depolama koşulu	A	B	C	D	E	F
Depolama süresi	4	5	9	11	15	Bozulana kadar
Sıcaklık (°C)	4-10	7	4	3	4	6
Ambalajlama	Hava	Hava	Hava	%70 CO ₂ , %15 O ₂ ,%15 N ₂	Hava	%65 N ₂ , %35 CO ₂
Toplam canlı bakteri sayısı	7.55	8.27	7.55	6.5	8	9.14
LAB	8.04	TE*	7.02	TE	7	9.04
<i>Enterobacteriaceae</i>	8.36	TE	TE	TE	6	7.59
<i>B. thermosphacta</i>	TE	TE	7.23	TE	7	TE
<i>Pseudomonas</i>	6	TE	7.21	5	6	TE
Koliformlar	TE	4.38	TE	3.7	TE	TE

A: Zhang vd. 2012, B: Capita vd. 2013, C:Chouliara vd. 2007, D: Al-Nehlawi vd. 2013, E:Balamatsia vd. 2007, F:Doulgeraki vd. 2012.

*TE: tespit edilmemiş.

Literatürde tavuk etindeki mikrobiyal sayılara ait farklı çalışmalarda farklı veriler yer almaktadır. Çizelge 2.3'te kanatlı etine kontamine olan çeşitli bakteri grupları ve türlerine ait mikrobiyal sayılar görülmektedir. Toplam canlı bakteri sayısı çeşitli bakteri türlerini kapsamakta ve depolama ile birlikte artmaktadır.

Kanatlı etlerinde bozulmanın başta *Pseudomonas* türleri (*P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. lundensis*) olmak üzere daha düşük oranda *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Psychrobacter* türleri, *Brochothrix thermosphacta*, laktik asit bakterileri, *Enterobacteriaceae* familyası türleri gelişimi nedeniyle olduğu bilinmektedir (Mead 2004, Rouger vd. 2017) . Bunların haricinde işletme sanitasyonunun düşük seviyede olması nedeniyle gerçekleşen patojen kontaminasyonu sonucu *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* ve *Campylobacter jejuni* gibi patojenler de ete geçerek insanlarda sağlık problemlerine neden olabilmektedir.

Çizelge 2.3 Depolama başlangıcında kanatlı etine kontamine olan çeşitli bakteriyel gruplara ve türlere ait rapor edilmiş sayılar (log kob/g) (Rouger vd. 2017)

	Kaynaklar						
Mikroorganizma	A	B	C	D	E	F	G
Toplam canlı bakteri sayısı	5	4.9	TE*	4.88-5.41	4.28	5.66	TE
Psikrotrofik bakteri	TE	TE	4.02-4.48	TE	TE	TE	4.34
Mezofilik bakteri	TE	TE	4.74-6.18	TE	TE	TE	5.10
LAB	TE	3.9	TE	TE	3.66	TE	3.50
<i>Pseudomonas</i>	3.5	4.2	TE	TE	3.38	TE	4.70
<i>Enterobacteriaceae</i>	TE	TE	TE	2.58-3.53	TE	TE	2.78
<i>B. thermosphacta</i>	TE	3	TE	TE	3.04	TE	4.06
<i>E. coli</i>	2	TE	0.70-2.34	2.60-3.63	TE	TE	TE
Koliformlar	2.2	TE	3.54-4.64	TE	TE	3.08	2.86
<i>S. aureus</i>	TE	TE	0.68-2.43	TE	TE	TE	TE

A: Al-Nehlawi vd. 2013, B: Balamatsia vd. 2007, C: Chaiba vd. 2007, D: Capita vd. 2002, E: Chouliara vd. 2007, F: Capita vd. 2013, G: Del Rio vd. 2007.

*TE: tespit edilmemiş.

Depolama süresince kalite özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi ve raf ömrünün saptanması için kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler ve bunların birlikte kullanımından faydalanılmaktadır. Bozulmaya neden olan mikroorganizma popülasyonu için sınır 7 log kob/ g olarak bilinmektedir. Bu nedenle etin raf ömrünün belirlenmesi için genellikle mikrobiyolojik analizler kullanılsa da inkübasyon süresinin uzunluğu nedeniyle sonuçlara ulaşmak zaman almaktadır. Literatürde mikrobiyal gelişim düzeyinin belirlenerek raf ömrünün saptanmasında pH ve titrasyon asitliği (% laktik asit) de kullanılabilmektedir (Manalo ve Gabriel 2020). Yine pH ve et renginin de ette bulunan mikroorganizma sayısının bir göstergesi olarak raf ömrünü değerlendirmede kullanılabileceği bilinmektedir (Mohammed vd. 2021).

Mikrobiyal kalitenin sağlanması ile daha uzun raf ömrü sağlanarak daha kaliteli ve güvenli ete ulaşıldığı bilinmektedir. Bunu sağlayan koruma teknolojileri geleneksel koruma yöntemleri ve gelişmiş/gelişmekte olan koruma yöntemleri olarak gruplandırılabilir. Isıl işlemler, soğutma ve dondurma işlemi, kurutma işlemi geleneksel

koruma yöntemleri içerisinde sayılırken; süper soğutma (superchilling), doğal antimikrobiyal uygulaması, biyolojik koruma yöntemleri, ışınlama yöntemi, yüksek hidrostatik basınç (HHP) yöntemi ve ambalajlama teknolojileri ise diğer gruba dahil edilmektedir (Stopforth 2017). Biyolojik koruma yöntemi kimyasal koruyucuların yerini almak için uçucu yağlar (Hyldgaard vd. 2012), nisin (Verma vd. 2014) ve kitosan (Ngo ve Kim 2014) gibi doğal bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinden faydalanılmasını sağlamaktadır. Bu yöntemler tek başına ya da birlikte kullanılarak tasarlanan engeller teknolojisi sayesinde ürünün hem mikrobiyal hem de duyu kalitesi korunabilmektedir (Zhou vd. 2010).

Taze etin mikrobiyal gelişim sonucu bozulmasından sonraki diğer önemli kalite kaybı nedeni oksidatif reaksiyonlardır ve etin yapısındaki lipitleri, proteinleri, vitaminleri etkilemektedir. Ürünün renk ve tekstüründe olumsuz değişimin yanı sıra kötü koku ve tat oluşumu ile duyu bir bozulmaya neden olarak ürünün tüketici tarafından reddedilmesine neden olmaktadır (Domínguez vd. 2019). Gıdalarda oksidasyon çeşitleri, karbonhidrat oksidasyonu, protein oksidasyonu ve lipit oksidasyonu olarak sıralanabilir. Bunlardan en önemlisi ve bozulmanın ana nedeni lipit oksidasyonudur. Çünkü lipit oksidasyonu sonucu oluşan maddeler proteinlerle reaksiyonu başlatarak, protein oksidasyonunun da başlamasına neden olur. Karbonhidratlar ise oksidasyon reaksiyonlarına lipit ve proteinlere göre daha az duyarlı olduğu için lipit oksidasyonu kadar ön plana çıkmamaktadır (Ngo ve Kim 2014).

Lipit oksidasyonu ette lezzet, tekstür, renk gibi kalite özelliklerinde ve ürünün besinsel değerinde kayba neden olarak ürünün kabul edilebilirliğini etkilemektedir. Oksidasyon ürünü olarak malonaldehit ve kolesterol oksitleri gibi toksik maddelerin oluştuğu bilinmektedir (Ribeiro vd. 2019). Bu toksik bileşikler kanser, enflamasyon (iltihaplanma), damar sertliği (ateroskleroz) gibi birçok hastalığın gelişiminde rol oynamaktadır (Domínguez vd. 2019).

Oksidatif reaksiyonlar canlı hayvandan son tüketiciye kadar besleme, işleme, depolama, ambalajlamadan başlayarak, mutfakta tüketime hazırlanmasına kadar süren tüm aşamalarda oluşabilmektedir. Kanatlı eti, yapısındaki yüksek tekli ve çoklu doymamış

yağ asitleri içeriği nedeniyle oksidatif reaksiyonlara karşı hassastır ve acılaşıma, kötü koku oluşumu lipid oksidasyonunun önemli bir sonucudur (Carvalho vd. 2017). Tavuk etinde çoklu doymamış yağ asidi değerinin, toplam yağ asitlerinin %37'sine ulaştığı bildirilmiştir (Domínguez vd. 2019). Kesim öncesi kanatlılar ısı stresi, oksitlenmiş yem tüketimi gibi durumlar sonucunda oksidatif strese maruz kalırlar ve hücre bileşenlerinde oksidatif hasar gerçekleşir. Kesimden sonra ise kümes hayvanı kasları ölüm sonrası meydana gelen biyokimyasal değişikliklerle oksidatif reaksiyonlara maruz kalırlar. Geçiş metalleri (demir, çinko), miyogloblin ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi ölüm sonrası kasta doğal olarak bulunan prooksidanlar, çeşitli mekanizmalar ile reaktif oksijen türleri oluşumunu sağlayarak lipid ve protein oksidasyonunu başlatırlar (Carvalho vd. 2017).

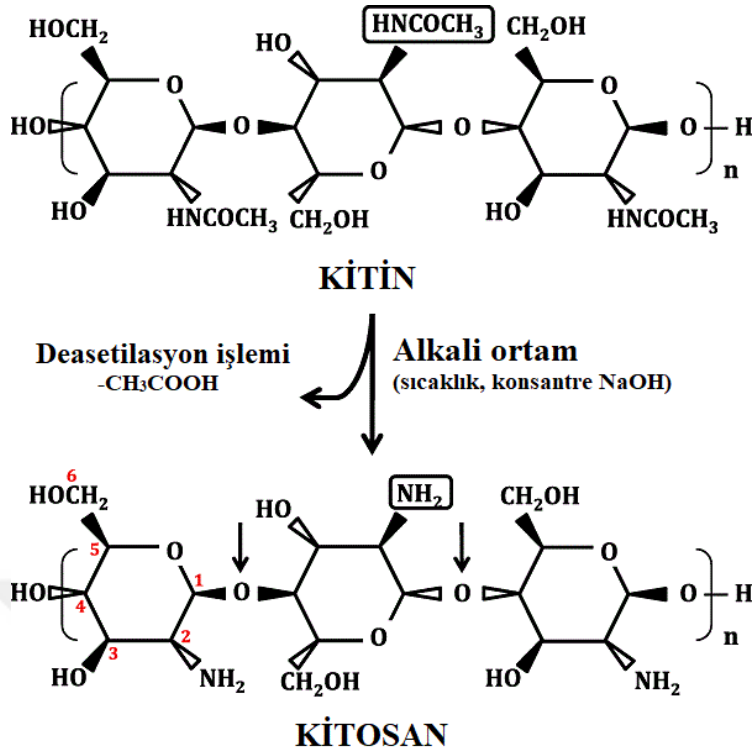
Etin oksidasyondan korunması formülasyona antioksidan ilavesi, işleme ve ambalajlama tekniklerinde değişime gidilmesi ile sağlanırken; canlı hayvanda oksidasyon gelişimi besin takviyeleri ile önlenebilmektedir (Amaral vd. 2018). Oksidasyonun olumsuz etkilerinden korunmak için kanatlı etinde alınabilecek önlemler aşağıda sıralanmıştır:

- Hayvan yem ve diyetiyle ilgili değişiklikler: Hayvan diyetinde α -tokoferol (E vitamini) ve askorbat gibi antioksidan takviyelerin etkili olduğu, bunların selenyum, magnezyum, çinko ile birlikte kullanımının daha etkili bir koruma sağladığı bildirilmiştir. Bunların yanı sıra kreatin, resveratrol, konjuge linoleik asit ve kitosan gibi fenolik bileşiklerin antioksidan amaçlı hayvan yemlerine katılması son yıllarda önerilmiştir.
- Ambalajlama: Temelde kanatlı etinin oksijene maruziyetinin önlenmesi için vakumlu ambalajlama ile oksijenin ortadan kaldırılması ya da modifiye atmosfer ambalajlamada oksijen konsantrasyonunun düşürülmesinin oksidasyonu yavaşlattığı ya da engellediği bilinmektedir. Ayrıca aktif ambalajlama yöntemleri ile de oksidasyon önlenebilmektedir.
- Formülasyon: Antioksidan katkı maddeleri kullanımının yanı sıra bitki fenoliklerinin formülasyona dahil edilmesinin koruyuculuk sağladığı bilinmektedir. Bu doğal kaynaklı biyoaktif bileşenler içinde üzüm çekirdeği, turunçgiller, kekik, biberiye, çay, beyaz lahana sayılabilmektedir (Carvalho vd. 2017).

Ürün kalitesini düşürerek raf ömrünün ksalmasına neden olduğu bilinen lipit oksidasyonu ve mikrobiyal çoğalmanın önlenmesinde sentetik katkıların tüketici tarafından şüpheyle karşılanması nedeniyle aynı zamanda antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinen doğal antioksidanların kullanımı önerilmiştir (Georgantelis vd. 2007). Bu amaçla bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, kitosan ve doğal kaynaklı organik asitlerin kullanımının raf ömrü ve kaliteye etkisine dair çalışmalar yapılmaktadır (Taheri vd. 2018).

2.2 Kitosan

Kitosan dünyada en bol bulunan ikinci doğal polimer olan kitinin bir türevidir ve kitinin içerdđi asetil grubunun C-2 konumundaki amino biriminden ayrılmasıyla kitosan elde edilmektedir (Anraku vd. 2018). Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen kitosan, deasetile birim (β -(1,4)-D-glukozamin) ve asetil birimden (*N*-asetil-D-glukozamin) oluşan bir heteropolimerdir (Másson 2021). Bu iki birimin bileşikteki oranlarının farklılığı, kitosanın deasetilasyon derecesi (DD) ve molekül ağırlığı (M_w) ile ilgili değışikliklere neden olmaktadır (Li ve Zhuang 2020). Kitosan C-2, C-3 ve C-6 pozisyonlarında sırasıyla amino grubu, birincil hidroksil grubu ve ikincil hidroksil grubu olmak üzere üç ayrı reaktif fonksiyonel gruba sahiptir (Manigandan vd. 2018). Şekil 2.1’de bu yapı görülebilmektedir. Kitosanın polikasyonik, biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilir özelliklere sahip olduğu, toksik olmadığı bilinmektedir (Hamed vd. 2016). Doğadaki tek alkali polisakkarit olup, kokusuz, biyoyumlu bir maddedir (Bakshi vd. 2020). Kitosanın özellikleri, molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi ile karakterize edilmektedir (Goy vd. 2009). Molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesine bağlı olarak antioksidan, antibakteriyel, antikanser ve antitümör, antienflamatuar, antihipertansif, antikolesterol aktivite gösterebilmektedir (Ngo ve Kim 2014, Wang vd. 2020). Kitosanın sahip olduğu tüm bu özelliklerinin yanı sıra, doğal bir polisakkarit olması ve %6.89’luk yüksek azot içeriğine sahip olması onu ticari ilgi odağı haline getirmiştir (Anraku vd. 2018).



Şekil 2.1 Kitosan ve kitinin kimyasal yapıları (Raafat ve Sahl 2009)

Kitin eldesi deniz kabukluları (karides, yengeç, istakoz, midye, kerevit), böcekler (hamamböceği, örümcek, karınca, akrep), yumuşakçalar (ahtapot, istiridye, salyangoz, mürekkep balığı), algler (diatom, kahverengi ve yeşil alg) ve bazı mikroorganizmalar (bakteriler ve mantarlar) gibi doğal kaynaklardan sağlanmaktadır (Joseph vd. 2021). Tüm bu kaynaklardan elde edilen kitinin deasetilasyonu ile kitosan üretimi mümkündür ancak kitosan eldesinde ana kaynak olarak genellikle deniz kabukluları kullanılmaktadır (Duan vd. 2019).

Kitosan üretimi kitinin kimyasal (alkali) veya biyolojik yöntemler ile deasetilasyonu ile sağlanmaktadır. Her iki yöntemde de amaç, kitin yapısındaki amin radikallerine bağlanan asetil gruplarının ($-\text{COCH}_3$) ayrılması ile kitosanın elde edilmesidir (Hamed vd. 2016, Duan vd. 2019, Kou vd. 2020). Şekil 2.1'de kitinin kimyasal yapısı ve deasetilasyon ile yapıda meydana gelen değişimler sonucu elde edilen kitosanın kimyasal yapısı görülmektedir.

Suda ve birçok organik çözücünde çözünmeyen kitosan pH 6.0'dan daha düşük olan seyreltilmiş asidik çözeltilerde kolaylıkla çözünür (Ngo ve Kim 2014, Duan vd. 2019). Asidik ortamda kitosanın yapısındaki amino grupları proton bağlayarak pozitif yük ile yüklenir ve kitosanın suda çözünür polikasyonik yapısı meydana gelir. Asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi organik asitlerin kitosanı çözebildiği, bunlardan en iyi çözücü özellik gösterenin formik asit olduğu, ancak en sık kullanılan çözücünün ise %1 asetik asit olduğu bildirilmiştir (Duan vd. 2019). Kitosanın çözünürlük özelliği kitosanın elde edildiği biyolojik köken, molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi ve elde ediliş yöntemine bağlı olarak değişmektedir (Goy vd. 2009, Duan vd. 2019). Seyreltilmiş asit çözeltilerde çözünür hale gelen kitosanın bu özelliği sayesinde kaplama ve film olarak kullanımı mümkün olmaktadır (Goy vd. 2009). Genel olarak kitosanın DD'in yüksek olması, amino gruplarının proton bağlamasını sağlayarak çözünürlüğü artırırken, molekül ağırlığının artması molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağı sayısını artırarak polimer zincirinin birbirine dolanmasına ve çözünürlüğün azalmasına neden olmaktadır (Wang vd. 2020).

Kitosanın antimikrobiyal etkisiyle ilgili önerilen birden çok mekanizma aşağıda listelenmiştir:

1. Kitosanın pozitif yüklü NH_3^+ molekülleri ile bakteri hücresi yüzeyindeki negatif yüklü membran bileşiklerinin (hücre duvarındaki glikanlar ve proteinler ile sitoplazmik membrandaki fosfolipitler gibi) arasındaki elektrostatik etkileşim sonucu mikroorganizmanın hücre geçirgenliği değişikliğe uğrar ve hücre parçalanması (lisis) görülür. Hücre geçirgenliğinin değişimi ile hücre içi elektrolitler, glikoz, enzimler ve diğer proteinli sitoplazmik bileşenler hücreden sızarak mikroorganizma ölümü gerçekleşir.
2. Kitosan mikroorganizma hücresine nüfuz ederek mikrobiyal DNA (Deoksiribo Nükleik asit) ile etkileşerek mikroorganizma bünyesindeki mRNA (messenger RNA) ve protein sentezinin inhibisyonuna neden olur.
3. Mikroorganizmanın yaşamını sürdürmesi ve çoğalması için gerekli olan temel besin maddeleri ve esansiyel metaller ile kitosan şelat oluşturarak mikrobiyal gelişimi inhibe eder.
4. Kitosan mikroorganizmanın hücre yüzeyinde veya çevresinde geçirimsiz polimer bir tabaka oluşturarak besinlerin veya aerobik bakterilerin canlılığı için zorunlu olan

oksijenin hücreye girişini engelleyerek hücre gelişimini önler (Zivanovic vd. 2015, Hosseinnejad ve Jafari 2016).

Kitosanın antibakteriyal etkinliğini etkileyen faktörlerden en önemlilerinin molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi olduğu söylenebilir (Wang vd. 2020). Kitosanın antimikrobiyal aktivitesini etkileyen faktörler genel olarak dört kategoriye ayrılmaktadır.

- Mikroorganizmanın türü ve hücre yaşı ile ilgili mikrobiyal faktörler
- Pozitif yük yoğunluğu, molekül ağırlığı, konsantrasyon, hidrofilik/hidrofobik özellik ve şelatlama kapasitesi gibi kitosanın moleküler nitelikleri
- Kitosanın fiziksel durumu (suda çözünür ve katı hali)
- pH, sıcaklık ve ortamdaki iyonik gücü kapsayan çevresel faktörler (Kong vd. 2010).

Antibakteriyal etki alanı oldukça geniş olan kitosan farklı mikroorganizma türlerine karşı farklı düzeyde etki göstermektedir (Kong vd. 2010). Mikroorganizmanın hücre çeperi antibakteriyal maddelerin hücre içine sızmasını engelleyerek bir bariyer görevi görür ve bu sayede antibakteriyal maddelerin etkinliğini belirler (Tachaboonyakiat 2017). Kitosanın *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus* türleri (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*), *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* gibi Gram-pozitif bakterilere, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas* türleri (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*), *Vibrio* türleri (*V. parahaemolyticus*, *V. cholera*) gibi Gram-negatif bakterilere karşı etkili olduğu bilinmektedir (Abd El-Hack vd. 2020). Ancak hücresel yapıları nedeniyle Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı farklı aktivite gösterdiği bilinmektedir (Kong vd. 2010). Kitosanın birçok çalışmada Gram-negatif bakterilere kıyasla Gram-pozitif bakterilerde daha güçlü antibakteriyal etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu durumun nedeninin Gram-pozitif bakterileri hücre yapısı olduğu varsayılmaktadır. Gram-pozitif bakteriler negatif fosfat gruplarıyla yüklü kalın peptidoglikan tabakasından oluşan hücre duvarı yapısına sahiptirler. Bu yapı sayesinde katyonik kitosanın mikroorganizma hücre duvarıyla elektrostatik etkileşimi sonucunda hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olduğu bildirilmektedir. Bunun aksine kitosanın Gram-negatif bakteriler için daha güçlü antibakteriyal etki gösterdiği bir grup çalışma da literatürde mevcuttur (Hosseinnejad ve Jafari 2016).

Kitosanın içsel faktörlerinden pozitif yük yoğunluğunun DD ile alakalı olduğu bilinmektedir. Antimikrobiyal aktivitede polikasyonik yapının önemi bilinmektedir. Bu bağlamda kitosanın daha yüksek pozitif yük yoğunluğunun daha güçlü bir elektrostatik etkileşime neden olacağı açıktır (Kong vd. 2010). Kitosandaki pozitif yük yoğunluğu DD ile ilişkilidir ve yüksek DD'e sahip kitosanların pozitif yük yoğunluğu daha fazladır. Bu nedenle yüksek DD'e sahip kitosanların daha güçlü antibakteriyal etki göstermesi beklenmektedir (Tachaboonyakiat 2017). Bir diğer faktör olan kitosanın molekül ağırlığıyla ilgili literatürdeki çalışmalarda kesin bir sonuca varılamamış olsa da kitosanın antibakteriyal aktivitesinin molekül ağırlığının yanı sıra bakteri tipine bağlı olduğu bilinmektedir (Tachaboonyakiat 2017). Yüksek molekül ağırlıklı kitosan mikroorganizmanın membranından geçemeyeceği için hücre yüzeyini kaplayarak besinlerin hücre içine girişini engeller ve hücre parçalanmasına (lizisine) neden olur. Daha düşük molekül ağırlığına sahip çözelti halindeki kitosan ise mikrobiyal hücre içine girerek DNA'sına bağlanır ve mRNA sentezini engelleyerek hücre yapısını bozabilir (Hosseinnejad ve Jafari 2016). Literatürdeki son çalışmalar molekül ağırlığının antibakteriyal aktiviteye etkisinin çözünen ortamın pH değerinden de etkilenebileceğini, asidik ortamda artan molekül ağırlığının, nötr ortamda ise azalan molekül ağırlığının aktiviteyi arttırdığını göstermiştir (Wang vd. 2020).

Kitosanın asidik ortamda Zn^{+2} , Fe^{+2} , Cu^{+2} , Mg^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} gibi çeşitli metal iyonlarını şelatlama kapasitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu metal iyonları aynı zamanda mikroorganizma hücre duvarının stabilitesini sağladığı için, kitosanın metal iyonlarıyla şelat oluşturması antimikrobiyal aktiviteyi etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (Kong vd. 2010). Kitosan konsantrasyonu da mikrobiyal aktiviteyi etkilemektedir. Düşük konsantrasyonda kitosan negatif yüklü mikroorganizma hücre yüzeyine bağlanarak zarın yapısını bozar. Bunun sonucunda hücre içi bileşenlerin hücre dışına sızması suretiyle mikroorganizma yok edilir. Yüksek konsantrasyonda ise kitosan hücre yüzeyini kaplayarak hücre içi bileşenlerin kaybını önleyebilir (Lim ve Hudson 2004, Hosseinnejad ve Jafari 2016). Tüm bunların haricinde kitosanın elde edildiği kaynağın antimikrobiyal aktivite üzerinde etkili olduğu da bildirilmiştir (Hosseinnejad ve Jafari 2016). Literatürde *Aspergillus brasiliensis* mantarından elde edilen kitosanın antibakteriyal etkinliğinin karides, yengeç, kalamar gibi deniz kabuklularından elde edilen ticari kitosana kıyasla *E.*

coli, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus*' a karşı daha düşük olduğu; Shiitake mantarından elde edilen kitosanın yengeç kitosanından daha güçlü antibakteriyal etki gösterdiği çalışmalar mevcuttur (Li ve Zhuang 2020).

Çevresel faktörlerden pH, kitosanın asidik ortamda çözünür olması ve kitosan molekülünün polikasyonik niteliğini belirlediği için oldukça önemlidir (Li ve Zhuang 2020). Antimikrobiyal etkinin ortamın pH değerine bağlı olduğu; buna göre pH'nın düşük (<6) olduğu ortamda kitosanın polikasyonik yapıya dönüşerek antimikrobiyal aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Kong vd. 2010). Çevresel faktörlerden bir diğeri olan iyonik gücün değişiminin kitosanın antimikrobiyal aktivitesini etkilediği; metal iyonu konsantrasyonu artışının aktiviteyi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Kong vd. 2010).

Antimikrobiyal aktivitesinin yanı sıra antioksidan özelliğe de sahip olduğu bilinen kitosan bu özelliği ile tüketici sağlığını korumak ve gıda raf ömrünü uzatmak için gıdalara katılabilmektedir (Ngo ve Kim 2014). Gıda kalitesinin duyuşal, besinsel, mikrobiyal birçok farklı parametresinin ortamdaki oksijen tarafından tetiklenen oksidasyon reaksiyonlarından olumsuz yönde etkilenmesini önlemek amacıyla BHA, BHT ve TBHQ gibi sentetik koruyucular antioksidan olarak gıda üretiminde kullanılmaktadır. Ancak bu kimyasal katkıların kanserojen etkileri konusunda endişeler arttığı için doğal antioksidanlara yönelim artmıştır (Hromiš vd. 2017). Kitosan sahip olduğu amino (-NH₂) ve hidroksil (-OH) grupları sayesinde serbest radikallerle reaksiyona girerek, radikal süpürme kabiliyeti göstermektedir (Abd El-Hack vd. 2020).

Serbest radikalleri süpürme aktivitesinin hidroksil grubunun O-H veya amino grubunun N-H bağının kırılması ile oluşan enerji ve meydana gelen radikallerin kararlılığı ile alakalı olduğu bildirilmektedir. Kitosan türevlerinin en güçlü reaktif oksijen türü olan hidroksil radikale karşı antioksidan aktivitesinin birden çok nedeni bulunmaktadır. Bunlardan ilki kitosanın hidroksil gruplarının radikal hidroksil gruplarıyla reaksiyona girmesi iken, ikinci neden hidroksil radikalleri ile reaksiyona girebilen kalıntı serbest amino grupların varlığı ve sonuncusu ise amino gruplarının radikal hidroksil gruplarıyla hidrojen iyonu (H⁺) alışverişi sonucu NH₃⁺ amonyum gruplarının oluşumudur (Xie vd.

2001).

Ayrıca kitosanın tam mekanizması bilinmemekle birlikte iyon şelatlama yeteneğinin yüksek olduğu; bu özelliğin de antioksidan aktiviteye katkı sağladığı bilinmektedir. Geçiş metal iyonlarının gıdalarda meydana getirdiği lipid peroksidasyonu sonucunda tat ve lezzet kaybına neden olduğu, özellikle demir iyonlarının gıdalarda oksidasyonun başlamasına neden olan en önemli iyon olduğu bildirilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda kitosanın hidroksil ve amino gruplarının bakır (Cu^{+2}) ve demir (Fe^{+2}) iyonlarını şelatlama kabiliyetine sahip olduğu ve bu niteliğin DD'den kaynaklandığı bildirilmiştir (Yen vd. 2008).

Kitosanın antioksidan aktivitesi deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığıyla alakalıdır ve yüksek DD'de antioksidan aktivite artmaktadır (Wang vd. 2020). Kitosanın antioksidan aktivitesi molekül ağırlığı ile ters orantılı olarak değişmektedir. Bunun nedeni olarak düşük molekül ağırlıklı kitosanın sahip olduğu kısa zincirde molekül içi hidrojen bağ oluşumunun düşük olması söylenebilir. Bu sayede kitosan, etkin hidroksil ve amino gruplarının mevcudiyeti ile radikal süpürme kabiliyeti göstermektedir (Abd El-Hack vd. 2020).

Kitosan FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS statüsüne alınmıştır (Hosseinnejad ve Jafari 2016). Gıdalarda mikrobiyal bozulmayı ve lipid oksidasyonunu engellemek için Amerika, Japonya, Kore ve Avrupa'da kullanılan onaylı bir gıda bileşenidir. Doğal antioksidan ve antimikrobiyal özelliği ile raf ömrünün uzatılmasını sağlayan gıda koruyucu olarak kullanılmaktadır (Abd El-Hack vd. 2020). Kitosanın farelerde LD_{50} (Ortalama Öldürücü Doz) değerinin 16 g/gün/kg vücut ağırlığı üzerinde olduğu, insanlarda ise LD_{50} değerinin 1.33 g/gün/kg olduğu hesaplanmış, günde 3-6 g kitosan alımının hiçbir yan etkisi olmadığı kanıtlanmıştır (Bakshi vd. 2020). Ülkemizde ise henüz gıda katkı maddeleri listesinde yer almamaktadır.

Kitosanın gıda koruyucu özelliği mikroorganizmanın hücre zarının geçirgenliğini etkileyebilmesi, su bağlama kapasitesi ve çeşitli enzimlerin inhibisyonuna neden olabilme yeteneği sayesinde. Ancak gıda koruyucu olarak kitosanın sınırlı kullanımının nedeni,

nötr ve bazik ortamda çözünürlüğünü yitirmesidir (Hugo ve Hugo 2015). Tüm bu faktörlerin yanı sıra uygulanacak gıdanın içerdiği bileşenler, kitosanın antimikrobiyal aktivitesinde etkilidir. Kitosanın elektrostatik etkileşimini etkileyecek inorganik katyonik maddelerin gıda bileşenindeki mevcudiyeti kitosan aktivitesini inhibe edecektir (Hosseinnejad ve Jafari 2016).

2.3 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Umbelliferae*, *Zingiberaceae* familyalarına ait bitkilerden elde edilen ikincil metabolit ürünleridir (Pateiro vd. 2021). Uçucu yağ bitkinin kendisinden veya çiçek, kök, yaprak, tohum, meyve, kabuk gibi bitki organlarından çeşitli yöntemlerle üretilen farklı oranlarda lipofilik maddeler içeren aromatik ve uçucu maddelerdir. Bileşenlerinin çoğu monoterpen ve seskiterpen olmak üzere terpenoidlerdir (izoprenoidler). Yoğun olarak bulunan bu grubun dışında aromatik bileşikler, alkoller, ketonlar, yağ asitleri, kükürt ve azot içeren bileşikler de bulunmaktadır (Grassmann ve Elstner 2003, Rios 2016). Çok sayıda ve farklı oranlarda bileşen içeren uçucu yağlar yeni damıtıldığında ve oda sıcaklığında renksiz ya da hafif sarımsı renkte, kokulu ve yoğunlukla düşük yoğunluktadırlar. Etanol ve eter gibi organik çözücülerde çözünebilirken, suda oldukça az çözünürlüğe sahiptirler. Uçucu yağ çeşidi yaklaşık olarak 3000 civarında iken bunların ticari olarak yalnız 300 kadarı kullanılabilir. Kullanım alanları oldukça yaygındır. Parfüm, sabun, şampuan üretimi için endüstriyel kozmetik alanında, tıp ve eczacılık alanında, biyopestisit ve böcek kovucu olarak tarım alanında ve gıda endüstrisinde tercih edilmektedirler (Rios 2016).

Uçucu yağlar kimyasal bileşimine bağlı olmakla birlikte çok çeşitli biyolojik aktivite göstermektedirler. Uçucu yağlar bileşenleri sayesinde antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antioksidan, antikanser, antidiyabetik aktivitelere sahip olmanın yanı sıra; kalp, damar ve sinir sistemi üzerinde koruyucu özellik de göstermektedir. Yüksek kolestrole ve ayrıca ciltteki lekelenmelerin nedeni olan hiperpigmentasyona karşı etkilidir. Karaciğeri koruyucudur ve antienflamatuvar özelliği bulunmaktadır (Buchbauer ve Wallner 2016, Jugreet vd. 2020). Ayrıca böcek öldürücü ve kovucu özelliği ile depolanmış tahıllar ve meyveler gibi gıda ürünlerinin korunmasında da

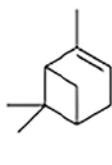
kullanılabilmektedir. Bu özelliği ile uçucu yağlar insan sağlığına olumsuz etkisi bulunan kimyasal ilaç kullanımına karşı etkili ve çevreci bir alternatif oluşturmaktadırlar (Adelakun vd. 2016).

Uçucu yağlar 20-60 adet bileşeni farklı konsantrasyonlarda içerirken, bunlardan sadece iki veya üç tanesi uçucu yağların biyolojik özelliklerini belirleyen yüksek konsantrasyonda bulunan baskın bileşendir (Bakkali vd. 2008). Uçucu yağların ana bileşenleri fenolik bileşikler olan terpen ve terpenoidler ile fenilpropanoidler olarak iki farklı kimyasal sınıfa ayrılmaktadır (Zuzarte ve Salgueiro 2015, Ni vd. 2021). Bunların örnek bileşen yapısı şekil 2.2’de gösterilmektedir (Jayasena ve Jo 2013, Falleh vd. 2020). Terpenler beş karbon bazlı birim içeren izopren ünitelerinin(C_5H_8) sayısına göre sınıflandırılmaktadır. Terpenler başlıca uçucu yağların %90’ını temsili eden monoterpen ($C_{10}H_{16}$) ve ayrıca seskiterpenlerden ($C_{15}H_{24}$) oluşmaktadır. Bunların yanı sıra hemiterpenler, di-,tri-,tetraterpenler de mevcuttur (Bakkali vd. 2008). En çok bilinen terpenler *p*-simen, limonen, terpinen, sabinen ve pinen’dir. Terpenlerin bir çoğu in vitro testlerde tek başına kullanıldıklarında antimikrobiyal aktivitelerinin düşük olduğu görülmüştür. Kekik uçucu yağının en önemli bileşenlerinden olan *p*-simen, birçok Gram-negatif patojene karşı antimikrobiyal aktivite göstermemektedir (Nazzaro vd. 2013).

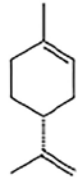
Terpenoidler ise yapısında oksijen molekülü bulunan bir terpen türüdür ve değişken yapısı nedeniyle alkoller, esterler, eterler, peroksitler, aldehytler, ketonlar ve fenollerini içeren çok çeşitli oksijenli alt gruplara ayrılabilir (Zuzarte ve Salgueiro 2015, Sharma vd. 2020). En bilinen terpenoidler timol, karvakrol, linalol, mentol, geraniol, linalil asetat, sitronelal ve piperiton’dur. Terpenoidlerin antimikrobiyal aktivitesi fenolik terpenoidlerin hidroksil grubu ve yer değiştirmiş elektronların mevcudiyeti gibi fonksiyonel grupları ile ilgilidir. Fenolik molekül içindeki hidroksil grubunun konumu, antimikrobiyal aktiviteye etki etmez. Farklı konumda hidroksil grubuna sahip karvakrol ve timol’ün her ikisi de *B. cereus*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*’ya benzer antimikrobiyal etki göstermektedir. Her iki bileşenin de mikroorganizma dış membranını parçalayarak etkili olduğu bildirilmiştir (Nazzaro vd. 2013).

1. Terpenler

Monoterpenler:



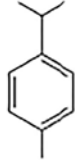
α -pinen



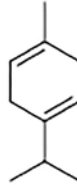
limonen



sabinen

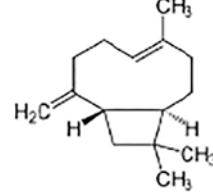


p-Simen



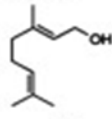
γ -terpinen

Seskiterpenler:

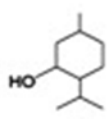


β -karyofilin

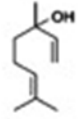
2. Terpenoidler



geraniol



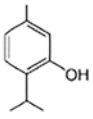
mentol



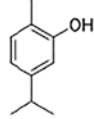
linalol



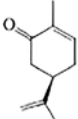
1,8-sineol



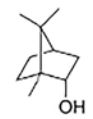
timol



karvakrol

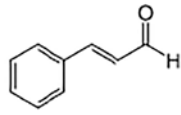


karvon

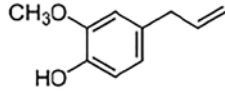


borneol

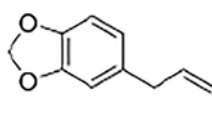
3. Fenilpropanoidler (Aromatik Bileşikler)



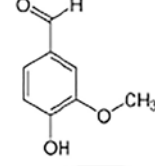
sinnamaldehyt



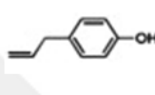
öjenol



safrol

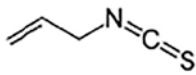


vanilin

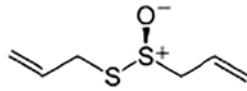


kavikol

4. Diğer Bileşikler



Alil izotiyosiyanat



Allisin

Şekil 2.2 Uçucu yağların önemli koruyucu bileşenlerinin kimyasal yapı formülleri (Jayasena ve Jo 2013, Falleh vd. 2020)

Eser miktarda bulunan fenilpropanoidler türetilen aromatik bileşikler de mevcuttur ve terpenlere kıyasla oldukça düşük miktarda görülmektedir. (Bakkali vd. 2008). En yoğun araştırılan fenilpropanoidler öjenol, izoöjenol, vanilin, safrol ve sinnamaldehyt'tir (Nazzaro vd. 2013). Uçucu yağlarda ayrıca azot ve kükürt bileşiği de görülebilmektedir ve bu bileşenler de temel bileşenlere dahildir (Bajpai vd. 2013).

Karvakrol, timol, öjenol gibi fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteden sorumlu oldukları bilinmektedir (Falleh vd. 2020). Son yıllarda gıda koruyucu olarak doğal yöntemlerin kullanımının tercih edilmesi sonucu, içerdiği fenolik bileşenler sayesinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olan uçucu yağlar sentetik kimyasallara karşı bir alternatif olarak ön plana çıkmaktadır. Fenolik bileşenler en az bir hidroksil gruba sahip bir veya daha fazla aromatik halka ile tanımlanmaktadır. Uçucu yağların genel olarak koruyucu bileşenleri ve kimyasal yapı formülleri şekil 2.2’de gösterilmiştir (Jayasena ve Jo 2013, Falleh vd. 2020).

Gıda koruyucu olarak uçucu yağların kullanımını bazı nedenler kısıtlamaktadır. Bunlar güvenlik sınırları, ürünün duysal niteliklerine etkisi ve bitkinin yetiştirme sürecinden kaynaklanan olası pestisit kalıntısıdır. FDA gibi sağlık kuruluşları uçucu yağların günlük alım miktarını kısıtlayıcı bilgileri tanımlarken aynı zamanda uçucu yağların kimyasal ve toksikolojik analizleri için özel protokoller geliştirmiştir. Bu kapsamda gıda koruyucusu olarak önerilen her uçucu yağın güvenlik sınırı kullanım öncesinde memeli sisteminde doğrulanmalıdır. Doğrulamada en sık kullanılan akut oral yöntem LD₅₀’dir ve yüksek LD₅₀ değeri gıda koruyucu olarak kullanım uygunluğunu göstermektedir. Gıda katkısı olarak kullanılacak uçucu yağın, gıdanın tat ve aromasını değiştirmeyecek oranda kullanımının mikrobiyal gelişimi önlemesi beklenmektedir. Bu amaçla uçucu yağ içeren aktif ambalajlama, modern kapsülleme teknolojileri ya da birleşik stratejiler (başka bir antimikrobiyal ajanla sinerjistik etkileşiminden faydalanma) gibi yöntemlere başvurulmaktadır (Falleh vd. 2020).

Uçucu yağlar antimikrobiyal aktivitesini bakteriyostatik ya da bakterisidal olarak göstermektedir. Bu etkinin uçucu yağların kimyasal bileşenlerinden kaynaklanması ve bu kimyasal bileşenlerin birçok nedenden ötürü farklılık göstermesi nedeniyle etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Falleh vd. 2020). Genel olarak uçucu yağların antimikrobiyal mekanizmasının mikroorganizma genetik materyalini etkilemek, hücre zarının ve duvarının yapısını değiştirmek, enerji metabolizmasını bozmak yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Mikroorganizma yapısında bunların genellikle tek biri değil birden çoğu meydana gelerek hücre canlılığını yitirmektedir. Lipofilik uçucu yağlar mikroorganizma hücre zarının fosfolipit içeren tabakasından kolaylıkla geçerek hücre

zarının geçirgenliğini artırır ve hücre zarına zarar verir. Ayrıca hücre zarındaki enzimatik proteinlerin denaturasyonuna neden olur. Hücre duvarına zarar vererek peptidoglikan sentezini önler ve yine hücre bütünlüğünü bozar. Uçucu yağlar içerdiği terpenoidler ve fenolik bileşikler ile genetik materyale zarar vererek mRNA ve protein üretimini, DNA onarımını engeller. Mikroorganizmanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan enerji üretiminde kullanılan elektron taşıma sistemini bozarak hücre yapısında potansiyel farklar meydana getirir ve hücre için gerekli bileşenlerin kaybına sebep olur (Ni vd. 2021).

Uçucu yağların bileşiminde bulunan fenolik bileşiklerin etkileri mevcut bileşiğin miktarına bağlıdır. Düşük konsantrasyonda enerji üretiminde rol oynayan enzimlere etki ederken, yüksek konsantrasyonda ise proteinleri denatüre edebilir. Genellikle Gram-pozitif bakterilerin uçucu yağlara karşı Gram-negatif bakterilere kıyasla daha duyarlı olduğu, bu durumun farklı hücre duvarı yapısından kaynaklandığı söylenebilir (Nazzaro vd. 2013). Bunun aksine literatürde uçucu yağlara karşı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin duyarlılıklarında bir farkın olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda fark görülemediği ya da sadece inhibitör etki süresinin değiştiği bildirilmiştir (Burt 2004).

Uçucu yağların ve bileşenlerinin antimikrobiyal aktivitesinin kimyasal bileşimlerine ve bu bileşenlerin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmesi nedeniyle mikroorganizma türlerine ve hatta aynı türdeki farklı suşlarına etkisini öngörmek oldukça zordur. Kekik, biberiye ve adaçayı uçucu yağları bileşiminde bulunan monoterpenler ve fenoller sayesinde etkili antimikrobiyal, antifungal ve antiviral aktivite göstermektedir. Biberiye, kekik, fesleğen, adaçayı ve mercanköşkteki uçucu yağ bileşenlerinin *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* ile *Salmonella* türlerine karşı etkili olduğu, ancak *Pseudomonas* türlerine karşı etkisinin zayıf olduğu bildirilmiştir (Nazzaro vd. 2013). Karvakrol, timol, öjenol gibi fenolik bileşiklerce zengin uçucu yağların antibakteriyal aktivitesinin en yüksek düzeyde olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler bakteri zarındaki protein gruplarını etkiler ve hücre geçirgenliğini değiştirerek ölüme neden olurlar. Ayrıca uçucu yağların eser miktarda sahip olduğu bileşenlerin ana uçucu yağ bileşenleriyle sinerjistik etki gösterdiği ve antimikrobiyal etkinliğe yüksek oranda katkı sağladığı belirtilmiştir. *p*-simen ve

karvakrol arasındaki sinerjik etkileşim bu durumun bir örneğidir (Falleh vd. 2020). Literatürde uçucu yağın eser miktarda bulunan bileşenleri ayrılarak elde edilen ana bileşenlerinin antimikrobiyal aktivitesinin, yağın eser bileşenleri de dahil bir bütün olarak kullanıldığındaki aktiviteden düşük olduğu bildirilmiştir. Uçucu yağ bileşenlerinin test edilen mikroorganizmalara ayrı ayrı uygulandığında antibakteriyal etkinlik gösterememiş olmaları, uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğinin sadece ana bileşenler ile ilgili olmadığını, bu bileşenler ile birlikte eser miktarda bulunan bileşenlerin de uçucu yağın aktivitesini etkilediğini göstermiştir (Bajpai vd. 2013).

Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğine dair yapılan çalışmaların sonuçlarını birbiriyle kıyaslamanın zor olmasının birçok nedeni bulunmaktadır. Başlıca neden olarak uçucu yağın biyolojik özelliklerinin hasat dönemi, yetiştirildiği bölge ve iklim gibi çok çeşitli faktörlerden etkilenmesi gösterilebilir. Ayrıca aynı isimdeki bazı yağların farklı bitki türlerinden üretilmesi de önemli bir etkidir. Bitkiye dair özelliklerin dışında antimikrobiyal aktivite ölçümünde kullanılan yöntem ve seçilen mikroorganizma türündeki farklılıklar da kıyaslamayı güçleştirmektedir. Antimikrobiyal aktivite özelliğinin tespitinde genellikle agar disk difüzyon tekniği kullanılmakta, bunun yanı sıra agar ve sıvı dilüsyon tekniği de tercih edilebilmektedir (Hammer vd. 1999).

Uçucu yağların sahip olduğu antioksidan aktivitesi de esas olarak monoterpenler, karvakrol ve timol gibi fenolik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca aldehit, keton, alkol ve eter gibi bileşenlerin de antioksidan aktiviteye katkısı bulunmaktadır (Ni vd. 2021). Uçucu yağda bulunan timol, karvakrol ve öjenol bileşiklerinin antioksidan aktivitesinin en yüksek olduğu bilinmektedir (Tongnuanchan ve Benjakul 2014, Amerah ve Ouwehand 2016). Fenolik bileşiklerin hidroksil grubuna ait hidrojen atomunun serbest radikallere bağlanarak oksidasyonu önleyebildiği bildirilmiştir (Tongnuanchan ve Benjakul 2014). Uçucu yağlar serbest radikalleri temizleme kabiliyeti sayesinde kimyasal antioksidan maddelerin yerini almak için doğal bir aday olarak ön plana çıkmaktadır (Ni vd. 2021). 25 uçucu yağın antioksidan aktivite değerlendirmesinin yapıldığı çalışmada en etkili antioksidan olarak kekik yağı bulunurken, bunu yonca, tarçın, fesleğen, okaliptüs ve papatya izlemiştir. İn-vivo çalışmada kekik uçucu yağının BHT ve askorbik asite göre lipit oksidasyonunu geciktirdiği bildirilmiştir (Ni vd. 2021).

Biberiye uçucucu yağı genellikle Batı Akdeniz bölgesinde yetiştirilen *Rosmarinus* türü, *Labiatae* ya da *Lamiaceae* familyasına ait *Rosmarinus officinalis*, *Rosmarinus eryocalix* ve *Rosmarinus tomentosus* olmak üzere üç farklı türü kapsamaktadır. EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) ve FDA tarafından güvenli olarak listelenen, doğal ve etkili bir gıda koruyucusu olan biberiye yağı düşük maliyetlidir ve yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Hernández vd. 2016). Uçucu yağların bileşenlerinin üretim yöntemi, coğrafi konum gibi birçok faktörden etkilendiği unutulmamalıdır. *Lamiaceae* familyası, kimyasal bileşimine göre etkinliği değişmekle birlikte antimikrobiyal ve antioksidan özellikteki uçucu yağların içindeki en önemli gruplardan biridir. Ancak bu biyolojik aktiviteden fayda sağlayabilmek için gıdada bozulma yaptığı bilinen mikroorganizmalara karşı en etkili kemotip belirlenmelidir (Hernández vd. 2016). Biberiye uçucu yağının koruyucu etkisinden beyaz ve kırmızı et ürünleri, balık ve işlenmiş gıdalarda katkı maddesi olarak veya film kaplamaya eklenerek gıda ambalajlarında kullanımı ile faydalanılabilmektedir (Hernández vd. 2016).

Lamiaceae familyasına ait kekiğin ise (*Thymus*) kimyasal bileşeni birçok faktöre bağlı olarak değişmekle birlikte genel olarak uçucu bileşeninin ana maddesi bir fenolik monoterpenoid olan timol'dur ve kekiğin kendine özgü tipik ve güçlü kokusunu sağlamaktadır (Stahl-Biskup ve Venskutonis 2012). FDA tarafından GRAS statüsünde değerlendirilen kekik *p*-simen, karvakrol, γ -terpinen gibi ana bileşenleri sayesinde güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösterebilmektedir. Koruyuculuğu sağlayan en aktif iki bileşenin fenolik monoterpenoidler olan timol ve karvakrol olduğu, bunların yanı sıra minor bileşikler olan γ -terpinen, *p*-simen gibi monoterpen hidrokarbonlar ile sinerjistik etkinin mümkün olduğu bildirilmiştir. Yiyecek, içecek ve şekerleme üretiminde lezzet arttırıcı ve aroma verici kullanımının yanı sıra gıda koruyucu özellikleri nedeniyle de tercih edilmektedir. Kekik uçucu yağının patojen mikroorganizmalardan *Campylobacter jejuni*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus*'a karşı etki gösterdiği bilinmektedir (Mandal ve DebMandal 2016).

2.4 Yenilebilir Film ve Kaplamalar ve Et ve Et Ürünlerinde Uygulamaları

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdayı depolama, dağıtım ve pazarlama aşamalarında koruması için çeşitli yöntem ve maddelerle elde edilen yenilebilir ve ince bir tabakadır (Grande-Tovar vd. 2018). Bu kaplamaların duyuşal özellikleri uygun, mekanik özellikleri yeterlidir, iyi bariyer özelliğı gösterir ve toksik bileşen içermezler (Chi 2004). Genellikle yenilebilir filmler gıdadan ayrı olarak hazırlanıp gıdaya uygulanırken, yenilebilir kaplamalar doğrudan gıda üzerinde oluşturulmaktadır. Çevresel faktörlerin neden olabileceğı fiziksel, kimyasal ve biyolojik bozulmaya karşı engelleyici bir bariyer görevi görerek antimikrobiyal ve antioksidan koruyuculuk sağlarlar (Grande-Tovar vd. 2018). Yenilebilir film ve kaplamalar taze et ve sucuk-sosis gibi et ürünlerine, kanatlı ve su ürünlerine, meyve-sebze, ekmek, tahıl, peynir ve şekerleme gibi birçok gıdaya uygulanabilirler (Ju vd. 2019, Paul 2020).

Yenilebilir film ve kaplamaların ürünle tüketilebilmesi ve çevre dostu olması gibi avantajları mevcuttur. Tatlandırıcı, renklendirici, aroma verici gibi bileşenler içerdikleri takdirde ürünün duyuşal özelliklerini etkileyerek iyileştirebilirler. Yeni nesil kaplamalara doğal/kimyasal antimikrobiyal ve antioksidan maddeler, enzimler, probiyotikler, vitamin ve mineral gibi bileşenler dahil edilerek işlevselliklerinin artması hedeflenmiştir. Özellikle antimikrobiyal ve antioksidan ajanlar sisteme dahil edilerek kaplama yüzeyinden yavaş ve kontrollü bir şekilde salınımları sağlanmaktadır (Paul 2020).

Yenilebilir kaplama malzemesinin seçimi, uygulanacak ürünün özelliklerine ve depolama koşullarına bağıdır (Paul 2020). Yenilebilir film ve kaplamaların üretimi için temel bileşenler polisakkaritler, proteinler ve lipitlerden oluşmaktadır. Bunların çeşitli oranlarda farklı kombinasyonlarıyla daha iyi fonksiyonel özelliklere sahip kompozit film ve kaplamalar elde edilebilmektedir. Polisakkarit esaslı film ve kaplama üretiminde kitosan, nişasta, aljinat, selüloz, pektin, karregenana, agar ve gam kullanılmaktadır. Protein esaslı film ve kaplamalarda jelatin, peynir altı suyu proteini, buğday gluteni, kolajen, soya proteini kullanılırken; lipit bazlı film ve kaplamalarda parafin, balmumu, asetoglisericit kullanılmaktadır. Polisakkarit bazlı film ve kaplamalar yüksek gaz geçirgenliğine sahiptir, dehidrasyonu, yağ ve aroma kaybını, yüzey kararması ve oksidatif ekşimeyi

kontrol edebilirler. Ancak hidrofilik yapıları sebebiyle su buharı için etkin bir engelleyici özellik gösteremezler. Oksijen iletimini yavaşlatma özelliği ise sahip olduğu en önemli avantajıdır (Paul 2020).

Yenilebilir kaplamalar ürüne genellikle daldırma, püskürtme ve fırçalama yöntemleri ile uygulanırken, yenilebilir filmler dökme, ekstrüzyon ve spinning yöntemi ile oluşturulmaktadır. Kaplama çözeltisi düşük vizkoziteli olduğu takdirde püskürtme yöntemi tercih edilirken, yüksek vizkoziteli çözelti uygulamasında daldırma yöntemi homojen bir kaplama oluşumunu sağlamaktadır (Paul 2020). Daldırma yöntemi ile kaplama yoğunlukla meyve, sebze ve et ürünlerinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde gıda direk kaplama çözeltisine batırılır ve belirli bir süre sonra çıkarılarak doğal kurumaya bırakılır. Kaplamanın özellikleri çözeltinin vizkozitesi, yoğunluğu ve yüzey gerilimine bağlı olarak değişmektedir (Ju vd. 2019).

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdayı dış etmenlerden koruma özelliğinin yanı sıra antioksidanlar, koruyucular, aromalar gibi katkıları ve fonksiyonel bileşikler için taşıyıcı olarak yüksek potansiyele sahiptir. Bu amaçla iyi bir film oluşturma özelliğine sahip olan kitosan antimikrobiyal özelliği ile raf ömrünü uzatmak ve antioksidan özelliği ile gıda kalitesini korumak amacıyla ambalaj ve kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır. Ancak kitosan film ve kaplamaların antimikrobiyal ve fonksiyonel özellikleri birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu faktörler kitosanın deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı gibi moleküler özellikleri, ortamda diğer bileşenlerin mevcudiyeti (protein, lipid, iyon ve diğer gıda bileşenlerinin varlığı, asit türü ve konsantrasyonu), sıcaklık-bağıl nem gibi çevresel etmenler ve kitosanı çözündürmek için kullanılan asit türü olarak sıralanabilir (Chi 2004).

Yenilebilir kaplamalar uygulandığı gıdada nem transferini ve oksijen alışverişini önleyebilir, lezzet bileşenlerinin kaybını engelleyebilir. Kitosan yenilebilir film ve kaplamaların yüksek su buharı geçirgenliğine sahip olması koruyucu etkisini düşürmektedir. Koruyucu etkinin azalmasını önlemek için hidrofobikliği artırmak ve su buharı geçirgenliğini iyileştirmek amacıyla literatürde bir çok denemede uçucu yağlar dahil edilmiş ve sonuç başarılı bulunmuştur (Elsabee ve Abdou 2013).

Uçucu yağların film ve kaplamalara dahil edilmesi sonucu hem filmlerin mekanik özellikleri, hem de oluşan kitosan ve uçucu yağ kombinasyonu ile antimikrobiyal özellikleri geliştirilmektedir (Chi 2004). Uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ile gıda endüstrisinde birçok uygulamaya dahil edildiği; kitosanın organik asitler ve uçucu yağlar ile birlikte kullanımının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini iyileştirebildiği bilinmektedir (Demirok Soncu vd. 2018). Uçucu yağların kararsız yapısı, güçlü aroması ve hidrofobik özellikleri nedeniyle, gıdalara doğrudan eklenerek koruyuculuk sağlanması oldukça zordur. Bu nedenle gıdalarda kullanımında uygun bir kaplama sistemine dahil edilerek sahip oldukları kararsız yapı önlenir, gıda ile temas alanı artarak dağılımı kolaylaşır ve biyolojik aktivitenin sürdürülmesi sağlanır (Ju vd. 2019). Kombine kullanımın aktif bileşiklerin kontrollü salınımına ve nem transferinin kontrolüne olanak sağladığı; lipit, aroma ve lezzet bileşenlerinin kaybını önleyecek şekilde bariyer görevi gördüğü ve bu sayede gıda korumada başarı sağladığı bildirilmiştir (Demirok Soncu vd. 2020). Ayrıca uçucu yağların sahip olduğu güçlü aromasının yanı sıra, antimikrobiyal ve antioksidan etki gösterdiği dozun toksik olabilme riski ve uygulandığı gıdanın duyu niteliğinde değişime yol açması nedeniyle gıdalara doğrudan uygulanması mümkün değildir, ancak yenilebilir film ve kaplamalara dahil edilerek bu sorunlar ortadan kaldırılmaktadır (Paul 2020).

Uçucu yağ içeren yenilebilir kaplamalar gıdaların oksidatif bozulmasını yavaşlatarak ve mikrobiyal gelişimi önleyerek ürünün kalite ve güvenliğini sağlamakta; bu sayede raf ömrünün uzamasına katkıda bulunmaktadır. Yenilebilir kaplamaların antimikrobiyal etkinliği uçucu yağların bileşenlerine bağlıdır. Bununla birlikte kaplama içeriğine dahil edilmeksizin kullanılan serbest uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğinin, uçucu yağ ile zenginleştirilmiş yenilebilir kaplamalara kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ju vd. 2019). Uçucu yağ ile zenginleştirilen kitosan film ve kaplamaların balık ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunu azalttığı ve raf ömrünü arttırdığı; meyve sebze kalitesinin korunmasında ve bozulmayı kontrol etmede saf kitosan kaplamalara göre daha etkili bulunduğu ve ürünün kabul edilebilirliğini etkilemediği belirlenmiştir (Yuan vd. 2016a). Bu yönüyle uçucu yağ içeren yenilebilir kaplamaların gıda kalitesinin korunmasında kullanılması mümkün olan etkili ve yenilikçi bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Ju vd. 2019).

In-vitro çalışmalarda antimikrobiyal etkinliği kanıtlanmış olan uçucu yağların ete uygulanacak miktarını tahmin etmek zordur. Ancak *in-vitro* deneyde etkili olan konsantrasyondan daha yüksek oranda uçucu yağ kullanımının koruyuculuk sağlayabileceği bilinmektedir. Uçucu yağın et ile doğrudan muamelesi ve yüksek konsantrasyonda kullanımı etin duyuşal özelliklerinin değişmesine neden olarak tüketici tarafından reddedilmesine neden olabilir. Hatta bazı uçucu yağlar düşük konsantrasyonlarda bile güçlü ve yoğun bir koku ve tada sahiptirler ve ürünün kabul edilebilirliğini etkilemektedirler. Ayrıca uçucu yağ bileşenlerinin et bileşenleriyle etkileşimi mümkündür ve bunun sonucunda uçucu yağların etkinliği azalabilir. Özetle etin etkili bir şekilde koruyuculuğunu sağlamak için doğrudan uçucu yağ ile muamelesi hem zor, hem de maliyetlidir. Bu nedenle uçucu yağlar aktif ambalaja dahil edilerek veya enkapsüle edilerek ette koruyucu olarak kullanılabilir (Chivandi vd. 2016). Ayrıca uçucu yağ gibi antimikrobiyal ajanların dahil edildiği film ve kaplamaların gıdalara uygulanmasıyla etkin koruyuculuk sağlanabilmektedir (Elsabee ve Abdou 2013). Bu sayede daha düşük konsantrasyonda koruyucu etkinlik sürerken, gıdanın duyuşal özelliklerinin bozulmasının da önüne geçilmiş olur (Yuan vd. 2016a).

Diğer et türlerine kıyasla uygun fiyatı, düşük yağ oranı, yüksek besin değerı ile dünya gıda pazarında önemli bir yere sahip olduğu bilinen kanatlı etlerinin, yüksek nem ve protein içeriğinin yanı sıra yüksek pH değerı nedeniyle mikrobiyal bozulma için ideal bir ortam oluşturuğu bilinmektedir. Depolama süresince mikrobiyal gelişim ve lipid oksidasyonu nedeniyle ürünlerde kalite kaybı yaşanabilmekte ve raf ömrü kısalmaktadır. Bunu önleyerek raf ömrünü uzatmak ve tüketici tercihini etkileyen kimyasal katkıların kullanımından kaçınmak için doğal antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerin kullanımı gerekliliği doğmuştur. Biyobozunur film ve kaplama olarak kitosanın uçucu yağlar ile kombine kullanımının koruyucu etkisi önemli bulunmuştur (Taheri vd. 2018).

Kitosan, uçucu yağ ile zenginleştirilmiş kitosan film ve kaplamaların kanatlı eti ve ürünlerine uygulanmasına dair literatürdeki mevcut çalışmalardan bazıları aşağıda derlenmiştir.

Vasilatos ve Savvaidis (2013), vakum ambalajlanmış ve 2 °C’de depolanan taze hindi etinin raf ömrüne kitosan ve biberiye yağının etkisini araştırmıştır. Bu amaçla kontrol örnekleri, %0.25 (v/w) biberiye ile muamele edilen örnek, %1.5 (w/v) kitosan ile muamele edilen örnek ve aynı oranlarda kitosan-biberiye ile muamele edilen örnek olmak üzere dört grupta yürütülen çalışmada kontrol grubunun raf ömrünün 10 gün olduğu, buna karşın biberiye ile muamele edilen grubun raf ömrünün 17-18 güne, kitosan ve kitosan-biberiye içeren her iki grubun raf ömrünün ise 21 güne kadar çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca biberiye- kitosan çözeltisine daldırılan hindi eti filetosunda duyuşal bir kaybın olmadığı, baharatlı limonsu bir aroma oluştuğı bildirilmiştir.

Karimnezhad vd. (2019), oregano uçucu yağı ile zenginleştirilmiş kitosan film kaplamanın (yüksek molekül ağırlıklı), 4 °C’de 12 gün depolanan tavuk filetolarının mikrobiyal kalitesinin korunmasına katkısını araştırmıştır. Bu amaçla işlem görmemiş kontrol grubu, %2 (w/v) kitosan, %1 ve %2 oregano uçucu yağı içeren kitosan yenilebilir film kaplama olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Oregano ile zenginleştirilmiş yenilebilir kitosan kaplama içeren grupların TAMB (Toplam aerobik mezofil bakteri) sayısı, toplam psikrofil ve koliform sayısında kontrol grubuna kıyasla azalmanın anlamlı bulunduğı, %2 oregano uçucu yağı içeren kitosan filmin mikrobiyal gelişimi en etkili şekilde inhibe ettiğı bildirilmiştir.

Sharafati Chaleshtori vd. (2016), kimyon ve okaliptüs uçucu yağı içeren kitosan film kaplamanın taze tavuk etinin raf ömrüne etkisini 4 °C’de 9 gün depolama sürecinde araştırdığı çalışmada %0.5, %1 ve %2 konsantrasyonlarda uçucu yağ kullanmıştır. Mikrobiyal kalitenin belirlenmesi için toplam aerobik bakteri, LAB, *Enterobacteriaceae*, küf ve maya analizleri yapılmıştır. Kontrol grubu harici tüm gruplarda toplam aerobik bakteri sayısında azalmanın 6. güne kadar sürdüğü, *Enterobacteriaceae*, LAB, küf-maya sayısında azalmanın ise dokuzuncu güne kadar sürdüğü bildirilmiştir. Duyusal kabul edilebilirliğı en yüksek grubun %0.5 kimyon- kitosan film kaplama, en düşük grubun ise %2 kimyon- kitosan film kaplama içeren tavuk eti olduğu bildirilmiştir.

Giatrakou vd. (2010a), kekik uçucu yağı ve kitosan ile muamele edilmiş pişirilmeye hazır tavuk şiş kebabın aerobik koşullarda 4 °C’de 12 gün süresince depolanmasındaki

değişimleri incelemiştir. Kontrol örnekleri, %1.5 kitosan içeren örnekler, %0.2 kekik uçucu yağı içeren örnekler ve aynı konsantrasyonlarda kekik-kitosan içeren örnekler olmak üzere dört gruba ayrılmış, çözeltilerin uygulaması püskürtme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. En etkili sonuç veren ve duyuşal olarak en kabul edilir grup olan kekik-kitosan muamelesi *Enterobacteriaceae*, LAB, *Brochothrix thermosphacta* sayımlarında 2-3 log (logaritmik) birim azalma sağlamıştır. En dayanıklı grup olarak belirlenen *Pseudomonas* sayımında ise 1.5 log düzeyde azalma görülmüştür.

Giatrakou vd. (2010b), pişirilmeye hazır tavuk-biber şiş kebaba kekik uçucu yağı ve kitosan muamelesini püskürtme yöntemi ile gerçekleştirmiş ve modifiye atmosfer ambalajlama (MAA) uygulayarak 4 °C'de 14 gün depolama sürecindeki değişimleri incelemiştir. Aerobik depolanan numuneler kontrol grubu olarak belirlenirken, işlem gören gruplar: sadece MAA uygulanmış grup, %1.5 kitosan içeren grup (v/w), %0.2 kekik uçucu yağı (v/w) içeren grup ve kitosan-kekik uçucu yağı içeren grup olarak belirlenmiştir. Depolama süresince kitosan-kekik ile muamele edilen gruplarda toplam canlı sayısının yanı sıra maya-küf, *Pseudomonas* türleri, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta* ve LAB sayılarının belirgin şekilde etkilendiği ve uygulamanın mikrobiyal kaliteyi koruduğu bildirilmiştir. İşlem görmüş tüm grupların TBA (Tiyobarbiturik asit) değerleri, kontrol grubu ve sadece MAA uygulanmış grupların TBA değerinden düşük belirlenmiştir. En etkili korumanın kitosan ve kekik uçucu yağının birlikte uygulandığı grupta olduğu bildirilmiştir.

Bazargani-Gilani vd. (2015), kekik benzeri bir bitki olan *Zataria multiflora*'dan elde edilen uçucu yağ ile zenginleştirilen nar suyu ve kitosan kaplamanın 4 °C'de depolanan tavuk göğüs etine etkisini araştırmıştır. Çalışmada işlem görmemiş kontrol örneği, sadece nar suyu, nar suyu ve kitosan (%1.5 w/v), nar suyu-kitosan-%1 uçucu yağ ve nar suyu-kitosan-%2 uçucu yağ ile muamele edilen örnekler olmak üzere beş grup oluşturulmuştur. Kontrol grubuna göre işlem görmüş tüm gruplarda raf ömründe 10-15 günlük artış sağlanmıştır. Ayrıca psikrotrof bakteri sayısı, maya-küf, LAB, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* türlerinin sayısında azalma görülmüştür. TBARM, peroksit değeri ve protein oksidasyonu da kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Nar

suyu-kitosan-%2 uçucu yağ muamelesinin mikrobiyal gelişim ve kimyasal değişiklikler üzerinde en etkin grup olduğu görülmüştür.

Shekarforoush vd. (2015), İran'ın geleneksel ızgaralık tavuk eti için kitosan ve oregano uçucu yağının koruyuculuğunu araştırmıştır. Bahsedilen et, tavuk göğsünün küp şeklinde doğranıp baharat, yağ, asetik asit ve tuz ile harmanlanmasıyla elde edilen endüstriyel bir üründür. 3 °C, 8 °C ve 20 °C'de depolama yapılan çalışmada şu şekilde gruplandırma yapılmıştır: kontrol grubu, %2 kitosan içeren grup, %15 oregano uçucu yağı içeren grup ve kitosan-oregano içeren grup. Oregano uçucu yağı içeren grubun en yüksek antibakteriyal aktivitesinin aerobik canlı sayısı ve LAB için 3 °C'de, psikrofilik sayımı ve *Enterobacteriaceae* sayımı için ise 8 °C'de görüldüğü bildirilirken, 20 °C antibakteriyal etki görülememiştir. Kitosanın tek başına yeterli etkiyi gösteremediği, kekik ile birleştiğinde sinerjik antibakteriyel etkinin ortaya çıktığı, 3 °C ve 8 °C'de depolanan tavuk etinde bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca numunelere *E.coli* O157:H7 ve *L.monocytogenes* inokülasyonu yapılarak elde edilen sonuçlarda: oreganonun *E.coli* O157:H7 serotipine karşı etkili olduğu ancak *L. monocytogenes*'in inhibisyonunu sağlayamadığı, kitosanın ise diğer bozulma yapan mikroorganizmalar ve *E. coli* üzerinde etkili olamamasına karşın *L. monocytogenes*'e karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum Gram (+) bakterilerin kitosana daha duyarlı olmasına atfedilmiştir.

Chaleshtori ve Chaleshtori (2017), oregano ve limon uçucu yağları ile zenginleştirilmiş kitosan kaplamanın broiler göğüs etinin 4 °C'de 9 gün depolanması sürecindeki mikrobiyal kalitesine etkisini araştırmıştır. Bu amaçla %0.5, %1 ve %2 (w/v) oregano uçucu yağı ve aynı konsantrasyonlardaki limon uçucu yağı ilavesi ile hazırlanan %2 kitosan içeren çözeltilere daldırılan örnekler, sadece kitosan ile muamele edilen örnekler ve kontrol örnekleri olarak 8 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla uçucu yağ ile muamele edilen gruplarda toplam canlı sayısında 6. güne kadar azalma görülürken, 9. günde artış yaşamıştır. Küf- maya, LAB, *Enterobacteriaceae* sayısında kontrol grubuna göre 9. güne kadar azalma görülmüştür. Duyusal kabul edilebilirlik en yüksek %1 limon uçucu yağı içeren tavuk etinde, en düşük ise %2 oregano uçucu yağı içeren kitosan kaplı tavuk etinde bulunmuştur

Petrou vd. (2012), oregano ve kitosan ile muamelenin sonuçlarını MAA uygulanmış tavuk göğüs eti filetolarında 4 °C’de 21 gün depolama süresince araştırmıştır. Kontrol grubu dahil tüm gruplara MAA uygulanan çalışmada %0.25 (v/w) oregano, %1.5 (w/v) kitosan ve kitosan-oregano olmak üzere 4 grup belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla oregano içeren örneklerin raf ömründe yaklaşık 6 günlük, kitosan ve kitosan-oregano içeren örneklerin raf ömründe yaklaşık 10 günlük uzama sağlanmıştır. Lipit oksidasyonu tüm gruplarda 0.5 mg MDA/kg’ın altında olmakla birlikte, işlem görmüş gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük değerler görülmüştür. Depolama süresi sonunda en düşük değer 0.1 mg MDA/kg ile kitosan-oregano ile muamele edilen grupta tespit edilmiştir

Mehdizadeh ve Langroodi (2019), tavuk göğüs filetolarının 4 °C’de 16 gün depolanması sürecinde kitosan ve *Zataria multiflora* uçucu yağı içeren propolis ekstresi ile muamelenin etkisini araştırmıştır. Depolama süresi sonunda toplam canlı sayımı, psikrotrof bakteri, LAB, *Pseudomonas* türleri sayısının en düşük olduğu iki grup kitosan-propolis ekstraktı (%1)-*Zataria multiflora* uçucu yağı (%0.5) ve kitosan-propolis ekstraktı (%1)-*Zataria multiflora* uçucu yağı (%1) olarak tespit edilmiş ve duyuşal olarak kabul edilebilir bulunmuştur. Lipit oksidasyonunu göstergesi olan TBA sayısı kitosan kaplı tavuk etinde depolama süresince kontrol grubuna kıyasla düşük olmasına karşın; diğer işlem görmüş örneklerde daha düşük oranda tespit edilmiştir.

Khorshidi vd. (2020), tavuk butlarını yeşil kakule (*Elettaria Cardamomum*) uçucu yağı ve ekstraktını içeren kitosan kaplama (%2 v/v) ile muamele ederek vakumlu ambalajlamış ve 4 °C’de 16 gün depolanması sürecindeki etkilerini incelemiştir. Kaplamanın duyuşal kaliteyi korumaya yardımcı olduğu belirtilmiştir. Depolama sürecinde tüm işlem görmüş örneklerin TAMB sayısı ve TBA değerinin kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu, kaplama içeren tüm örneklerde *Enterobacteriaceae*, psikrotrofik ve hidrojen sülfür (H₂S) üreten bakterilerin gelişiminin önemli ölçüde yavaşladığı bildirilmiştir.

Karimnezhad vd. (2017), *Trachyspermum ammi* (Mısır anasonu) uçucu yağı (%1 ve %2) ile zenginleştirilmiş yenilebilir kitosan film kaplamanın tavuk filetonun raf ömrüne etkisini araştırdıkları çalışmada yüksek molekül ağırlıklı kitosan kullanmıştır. 4 °C’de 12

gün depolanan örnekler içerisinde, %2 uçucu yağ içeren kitosan film kaplama örneklerinin koliform bakteriler, toplam aerobik ve psikrofilik bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisinin en yüksek olduğu görülmüştür. Depolama sonunda % 2 uçucu yağ içeren kaplama grubunda toplam aerobik ve psikrofilik bakteriler sayısı en düşük tespit edilmiştir (4.56 cfu/g ve 4.59 cfu/g). *T. ammi* uçucu yağının kitosan filmlere dahil edilmesinin aktif ambalaj olarak kullanım potansiyelinin bulunduğu bildirilmiştir.

Kanatt vd. (2013), tavuk köfte, tavuk ve koyun şiş kebab ürünlerine kitosan kaplamanın etkisini 0-3 °C’de 14 gün depolama süresince araştırmıştır. Kitosana daldırılan örneklerde lipid oksidasyonunun yavaşladığı, toplam aerob bakteri sayısı artışının geciktirildiği bildirilmiştir. %2 kitosan ile muamele edilen ürünlerde raf ömrünün duyu niteliklerinde olumsuz bir değişim olmaksızın 10 güne kadar uzadığı görülmüştür. Tüm ürün gruplarında depolama sürecinde TBA değeri kaplanmamış örneklerde hızla artarken, kitosan kaplanmış örneklerde TBA artış hızı yavaşlatılmış ve kitosan kaplamanın lipid oksidasyonunu engellediği bildirilmiştir.

Ruíz-Cruz vd. (2019), tavuk filetonun 4 °C’de 16 gün depolama sürecine kitosan kaplama ve domates ekstraktının katkısını incelemiştir. İşlem görmüş tüm gruplarda TAMB sayısı kontrol grubuna göre 1 log cfu/g birim azalmış, en düşük sonuç %1 kitosan-%0.3 domates ekstraktı içeren grupta alınmıştır. Psikrofilik bakteri sayısı için de benzer sonuçlar alınmıştır. %1 kitosan-%0.1 domates ekstraktı ile muamele edilen numunenin antioksidan kapasitesi ve genel kabul edilebilirliği en yüksek bulunmuştur.

Eldaly vd. (2018), taze göğüs etinden elde edilen tavuk filetonun 4 °C’de 15 gün depolanması sürecinde kitosan kaplamanın raf ömrü ve duyu niteliklere etkisini araştırdığı çalışmada %1, %1.5 ve %2 konsantrasyonlarda kitosan ile kaplama yapmıştır. Kaplama yapılmamış kontrol numunelerinin raf ömrü 3 gün ile sınırlı kalırken, kaplama içeren numunelerin raf ömrü 12 güne çıkmıştır ve duyu nitelikleri olumsuz yönde etkilenmemiştir. 12 gün depolama sonunda işlem görmüş örneklerde TAMB sayısı 5.99-6.97 log CFU/g aralığında ölçülmüştür.

Assanti vd. (2021), 4 °C’de 12 gün depolanan tavuk burgere uygulanan %1 kitosan kaplama ve MAA uygulamanın etkisini araştırmıştır. Duyusal, mikrobiyolojik ve fizikokimyasal analizler neticesinde aerobik paketlenen kontrol örneğinde raf ömrü 4 gün, vakum ambalaj uygulanmış örnekte 8 gün, kitosan uygulanmış örnekte 10 gün iken, hem kitosan hem MAA uygulanmış örnekte 12 gün olarak tespit edilmiş ve kitosan-MAA uygulamasının tavuk burgerin raf ömrünü arttırdığı bildirilmiştir.

Sotoudeh vd. (2020), tavuk göğüs filetolara kitosan (%2) ve kitosan-nisin kaplama uygulamasının etkilerini 4 °C’de 7 gün depolanması süresince izlemiştir. Kitosan kaplama içeren örneklerin raf ömrünün 3 gün arttığı, kitosan-nisin kaplanan örneklerde ise 7 günlük bir artış olduğu görülmüştür. Kitosan kaplama 5. güne kadar *Salmonella* ve *Staphylococcus aureus* koagulaz (+) bakterilerine inhibitor etki göstermiş, kitosan-nisin kaplama ise 7 günlük depolama süresince bu bakterilerin yanı sıra toplam canlı sayısının artışı da önlemiştir.

Barbosa vd. (2015), *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella enteritidis* inoküle edilen ve 4 °C’de depolanan tavuk sosislere %0.3, %1 ve %1.5 oregano ve fesleğen uçucu yağları muamelesinin etkisini araştırmıştır. *Listeria monocytogenes* sayısında azalma her iki uçucu yağın %1.5 konsantrasyonunda görülmüştür. 5 saat sonunda *Salmonella enteritidis* sayısındaki en yüksek azalma oranını %1 oregano uçucu yağı ile muamele edilen örnek vermiş ve bu etkisini 24 saat sonunda arttırarak sürdürmüştür. Oregano ve fesleğen uçucu yağlarının *Salmonella enteritidis* inhibisyonunda başarılı olduğu, *Listeria monocytogenes*’i ise daha az etkilediği bildirilmiştir.

Fратиanni vd. (2010), kekik (*Thymus vulgaris*) ve oğul otu (melisa) uçucu yağlarının mikrobiyal bozulma ve oksidasyona karşı koruyuculuğunu taze tavuk göğüs etinde 4 °C’de 3 hafta depolanması sürecinde araştırmıştır. Kekik ve oğul otu uçucu yağları DPPH radikal oluşumunu sırasıyla %25-30 ve %20 oranında azaltmış, kekiğin daha yüksek oranda karvakrol içeriğine sahip olması nedeniyle daha yüksek antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. Her iki uçucu yağ da lipit peroksidasyonunu önleyerek 2 hafta depolama süresinin devamında da koruma sağlamış ve toplam aerobik bakteri sayısında kontrol grubuna kıyasla %50 azalma görülmüştür.

Chouliara vd (2007), taze tavuk göğüs etine %0.1 ve %1 oregano uçucu yağı uygulaması ve farklı MAP yöntemlerinin birlikte ve ayrı kullanımının kalite kaybını önlemeye etkisini 4 °C'de depolama süresince araştırmıştır. Toplam canlı sayımında işlem görmemiş kontrol grubu 5-6 günde 7 log cfu/g değerine ulaşırken, %0.1 oregano içeren numuneler 6-7 gün, %1 oregano içeren numuneler 25 gün, MAP-%0.1 oregano içeren numuneler yaklaşık 14-15 günde bu değere ulaşmıştır. Bütün numunelerde TBA değerleri 0.1-0.9 mg MDA/kg et aralığında tespit edilmiş, beklenmedik şekilde MAP ve oregano uygulamasının lipid oksidasyon düzeyinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir azalma sağlamadığı görülmüştür.

Yaghoubi vd. (2021), *Artemisia fragrans* (Kokulu Pelinotu) uçucu yağı ve kitosanın 4 °C'de 12 gün depolanan tavuk göğüs filetoalarının raf ömrüne etkisini araştırmıştır. Bu amaçla 500, 1000, 1500 ppm konsantrasyonda uçucu yağ, %1 konsantrasyonda kitosan kullanılmıştır. Kaplama içeren örneklerin fizikokimyasal özelliklerinin daha etkin korunduğu, mikrobiyal gelişime karşı da daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. En etkili bulunan 1500 ppm uçucu yağ-kitosan kaplanan grubun depolama sonunda TBARM değeri 1.61 mg MDA/kg olarak belirlenirken; toplam canlı sayısı 5.32 log cfu/g olarak belirlenmiştir.

Tavuk eti dışında kitosan ile hazırlanan yenilebilir kaplamaların farklı etlerin kalitesine etkilerinin araştırıldığı ülkemizde yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Aşık ve Candoğan (2014), % 0.5, % 1.0 ve % 1.5 konsantrasyonda sarımsak yağı (*Allium sativum*) içeren kitosan yenilebilir kaplamaların karides (*Parapenaeus longirostris*) kalitesi üzerine etkisini 4°C'de 11 gün depolama süresince araştırmışlardır. Kitosan yenilebilir kaplama uygulanan numunelerin pH değeri, kaplanmamış kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur. Kitosan kaplanmış numunelerde toplam aerob bakteri sayısında kontrol grubuna kıyasla 2 log birim azalma sağlamış; ayrıca sarımsak yağı ve kitosanın kombine kullanımı ile karidesin raf ömrünü uzatılmıştır. Kitosanın antioksidan aktivitesinin depolama başlangıcında etkili olduğu, sarımsak yağı ilavesinin ise lipid oksidasyonunu hızlandırdığı belirlenmiştir. Karidesin raf ömrünün uzatılmasında (4°C depolamada), kitosan kaplamaya %0.5 konsantrasyonda sarımsak yağı ilavesinin faydalı

olabileceği bildirilmiştir. Özkan (2016), kitosan çözeltilerine daldırmanın kokteyl sosislerin soğukta depolanması sırasında mikrobiyolojik kalitesine etkilerini incelemiş, bu işlemin, sosislerin *Enterobacteriaceae* ve maya-küf sayılarını 15 gün boyunca önemli düzeyde azalttığını belirlemiştir. Erge ve Eren (2021), tavuk köftelerine tavuk jelatini, kitosan ve sorbitolden oluşan kaplama işlemi uygulamış ve donmuş depolama sırasında kalite değişimini incelemişlerdir. Kaplama çözeltisinde jelatin ve kitosan oranı arttıkça lipid oksidasyonunun belirgin bir şekilde azaldığı ve kitosan uygulamasının sertliği azaltarak tekstürel özellikleri iyileştirdiği ifade edilmiştir.

Literatür taraması sonucu, tavuk etinin soğukta depolanması sırasında oksidasyonu geciktirmek ve raf ömrünü artırmak amacıyla kitosan-uçucu yağ kombinasyonunun daldırma yolu ile ete uygulanmasının etkili olacağı görülmüştür. Tavuk eti ile uyumlu baharatlar olmaları, antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin olması nedeniyle kekik ve biberiye yağları seçilmiştir. Bu amaçla % 1 kitosan içeren, % 1 kitosan + % 1 kekik yağı içeren, % 1 kitosan + % 1 biberiye yağı içeren çözeltiler hazırlanmış ve tavuk göğüs etleri bu çözeltilere daldırılarak soğuk depolama süresince raf ömrüne ve lipid oksidasyonuna etkileri hiçbir çözelti ile muamale edilmeyen kontrol örneklerle karşılaştırılmıştır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Piliç eti

Çalışmada, ticari bir firmanın (Gedik Piliç, Uşak) 12 saat önce kesilmiş ve tabaklanmış derisiz etlik piliç göğüs etleri kullanılmıştır. Göğüs etleri hijyenik şartlarda laboratuvara getirilmiş ve 40 ± 2 gramlık eşit büyüklüklerde kesilerek hazırlanmıştır.

3.1.2 Kitosan, kekik yağı ve biberiye yağı

Çalışmada kullanılan kitosan, orta düzey molekül ağırlığında (MA: ~190-310 kDa), %75-85 deasetilasyon derecesine sahip, viskozitesi 200-800 cP'dir (%1 asetik asitte hazırlanmış %1'lik konsantrasyon için, 25°C 'de, Brookfield viskozimetre) (Sigma-Aldrich, Co., St. Luis, MO, A.B.D.).

Gıda ölçeğinde ve %100 saflıkta kekik yağı (*Thymus zygis*) (Naturdan Doğal ve Bitkisel Ürünler, İzmir) ve biberiye yağı (*Rosemarinus officinalis*) (Naturdan Doğal ve Bitkisel Ürünler, İzmir) kullanılmıştır. Kekik uçucu yağı; başlıca p-cymene, γ -terpinen, thymol, β -pipene ve α -pipene aktif bileşenleri içermektedir (Viuda-Martos vd. 2009, Borugă vd. 2014, Demirok Soncu vd. 2020). Biberiye uçucu yağı; başlıca Eucalyptol, camphor, α -pipene, camphene, β -pipene, %3.3 limonene, aktif bileşenleri içermektedir (Peng vd. 2005, Vital vd. 2016, Demirok Soncu 2020).

3.2 Yöntem

3.2.1 Kaplama çözeltilerinin hazırlanması ve piliç etine uygulanması

Kitosan çözeltisi (w/w), %1 kitosan ve çözücü olarak %1 asetik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Bu amaçla, kitosanın %1'lik çözeltisi için, 1 gram kitosan, 98 g destile su

ile 10 dakika karıştırılmış ve üzerine 1 g asetik asit ilave edilerek yaklaşık 16 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözündürülmüş ve 8 kat tülbentten geçirilerek safsızlık unsurları uzaklaştırılmıştır.

Kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinin hazırlanmasında, 1 gram kitosan, 96.5 g destile su ile yaklaşık 10 dakika karıştırılmış ve üzerine 1 g asetik asit ilave edilerek 16 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözündürülmüş ve tülbentten geçirilmiştir. Aynı bir yerde 1 g yağ ve 0.5 g Tween 20 (%0.5) (yağın sulu çözeltide karışmasını sağlamak için) karıştırılmış ve kitosan çözeltisine ilave edilerek 30 dakika iyice karışmaları sağlanmıştır. Kekik yağı ve biberiye yağı ile zenginleştirilmiş kitosan çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmış ve buzdolabında bekletilerek sıcaklıkları 4°C'ye düşürülmüştür.

Aynı partide kesimi yapılan piliç göğüs etleri 40 ± 2 g'lık eşit büyüklüklerde hazırlanarak, dört gruba ayrılmıştır: (i) herhangi bir işlem yapılmayan kontrol (K) grubu, (ii) %1 kitosan çözeltisi ile kaplanan grup (C), (iii) kitosan-kekik yağı çözeltisi ile kaplanan grup (CT), (iv) kitosan-biberiye yağı çözeltisi ile kaplanan grup (CR). Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan göğüs etleri buzda bekletilerek sıcaklıkları 4°C'nin altında tutulmuştur. Her bir grup etler, hazırlanan çözeltilere (4°C'de) 15 dakika daldırılmış ve 1 dakika drene edildikten sonra steril örnek poşetlerine yerleştirilerek, $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanmıştır. Analizler için örnekler 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerde alınmıştır. Çalışma üç kez yapılmış ve her biri bir tekerrür olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinde yapılan analizler

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinde opaklık, renk (L^* , a^* , b^*), toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır.

3.2.2.1 Opaklık ve renk ölçümü

Çözeltilerin opaklığı, Park vd. (2004)'nin yöntemine göre yapılmıştır. Kitosan, kitosan-kekik yağı, kitosan-biberiye yağı çözeltileri 1 cm ışık yollu cam kuvarz spektro küvetine alınarak absorbans 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Referans olarak boş küvet kullanılmıştır. Çözeltilerin opaklığı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$T = \frac{Abs_{600}}{d}$$

Burada; T transparanlık, Abs_{600} 600 nm deki absorbans, d küvet ışık yolu kalınlığıdır (mm). Bu eşitliğe göre, yüksek T değeri daha düşük transparanlığı ve daha yüksek opaklığı göstermektedir (Siripatrawan ve Harte 2010).

Renk ölçümü için L^* , a^* , b^* renk değerlerinin okunmasında reflektans spektrofotometresi (Minolta CM-3600d, Osaka, Japonya) kullanılmıştır. Her bir örnekte 5 okuma yapılmış ve aritmetik ortalaması alınmıştır.

3.2.2.2 Toplam fenolik madde analizi

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri için, Ballester-Costa vd. (2016)'nın yöntemi modifiye edilerek seyreltme ve ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bu amaçla 2 ml örnek metanol ile 10 ml'ye tamamlanmış ve şiddetli bir şekilde 2 dakika karıştırılmıştır. Yaklaşık 2 saat ultrasonik su banyosunda bekletildikten sonra 8000 x g'de 4°C'de 20 dakika santrifüjlenmiştir (Hermle Z326K, Almanya). Üstteki kısım toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizlerinde kullanılmıştır. Çözeltilerin toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965)'nin anlattığı yöntemle göre Folin-Ciocalteau reaktifi kullanılarak yapılmıştır. Bunun için, ekstrakte edilen örnekten 50 µl, 3 ml destile su ve 250 µl Folin-Ciocalteau reaktifi ile karıştırılmıştır. Bu çözeltiye 8 dakika sonra 750 µl sodyum karbonat (%20'lik) ve 950 µl destile su ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra 765 nm'de absorbans ölçülmüştür. Toplam fenolik madde

konsantrasyonu gallik asit (gae) standart kurvesi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar µg gae/ml örnek olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.3 Antioksidan aktivite analizleri

3.2.2.3.1 DPPH radikal temizleme analizi

Çözeltilerin DPPH radikal temizleme analizi, Blois (1958) ve Gonzalez-Aquilar vd. (2007)'nin yöntemleri modifiye edilerek yapılmıştır. Yukarıda anlatıldığı şekilde ekstrakte edilen örnekten 0.1 ml, 3.9 ml 0.2 mM metanolde hazırlanmış DPPH• reaktif çözeltisi ile karıştırılmış ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Çözeltinin absorbansı 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Çözeltilerin radikal temizleme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve DPPH inhibisyon yüzdesi (%) olarak ifade edilmiştir. Kontrol örnek, 0.1 ml metanol ve 3.9 ml 0.2 mM DPPH çözeltisi ile hazırlanmıştır (Gonzalez-Aquilar vd. 2007).

$$\text{DPPH radikal temizleme aktivitesi (\%)} = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{ekstrakt}}{Abs_{DPPH}} \times 100$$

Abs_{DPPH} = metanolik DPPH çözeltisinin 517 nm' deki absorbansı

$Abs_{ekstrakt}$ = Örnek ekstraktının 517 nm' deki absorbansı

3.2.2.3.2 Demir indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP) analizi

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerinde FRAP analizi Benzie ve Strain (1996) ve Yuan vd. (2016b)'nin yöntemlerine göre yapılmıştır. 300 mM asetat buffer (pH 3.6), 20 mM demir klorür ve 10 mM 2,4,6-tripiryridyl-S-triazine (40 mM HCl de hazırlanmış) çözeltileri sırasıyla 10:1:1 (v/v/v) oranlarında karıştırılarak elde edilen FRAP çalışma çözeltisi günlük olarak hazırlanmıştır. Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan örnekten 20 µl, 2.8 ml FRAP çalışma çözeltisine eklenerek 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiş ve karıştırılmıştır. Çözeltinin absorbansı 593 nm dalga boyunda ölçülmüş ve sonuçlar µg Trolox eşdeğeri/ml örnek olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.4 Antimikrobiyal aktivite analizi

Kitosan, kitosan-kekik uçucu yağı ve kitosan-biberiye uçucu yağı içeren çözeltilerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde “disk difüzyon yöntemi” kullanılmıştır (Tepe vd. 2005; Issabeagloo vd. 2012). Kitosan ve kitosan-uçucu yağ karışımlarının antimikrobiyal aktivitesi, gıda kaynaklı patojenler olan *Escherichia coli* tip I (ATCC 10536), *Escherichia coli* O157:H7 (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi Kültür Koleksiyonu), *Staphylococcus aureus* (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi Kültür Koleksiyonu), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Salmonella* Enteritidis MET S1-660 ve *Salmonella* Typhimurium MET S1-663’e karşı belirlenmiştir.

İndikatör mikroorganizma kültürleri, tryptic soy broth (TSB) sıvı besiyerinde 37°C’de 18 saat süreyle geliştirilerek yaklaşık 10^8 kob/ml bakteri içeren standart inokulum hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan standart bakteri süspansiyonlarından 100 µl alınarak, steril tryptic soy agar (TSA) besiyerine yayılmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi ölçülecek kitosan, kitosan-kekik uçucu yağı ve kitosan-biberiye uçucu yağı çözeltilerinden 20 µl alınarak 6 mm çaplı disklerle emdirilmiş ve inoküle edilmiş agar üzerine yerleştirilmiştir. Petriler 4°C’de 2 saat bekletildikten sonra, 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan tam berrak inhibisyon zonları “mm” olarak ölçülmüştür (6 mm disk çapı dahil). Pozitif kontrol olarak kloramfenikol (30 µg/disk) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örnek emdirilmemiş diskler, otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edilip, 37°C’de yaklaşık 1 gün süreyle bekletildikten sonra kullanılmıştır.

3.2.3 Piliç etinde yapılan analizler

3.2.3.1 Kimyasal bileşim analizleri

Piliç göğüs etinin nem, yağ, protein ve kül miktarları AOAC’a göre (Anonymous 2010) belirlenmiştir. Nem miktarı için, 5 g örnek daha önce 105 ± 1 °C’deki etüvde sabit tartıma

getirilmiş ve darası alınmış kuru madde kaplarına hassas (0.0001 g) tartılmış ve aynı sıcaklıktaki etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Nem miktarı, meydana gelen ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır.

Kül miktarı için, 3 g örnek önceden sabit ağırlığa getirilmiş krozeye hassas (0.0001 g) tartılmış, 105 ± 1 °C'deki etüvde, kül fırınında oluşabilecek sıçramaları önlemek için 12 saat kurutulmuştur. Krozeler kül fırınına alınmış ve sıcaklık kademeli olarak arttırılarak 550°C'ye getirilmiştir. Bu sıcaklıkta gri-beyaz kül rengi elde edilene kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Kül miktarı, meydana gelen ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır.

Yağ miktarı için, suyu uzaklaştırılmış örnek kullanılmıştır. Örneklerin yağı, Soxhlet düzeneğinde çözücü olarak petrol eteri kullanılarak yaklaşık 7 saat ekstrakte edilmiştir. Örneklerin yağ miktarı % olarak hesaplanmıştır.

Örneklerin protein miktarı (%) tespiti için % azot miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiş ve elde edilen değer 6.25 faktörüyle çarpılmıştır.

3.2.3.2 pH analizi

10 g örnek üzerine 100 ml destile su ilave edilerek ultra-turraks yardımı ile homojenize edilmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak pH metrede (Seven compact S220 pH metre, Mettler Toledo AG, İsviçre) ölçüm yapılmıştır. Örneklerde ölçümden önce pH metre pH 4, 7 ve 9 tampon çözeltiler kullanılarak kalibre edilmiştir.

3.2.3.3 Tiyoarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) analizi

Piliç göğüs etinde TBARM analizi için Alasnier vd. (2000)'in kullandığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Kıyılmış 2 g tavuk göğüs etine 1 ml %2'lik BHT (etanolda hazırlanmış) çözeltisi ve 16 ml %5'lik triklorasetik asit (TCA) eklenmiş ve yüksek devirde 20 saniye ultra turraks (Kinematica, polytron, İsviçre) ile homojenize

edilerek Whatman no. 40 filtre kağıdından filtre edilmiştir. Vida kapaklı cam deney tüpüne 2 ml filtrat, 2 ml 20 mM TBA (0.1 N HCl ile hazırlanmış) çözeltisi eklenmiş ve ağzı kapatılan tüpler 70°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. Soğutma sonrası çözeltinin absorbansı 532 nm dalga boyunda ölçülmüştür. TBARM sayısı 1,1,3,3-tetra-etoksipropan (TEP) ile hazırlanan standart kurve denkleminde mg MDA (malondialdehit)/kg olarak hesaplanmıştır.

3.2.3.4 Mikrobiyolojik analizler

Piliç göğüs etlerinde toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) ve toplam aerob psikrotrofik bakteri (TAPB) sayımları dökme plak yöntemi ile yapılmıştır. Mikrobiyolojik analiz için her bir örnekten aseptik koşullarda 10 g steril poşete tartılmış ve üzerine 90 ml steril peptonlu tuzlu su (Maksimum Recovery Diluent (MRD), M112535, Merck, Darmstadt, Almanya) eklenerek Stomacher’de (Stomacher 400 Circulator, Seward, İngiltere) 2.5 dakika homojenize edilmiştir. Bu homojenattan, MRD ile mikrobiyolojik ekimlerde kullanılmak üzere ardışık dilüsyonlar hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçları Tağı (2010)’da anlatıldığı üzere hesaplanmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir. TAMB sayımı için, Plate Count Agar (PCA) (M105463, Merck, Darmstadt, Almanya) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinden 22.5 g/L tartılmış ve destile su ile karıştırılarak, 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 1 ml ekim yapılmış plaklara 45-50 °C sıcaklıkta yaklaşık 12-14 ml besiyeri dökülmüştür. Plaklar 30 °C’de 48 saat inkübe edilmiş ve gelişen tüm koloniler sayılmıştır. TAPB sayımı için de PCA besiyeri kullanılmıştır ve yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Plaklar 7 °C’de 10 gün inkübe edilmiş ve gelişen tüm koloniler sayılmıştır.

3.2.4 İstatistik analiz

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerde opaklık, renk, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitede sonuçları SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak tek yön varyans analiz tekniği (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Piliç göğüs etinde pH, TBARM ve mikrobiyolojik sonuçlar ise tekrarlanan ölçüm düzeninde tesadüf bloklarında faktöriyel deneme düzeninde çoklu

varyans analiz tekniği (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Piliç etinde 4 farklı grup (K, C, CT ve CR) ve 6 analiz dönemi (0, 3, 6, 9, 12 ve 15. günler) sabit faktörlerdir. Sonuçlara ait farklılık Duncan oklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir. Çalışma üç tekerrür ve analizler her tekerrürde iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Kitosan çözeltilerine ait sonuçlar 6 tekrar ve piliç etine ait sonuçlar 3 tekrar (tekerrür) ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Kitosan, Kitosan-Kekik Yağı ve Kitosan-Biberiye Yağı Çözeltilerinin Fizikokimyasal, Antioksidan ve Antimikrobiyal Analiz Sonuçları

4.1.1 Opaklık ve renk

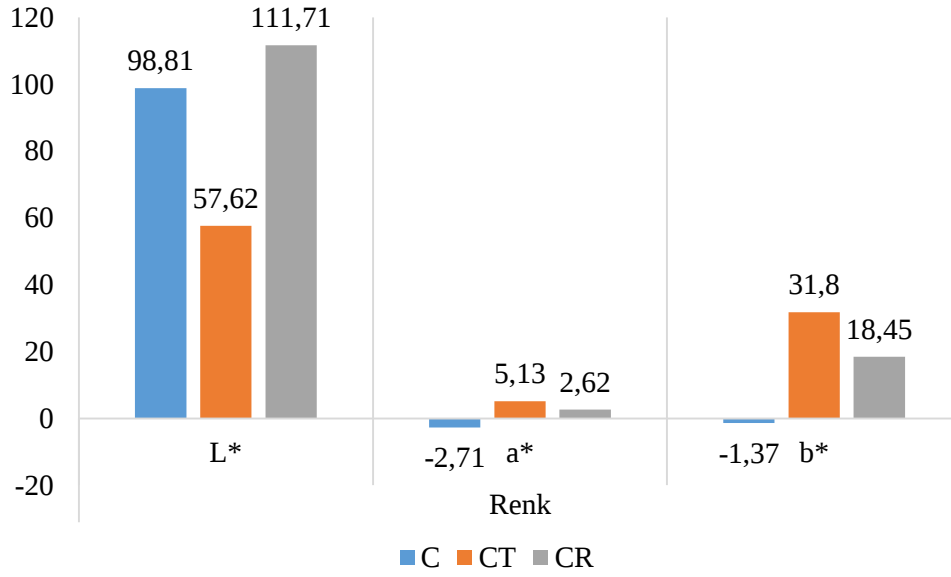
Kitosan (C), kitosan-kekik yağı (CT) ve kitosan-biberiye yağı (CR) içeren çözeltilerin renk (L^* , a^* ve b^*) ve opaklık değerleri çizelge 4.1’de görülmektedir. Artan L^* değeri aydınlık, azalan L^* değeri koyuluk, pozitif a^* değeri kırmızılık, negatif a^* değeri yeşillik, pozitif b^* değeri sarılık, negatif b^* değeri mavilik anlamına gelmektedir. Kitosan çözeltilerinin L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla C’de 98.81, -2.71 ve -1.37, CT’de 57.62, 5.13 ve 31.80, CR’de ise 111.71, 2.62 ve 18.45 olarak belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi, kitosan çözeltisine uçucu yağ ilavesinin L^* , a^* ve b^* değerlerini önemli düzeyde etkilediğini göstermiştir ($p<0.05$). Kitosan çözeltisine kekik yağı ilavesi L^* değerinde düşüşe, a^* ve b^* değerlerinde ise artışa neden olurken, biberiye yağı ilavesi L^* , a^* ve b^* değerlerini yükseltmiştir. Bu sonuçlara göre, sadece kitosan içeren çözelti ile kıyaslandığında kekik yağı ilavesinin L^* değerini düşürdüğü, biberiye yağı ilavesinin ise L^* değerini yükselttiği, her iki uçucu yağ ilavesinin a^* ve b^* değerlerini yükselttiği, artış oranının kekik UY içeren kitosan çözeltisinde daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Kitosan çözeltisine biberiye yağı ilavesi L^* değerinin yükselmesine ve daha açık bir renge neden olurken, kekik yağı ilavesi L^* değerini düşürerek, daha koyu bir renk oluşturmuştur.

Çizelge 4.1 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerin renk (L^* , a^* ve b^*) ve opaklık değerleri¹

Çözelti	L^*	a^*	b^*	Opaklık (T)
C	98.81±0.05 ^a	-2.71±0.02 ^a	-1.37±0.02 ^a	0.0165±0.00058 ^a
CT	57.62±0.33 ^b	5.13±0.06 ^b	31.80±0.21 ^b	0.2699±0.00051 ^b
CR	111.71±1.49 ^c	2.62±0.04 ^c	18.45±0.02 ^c	0.1799±0.00121 ^c

¹Sonuçlar altı tekrarın ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

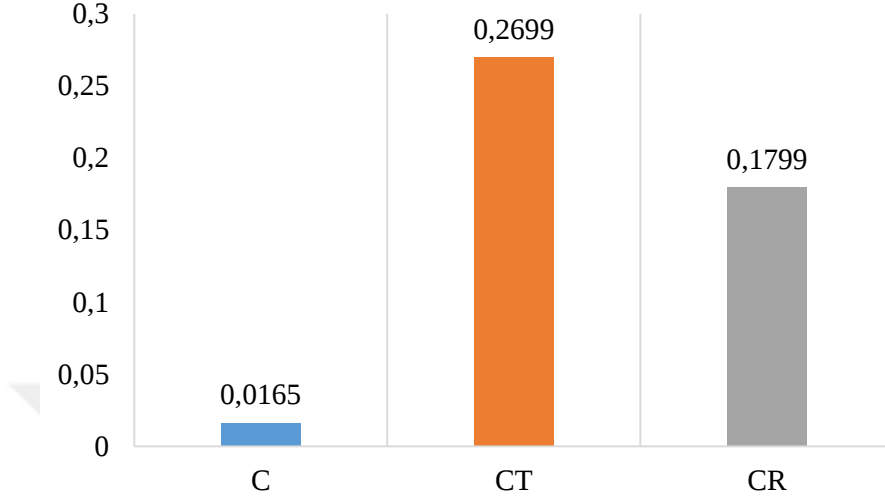


Şekil 4.1 Farklı çözeltilerin renk değerleri (L^* , a^* , b^*)

Moradi vd. (2012), kitosan film kaplamanın L^* , a^* , b^* değerlerini sırasıyla 77, (-0.7), 29 olarak belirlemiş, 10 g/l *Zataria multiflora* Boiss UY ilave edildiğinde sırasıyla 76, 0.8, 26 olduğunu bildirmiştir. Siripatravan ve Harte (2010) ise kitosan film kaplamanın L^* , a^* , b^* değerlerini sırasıyla 87.5, 1.11, 1.37; opaklık değerini ise 0.774 olarak belirtmiştir. Literatürdeki çalışmalara kıyasla çalışmamızda elde ettiğimiz farklı renk ve opaklık değerlerinin film kaplama üretimi için kullanılan gliserolden ve kullanılan uçucu yağ çeşidi ve miktarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

C, CT ve CR çözeltilerinin opaklık değerleri sırasıyla 0.0165, 0.2699 ve 0.1799 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.2). Opaklık değerinin düşük olması, transparanlığın yüksek olduğunu, yüksek olması ise transparanlığın düşük olduğunu göstermektedir (Siripatravan ve Harte 2010). Kitosan çözeltisinin düşük opaklık değeri bu çözeltinin transparan (şeffaf) olduğunu gösterirken, çözeltiliye kekik yağı ve biberiye yağı ilavesi opaklığın yükselmesine neden olmuştur. Opaklık değeri en fazla kekik yağı içeren çözeltide belirlenmiştir. Kitosan çözeltisine kekik yağı ve biberiye yağı ilavesi opaklık değerini önemli düzeyde artırmıştır ($p < 0.05$). Siripatravan ve Harte (2010), kitosan çözeltisine farklı konsantrasyonlarda (%2, 5, 10 ve 20) yeşil çay ekstraktı ilave ederek elde ettikleri filmlerin opaklığının ekstrakt ilavesi ile arttığını, en yüksek opaklığın 3.019

ile %20 yeşil çay ekstraktı içeren filmlerde, en düşük ise kitosan çözeltisinde (0.744) olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.2 Farklı çözeltilerin opaklık değeri

4.1.2 Toplam fenolik madde miktarı

Folin Ciocalteu (FC) ayıracı ile toplam fenolik madde analizi, fenolik bileşiklerin FC ayıracını indirgeyerek oksitlenmiş forma dönüştüğü redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonucu indirgenmiş ayıraç tarafından oluşturulan mavi renk spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Cemeroğlu 2007).

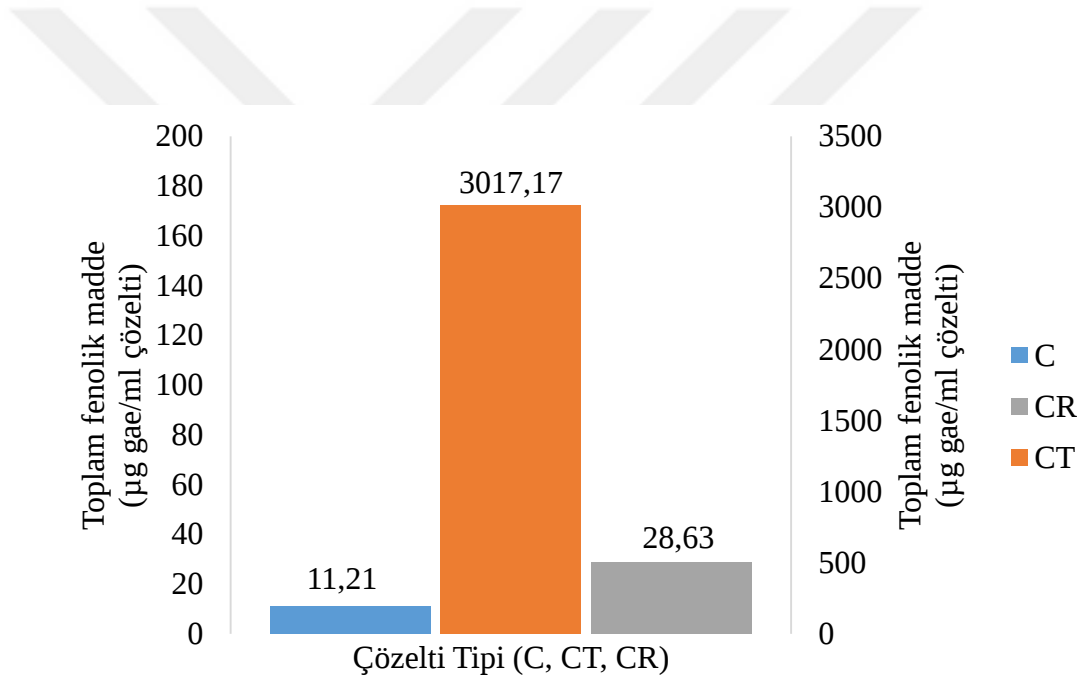
Kitosan (C), kitosan-kekik yağı (CT) ve kitosan-biberiye yağı (CR) ile hazırlanan çözeltilerin toplam fenolik madde analizine ait sonuçlar şekil 4.3 ve çizelge 4.2’de verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı C, CT ve CR çözeltilerinde sırasıyla 11.21, 3017.17 ve 28.63 $\mu\text{g gae/ml}$ çözelti olduğu belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı kitosan-kekik uçucu yağ içeren çözeltide belirlenmiştir ($P<0.05$). CR grubu C grubundan daha yüksek fenolik madde içermesine karşın aralarındaki fark istatistik olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur. Kekik yağı ile zenginleştirilen çözelti, biberiye ile zenginleştirilen çözeltiden yaklaşık 100 kat, kitosan çözeltisinden ise yaklaşık 270 kat daha fazla toplam fenolik madde içermiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.2 Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerin toplam fenolik madde miktarları ($\mu\text{g gae/ml}$ çözelti)¹

Grup	Toplam fenolik madde miktarı ($\mu\text{g gae/ml}$ çözelti)
C	11.21 $\pm$ 7.23 ^a
CT	3017.17 $\pm$ 323.62 ^b
CR	28.63 $\pm$ 4.98 ^a

¹Sonuçlar altı tekrarın ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

^{a-b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 4.3 Kitosan kaplama çözeltilerinin toplam fenolik madde içeriği

Chamanara vd. (2012), %1 kekik yağı ile zenginleştirilmiş kitosan kaplamanın toplam fenolik madde miktarını $992.42 \mu\text{g gae/ml}$ çözelti olarak bildirmiştir. Başka bir çalışmada, aynı nitelikteki kaplama için toplam fenol içeriğinin $124.3 \mu\text{g gae/mg}$ olduğu bildirilmiştir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın kekik yağının elde edildiği bitki türü ve ekotipi nedeniyle olabileceği belirtilmiştir. Moradi vd. (2012), kitosan-*Zataria multiflora* Boiss uçucu yağı (10 g/l) film kaplamanın toplam fenolik madde miktarını $\sim 3\text{-}5 \text{ mg gae/g}$ film aralığında ve kitosan-üzüm çekirdeği ekstraktının (10g/l) toplam fenolik madde

miktarını ~76 mg gae/g film olarak bildirmiştir. Siripatrawan ve Harte (2010), kitosan kaplamaya farklı konsantrasyonlarda (%2, 5, 10 ve 20) yeşil çay ekstraktını dahil ettiği çalışmada, toplam fenolik madde miktarını kontrol grubunda ~1 mg gae/g, %2 yeşil çay ekstraktı içeren filmde ~6 mg gae/g, %10 içeren filmde ~18 mg gae/g ve %20 içeren filmde ~34 mg gae/g olduğunu bildirilmiştir. Çalışmalar, kitosan film kaplamaya dahil edilen antioksidan bileşiklerin toplam fenolik madde miktarını arttırdığını göstermiştir.

Viuda-Martos vd. (2009) tarafından yedi ayrı bitkiden elde edilen uçucu yağların toplam fenolik madde miktarı analizi için 50g/L konsantrasyonda uçucu yağ-metanolik çözeltisi kullanmıştır. Kekik 783, oregano 763, biberiye 225 mg gae/L olarak tespit edilmiştir. Sonuçlardan biberiye UY'ın toplam fenolik madde miktarının kekik UY'na kıyasla yaklaşık 3.5 kat daha düşük olduğu görülmektedir.

Ballester-Costa vd. (2016) dört ayrı kekik (thymus) türünü kitosan yenilebilir film kaplamaya dahil ettiği çalışmada %1 kekik uçucu yağı içeren film kaplamaların toplam fenolik madde miktarının 6-10 mg gae/g film arasında değiştiğini bildirmiştir. Ruiz-Navajas vd. (2013), iki ayrı kekik uçucu yağ ilave ederek ürettiği kitosan film kaplamalarda, kitosan- %1 *T. piperella* için toplam fenolik madde miktarını 5-10 mg gae/g film aralığında bulurken; bir diğer kekik türünü içeren kitosan- %1 *T. moroderi* için toplam fenolik madde miktarını 0-5 mg gae/g film aralığında bulmuştur. Bu çalışmadan da görülebileceği üzere kekik türleri arasında bile fenolik madde miktarında farklılıklar mevcuttur. Khare vd. (2017), %0.05 tarçın yağı-%1 kitosan içeren kaplama çözeltisinin fenolik madde miktarını 0.987 mg gae/g çözelti olarak belirlemiştir.

4.1.3 Antioksidan aktivite

Kitosan çözeltilerinin antioksidan aktiviteleri DPPH ve FRAP analizleri ile belirlenmiştir. Genellikle bitkilerdeki antioksidan özellikleri belirlemek için DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve FRAP (Demir iyonu indirgeme antioksidan kuvveti) testleri kullanılmaktadır. FRAP yönteminde Fe^{+3} iyonunun Fe^{+2} 'ye indirgenmesi ile maviye dönen rengin 593 nm'de ölçülmesiyle antioksidan aktivite belirlenmektedir (Sharma vd. 2020). Oldukça hassas ve basit olan DPPH yönteminde ise antioksidan içeren örnekten

DPPH radikaline elektron transferi sonucu renk mordan sarıya dönmekte ve spektrofotometrede 517 nm’de ölçüm yapılarak antioksidan aktivite belirlenmektedir (Miguel 2010). Farklı çözeltilerin antioksidan aktivitelerinin tespit edildiği DPPH ve FRAP analizlerine ait sonuçlar çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı çözeltilerin DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi (%) ve FRAP demir indirgeme kuvveti ($\mu\text{g TE/ml}$ çözelti)¹

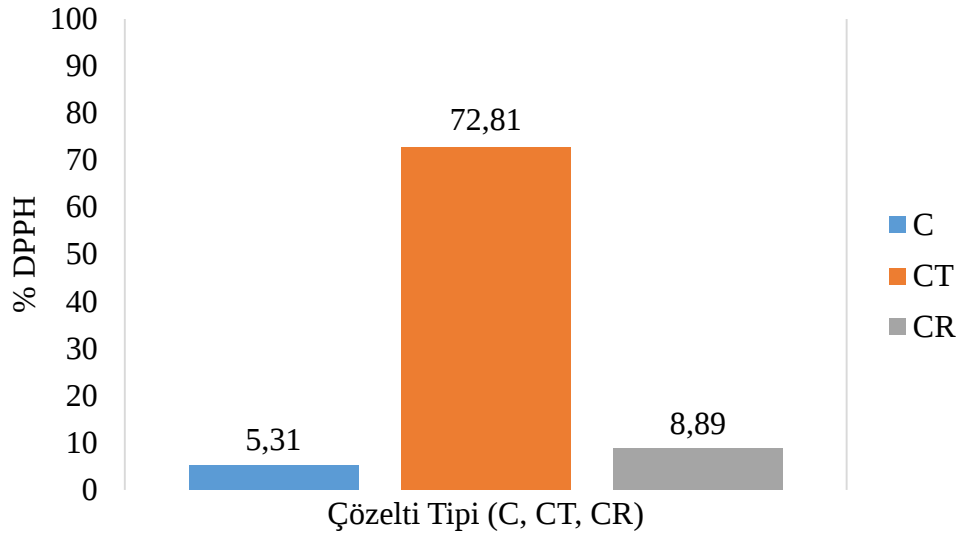
Grup	DPPH (%)	FRAP ($\mu\text{g TE/ml}$ çözelti)
C	5.31 $\pm$ 2.74 ^a	21.97 $\pm$ 3.71 ^a
CT	72.81 $\pm$ 7.29 ^b	1388.79 $\pm$ 130.30 ^b
CR	8.89 $\pm$ 3.20 ^a	18.94 $\pm$ 2.35 ^a

¹Sonuçlar altı tekrarın ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

^{a-b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$).

4.1.3.1 DPPH radikal temizleme

Farklı çözeltilerin antioksidan aktivitelerinin tespit edildiği DPPH analiz sonuçları şekil 4.4’te verilmiştir. Radikal temizleme aktivitesinin % DPPH olarak tespit edildiği analizde kitosan ve kitosan-biberiye UY çözeltilisinin benzer etki gösterdiği, % DPPH değerlerinin sırasıyla % 5.31 ve %8.89 olduğu belirlenmiştir. Her iki gruptan anlamlı ölçüde yüksek radikal yakalama aktivitesi değerine sahip olduğu tespit edilen kitosan-kekik UY çözeltilisinde % DPPH sonucu 72.81 olarak tespit edilmiştir. En düşük % DPPH değerine sahip grup C olarak belirlenmiş, bunu CR grubu izlemiş ve iki grup arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur.



Şekil 4.4 Farklı çözeltilerin antioksidan aktiviteleri (DPPH)

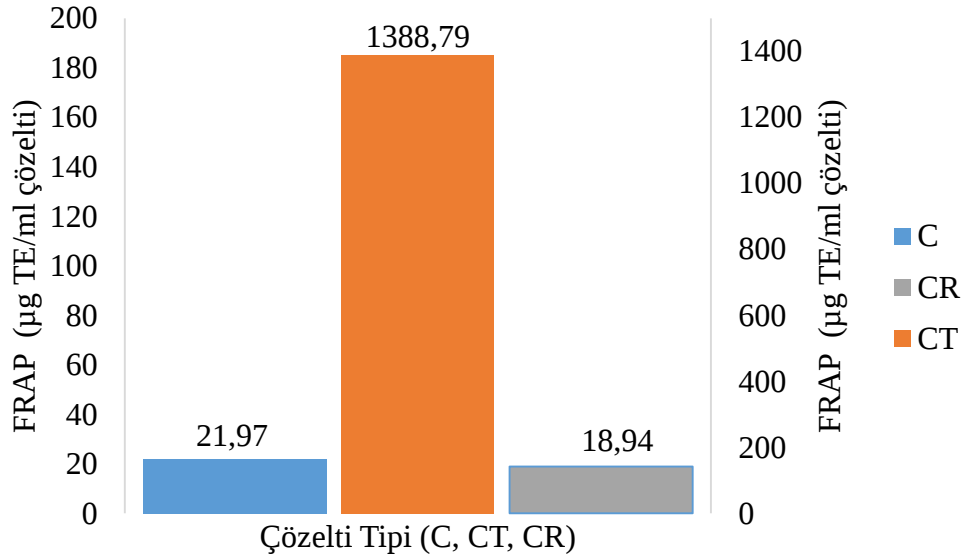
Moradi vd. (2012), kitosan film kaplamanın % DPPH değerini ~%12 ve *Zataria multiflora* Boiss UY (10 g/l)-kitosan film kaplamanın DPPH değerini ~%33 olarak bildirmiştir. Siripatrawan ve Harte (2010), kitosan film kaplamanın DPPH değerini ~%3 olarak, yeşil çay ekstraktı(%2)-kitosan film kaplamanın ise ~%29 olarak belirlemiştir. Görüldüğü üzere her iki çalışmada da sadece kitosan ile oluşturulan filmlerin DPPH değerleri arasındaki fark oldukça fazladır ve Siripatrawan ve Harte (2010)'ın sonuçları, bizim çalışmamızdaki kitosan çözeltide elde ettiğimiz bulgularla uyumludur.

Viuda-Martos vd. (2009), %DPPH radikal temizleme kapasitesini 10 g/l konsantrasyondaki kekik, oregano ve biberiye UY için sırasıyla %81.3, %64.85 ve %48.35 olarak bildirmiştir. Vital vd. (2016), biberiye uçucu yağının %DPPH değerini 4.08, oregano uçucu yağının ise %27.31 olarak bildirmiştir. Khare vd. (2017), %0.05 tarçın yağı-%1 kitosan kullandığı kaplama çözeltisinin %DPPH değerini %32.81 olarak belirlemiştir. López-Mata vd. (2015), biberiye uçucu yağı ile zenginleştirdiği kitosan kaplamada %1.5 biberiye UY için DPPH değerini %11.4 olarak tespit ederken, %1.5 biberiye UY-kitosan kaplama için bu değeri %3.1 olarak tespit etmiş; biberiye UY'ın tek başına olan antioksidan aktivitesinin kitosan kaplamaya katılınca önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir. Bulgular çalışma sonuçlarımızla uyumludur. Uçucu yağların kimyasal bileşiminin antimikrobiyal aktivitesi üzerinde etkili olduğu ve yetiştirildiği

bölge, UY elde yöntemi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Literatürde taranan ilgili makalelerin aynı uçucu yağ türünde dahi farklı antioksidan aktivite sonucu bildirmelerinde bu durumun etkili olduğu düşünülmektedir.

4.1.3.2 Demir indirgeme antioksidan kuvveti (FRAP)

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı içeren çözeltilerin antioksidan aktivitelerinin tespit edildiği FRAP analiz sonuçlarına ait grafikler şekil 4.5'te verilmiştir. Farklı kitosan çözeltilerinde gerçekleştirilen FRAP analizi sonuçlarına göre, kitosan ve kitosan-biberiye UY çözeltisinin benzer etki gösterdiği, FRAP değerlerinin ise sırasıyla 21.97 ve 18.94 $\mu\text{g TE/ml}$ çözelti olduğu görülmüştür. Her iki gruptan anlamlı ölçüde yüksek FRAP değerine sahip olduğu tespit edilen kitosan-kekik UY çözeltisinde alınan sonuç ise 1388.79 $\mu\text{g TE/ml}$ çözelti olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.5 Farklı çözeltilerin antioksidan aktiviteleri (FRAP)

Ballester-Costa vd. (2016), %1 konsantrasyonda kekik (thymus) uçucu yağı dahil edilen kitosan kaplamaların FRAP değerinin 1.98-2.21 mg trolox eşdeğeri/g olduğunu, uçucu yağ ilavesi olmaksızın sadece kitosan içeren kontrol grubunda ise FRAP değerinin 0.08 mg TE/g olduğunu bildirmiştir. Kekik-kitosan kaplamada alınan sonuçların bizim çalışmamızla uyumlu olduğu, kitosan içeren grupta ise çalışmamızdan daha yüksek

oranda FRAP değeri elde edildiği görülmüştür. Ballester-Costa vd.'in çalışmasında kullandığı yüksek molekül ağırlıklı kitosan farklılığa sebep olabilir.

Ruiz-Navajas vd. (2013), iki ayrı kekik türünü kitosan filme dahil ederek yaptığı çalışmasında kontrol grubu (uçucu yağ içermeyen) olan kitosan film kaplamanın FRAP değerini 0.21 mg TE/g, % 1 *Thymus piperella* UY içeren kitosan film kaplamada 5.42 mg TE/g, %1 *Thymus moroderi* EO içeren kaplamada ise tespit edilememiş olarak bildirmiştir. Çalışmada yüksek molekül ağırlıklı kitosan kullanılmıştır. Vital vd. (2016), biberiye ve oregano uçucu yağı frap değerini sırasıyla 0.38 ve 3.56 mg gae/g olarak tespit etmiş; uçucu yağları aljinat kaplamaya dahil ettiğinde ise FRAP tespit edilememiştir. Viuda-Martos vd. (2009), 10 g/L konsantrasyonda UY içeren metanolik solüsyonların FRAP değerlerini kekik (thyme) UY için 0.55; oregano için 1.15 ve biberiye için 0.20 mM trolox/L olarak belirlemiştir. Çalışmalarda biberiye uçucu yağının FRAP değerinin, kekik uçucu yağına kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir ve bu sonuç çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla uyumludur.

4.1.4 Antimikrobiyal aktivite

Kitosan, kitosan-kekik uçucu yağı ve kitosan-biberiye uçucu yağı çözeltilerinin 7 farklı patojen mikroorganizmaya karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları çizelge 4.4'de verilmiştir. Disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre, kitosan içeren ve kitosan-biberiye uçucu yağı içeren çözeltilerin test edilen 7 patojen bakteriye karşı herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Kitosan-kekik uçucu yağı içeren çözeltinin ise, patojen test mikroorganizmalarına karşı, kontrol grubundan düşük olmakla birlikte, antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlenmiştir. Kitosan-kekik uçucu yağı içeren çözelti, test edilen 7 farklı patojen bakteri üzerine yakın düzeyde etki göstermiş olmakla birlikte, en yüksek inhibisyon zon çapı *E.coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, S1-660, S1-663 bakterilerine karşı gözlenmiştir. Özetle, çalışmada incelenen kitosan, kitosan-uçucu yağ karışımları içerisinde en etkili çözeltinin kekik yağı içeren çözelti olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4 Kitosan ve kitosan-uçucu yağ karışımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları (inhibisyon zon çapları) ¹

Diskler	İnhibisyon zon çapları (6 mm disk çapı dahil)(mm)						
	<i>Escherichia coli</i> tip I ATCC 10536	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	<i>Salmonella</i> Enteritidis MET S1-660	<i>Salmonella</i> Typhimurium MET S1-663
C	-	-	-	-	-	-	-
CT	8.5±0.500	8.3±0.577	8.0±0.00	7.6±0.577	8.6±0.577	9.5±0.577	9.0±0.00
CR	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol	27.3±0.577	25.0±0.00	25.0±0.00	25.6±0.577	25.3±0.577	24.3±0.577	22.1±0.288

¹Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Sokmen vd. (2004), *Thymus spathulifolius* uçucu yağında disk (6mm) difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteyi araştırdığı çalışmasında inhibisyon zon ölçümünü *Escherichia coli*, *S. aureus* ve *Salmonella enteritidis* için sırasıyla 32 mm, 21 mm, 24 mm olarak bildirmiştir. Issabeagloo vd. (2012), çalışmasında on dört farklı *Staphylococcus* spp.'ye karşı biberiye uçucu yağının (*Rosmarinus officinalis* L.) antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için disk (6mm) difüzyon yöntemi ile elde ettiği inhibisyon zon sonuçlarını 8.76-10.12 mm arasında bulmuştur. Tepe vd. (2005), adaçayından elde ettiği uçucu yağın antimikrobiyal etkinliğini disk (6mm) difüzyon yöntemi ile araştırmıştır. İnhibisyon zon ölçümleri, *Staphylococcus aureus* için 14.75 mm, *Bacillus cereus* için 11 mm ve *Enterobacter aerogenes* için 7 mm olarak tespit edilmiş, *Escherichia coli* için ise aktivite görülemediği bildirilmiştir. Ballester- Costa vd. (2016), %1-2 oranlarında dört ayrı thymus çeşidi uçucu yağı kitosan filmlere dahil ederek antimikrobiyal aktiviteyi agar disk (10mm) difüzyon yöntemi ile *Listeria innocua*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter amnigenus* ve *Alcaligenes faecalis*'e karşı ölçtüğü çalışmada *Enterobacter amnigenus*'e karşı antimikrobiyal aktivite görülemezken, diğer mikroorganizmalara karşı sonuçlar ise 12.19 mm ile 35.08 mm arasında değişmiştir.

Malinowska-Pańczyk vd. (2015), kitosan filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan agar difüzyon yönteminin literatürdeki bazı çalışmalarda inhibisyon zonu oluşturmamasının nedeninin film şeklindeki kitosanın agar ortamından geçememesi olduğunu belirtmiş, zon oluşmamasının nedenini kitosanın difüzyonunun sınırlılığına bağlamıştır. Benzer şekilde Piegat vd. (2020), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Helicobacter pylori*'ye karşı kitosanın antimikrobiyal etkinliğini agar ve disk difüzyon testleri ile ölçmüş ve inhibisyon zonu görememiştir. Bu duruma, kitosan makromoleküllerinin kısıtlı difüzyon özelliğine sahip olmasının neden olduğunu, literatürdeki olumlu sonuçların daha düşük moleküler ağırlığa sahip olan ya da suda çözünabilir nitelikteki kitosanlar için olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızda belirlenemeyen ya da oldukça düşük düzeyde belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçlarının, makromoleküler yapıdaki kitosanın agara sınırlı difüzyon özelliğinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Kitosanın katı agar yapısına difüzyonu problemi, antimikrobiyal aktivitenin doğru şekilde değerlendirilmesini engelleyen bir etken olabilmektedir. Bu nedenle ileriki çalışmalarda, disk difüzyon ve kuyucuk difüzyon gibi difüzyon bazlı yöntemler yerine, kitosan çözeltilerinin sıvı besiyerinde süspansiyon edildiği, bakteriler ile kitosan çözeltilerin direkt temasta olduğu mikrodilüsyon yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir.

4.2 Kekik ve Biberiye Yağlarıyla Zenginleştirilen Kitosan Çözeltilerinin Soğukta Depolanan Piliç Göğüs Eti Kalitesine Etkileri

4.2.1 Piliç göğüs eti bileşimi

Kekik ve biberiye yağlarıyla zenginleştirilen kitosan çözeltileri ile kaplanan piliç göğüs etinin bileşimi çizelge 4.5'de verilmiştir. Göğüs etinin nem, protein, yağ ve kül miktarları sırasıyla %76.49-77.77, %19.52-20.90, %1.42-2.27 ve %1.12-1.25 arasında değişmiştir. Kitosan çözeltilerine daldırılan ve daldırılmayan göğüs etlerinin nem, protein, yağ ve kül miktarları arasında istatistik bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.5 Piliç göğüs eti bileşimi (%)¹

Grup	Nem	Protein	Yağ	Kül
K	76.03±0.27	19.52±1.52	2.27±0.14	1.25±0.05
C	77.77±1.60	20.12±2.05	1.51±0.21	1.19±0.10
CT	76.64±0.78	20.41±1.84	1.55±0.07	1.16±0.04
CR	76.49±0.80	20.90±2.12	1.42±0.04	1.12±0.08

¹Sonuçlar üç tekerrür ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

Chmiel vd. (2019), tavuk göğüs etinde nem miktarını %74.2, protein miktarını %22.4, yağ miktarını %1.4, Yaghoubi vd. (2021) ise nem miktarı %76.0, kül miktarını %1.1 ve yağ miktarı yaklaşık %1.4 olarak bildirilmiştir. Bu sonuçlarla çalışmamızdaki sonuçlar benzerlik göstermektedir.

4.2.2 pH değeri

Kitosan, kitosan-kekik yağı ve kitosan-biberiye yağı çözeltilerine daldırılan ve daldırılmayan tavuk göğüs etinde 4±1 °C’de 15 gün depolama süresince pH değerinde meydana gelen değişimlere ait sonuçlar çizelge 4.6’da verilmiştir. Soğuk depolama sürecinde süredeki artışa bağlı olarak tavuk göğüs eti örneklerinin pH değerleri artmıştır. İşlem görmeyen kontrol grubunun pH değerindeki artışın işlem gören gruplara göre anlamlı ölçüde ($p<0.05$) yüksek olduğu belirlenmiştir. Depolama başlangıcında kontrol grubu, kitosan ile muamele edilen grup ve kitosan-UY ile muamele edilen gruplar arasındaki pH değerlerindeki farklılık anlamlı bulunmuş ($p<0.05$), kontrol grubu en yüksek pH değerine (6.17), CT ve CR grupları en düşük pH değerine sahip olmuştur (sırasıyla 5.77 ve 5.78). Depolamanın 9. gününde kontrol grubu pH değerinin işlem görmüş örneklerle kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir. Depolamanın 12. gününde kitosan ile muamele edilen grubun pH değerinin, kitosan-UY ile muamele edilen gruplardan yüksek olduğu; C, CT ve CR grupları için pH değerlerinin sırasıyla 6.04, 5.86 ve 5.84 olduğu görülmüştür. Depolama süresi sonunda en yüksek pH değeri işlem görmemiş kontrol grubunda 6.80, kitosan ile muamele edilmiş tavuk göğüs etinde 6.05, kitosan-kekik UY ve kitosan-biberiye UY ile muamele edilen grupta ise sırasıyla 5.90 ve 5.88 olarak belirlenmiştir. En düşük pH değerine sahip olan CT ve CR

grupları arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) iken, kontrol grubu, kitosan ve kitosan-UY grubu arasındaki fark önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.6 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında pH değerindeki değişime uygulama x süre interaksiyonunun etkisi¹

Grup	Süre (gün)					
	0	3	6	9	12	15
K	6.17±0.04 ^{Aa}	6.11±0.01 ^{Aa}	6.30±0.06 ^{ABa}	6.50±0.17 ^{Ca}	6.65±0.09 ^{CDa}	6.80±0.06 ^{CDa}
C	5.87±0.03 ^{Ab}	5.83±0.12 ^{Ab}	5.89±0.06 ^{Abc}	5.93±0.04 ^{ABb}	6.04±0.05 ^{Bb}	6.05±0.08 ^{Bb}
CT	5.77±0.03 ^{ABc}	5.81±0.05 ^{ABCb}	5.74±0.11 ^{Ac}	5.83±0.04 ^{ABCb}	5.86±0.03 ^{BCc}	5.90±0.04 ^{Cc}
CR	5.78±0.07 ^{ABc}	5.81±0.05 ^{ABb}	5.75±0.07 ^{Abc}	5.80±0.04 ^{ABb}	5.84±0.02 ^{ABc}	5.88±0.06 ^{Bc}

¹Sonuçlar üç tekerrür ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

^{A-D}: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

Et ve et ürünlerinin pH değerinin mikrobiyal gelişim üzerinde etkili olarak raf ömrünü ve dolayısıyla gıda güvenliğini etkilediği bilinmektedir. Soğukta depolama süresince pH değerinde yükselmenin normal olduğu, bu durumun nedeninin LAB'ın gelişimi ve psikrotrofik bakterilerin ürettiği alkali bileşiklerin birikimi sonucu olabileceği bildirilmiştir (Yaghoubi vd. 2021). Mikrobiyal ya da endojen enzimlerin (lipaz ve proteaz gibi) aktivitesinin ya da bakteriler tarafından amino asitlerin kullanılmasının pH artışına neden olduğu ileri sürülmektedir (Manju vd. 2007, Khorshidi vd. 2020). Gıdalarda pH artışı renk, koku ve tekstür gibi niteliklerin olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır (Mehdizadeh ve Langroodi 2019). Taze tavuk etinin pH değerinin taze kırmızı etten daha yüksek ve pH 6 civarında olduğu bilinmektedir. pH değeri diğer çevresel faktörler ile birlikte depolama sürecinde baskın olan mikrobiyal türü belirlemekte de etkilidir (Bibek 2004).

Eldaly vd. (2018) çalışmasında %1, %1.5 ve %2 konsantrasyonlarda kitosan ile kaplanmış taze tavuk göğüs filetolarının başlangıç pH değerlerini sırasıyla 5.00, 4.93 ve 4.93 olarak bildirirken, 4 °C'de 12 gün depolanması sonucunda sırasıyla 5.93, 6.10 ve 6.23 olarak bildirilmiştir. İşlem görmüş örneklerin pH değerinin kontrol grubuna kıyasla belirgin ölçüde düşük olduğu, bu durumun kitosan çözeltisinin asidik özelliği ve bu

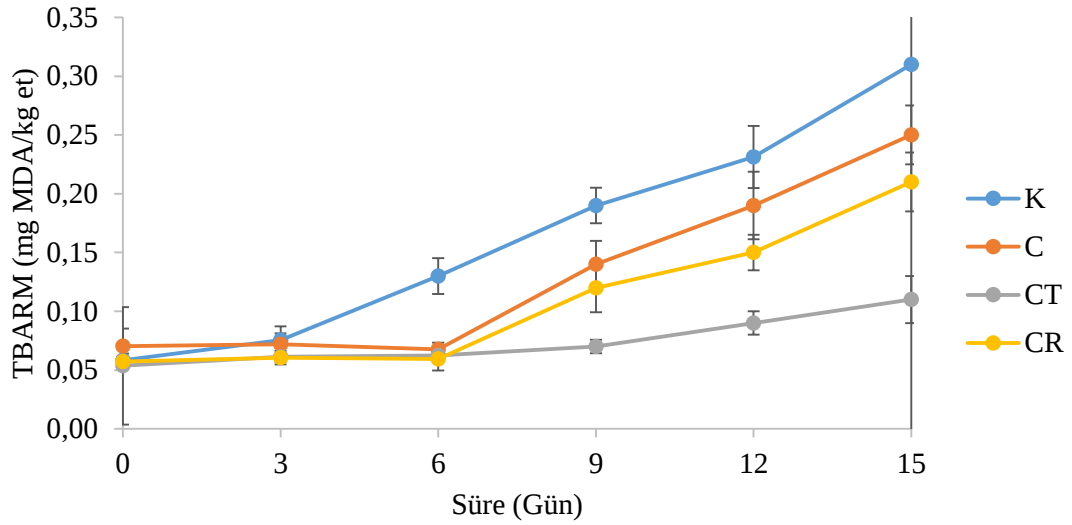
sayede mikrobiyal çoğalmanın önlenmesi ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Assanti vd. (2021), %1 kitosan kaplama tavuk burgerin başlangıç pH değerinin 5.5 olduğunu, 4 °C’de 12 gün depolama süresi sonundaki kontrol grubunun pH değerinin 5.77’ye yükseldiğini, kitosan uygulanan örneklerin pH değerinin ise 4.9 olarak korunduğunu bildirmiştir. Kontrol grubunda aerobik bakterilerin herhangi bir uygulama ile baskılanmadığı için proteinleri parçalayarak amino asit ürettiği ve bu durumun da pH değerinde yükselmeye neden olduğu düşünülmüştür. Yaghoubi vd. (2021), *Artemisia fragrans* (Kokulu Pelinotu) uçucu yağı (1500 ppm) ve %1 kitosan ile muamele edilen tavuk göğüs filetolarının başlangıç pH değerinin yaklaşık 5.1 olduğunu, 4 °C’de 12 gün depolama süresi sonunda 5.55’e yükseldiğini bildirmiştir. Herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol grubunun başlangıç pH değerinin 6 olduğunu, depolama süresi sonunda ise 7.01’e kadar yükseldiğini belirtmiştir. Kaplanmış numunelerde görülen düşük pH değerinin kitosan ve uçucu yağın antibakteriyal özelliği nedeniyle olabileceğini bildirmiştir. Mehdizadeh ve Langroodi (2019) bizim sonuçlarımıza benzer şekilde tavuk göğüs eti kontrol grubunun başlangıç pH değerini (6.00), işlem gören tüm gruplardan yüksek bildirmiş, *Zataria multiflora* uçucu yağı ile zenginleştirilmiş propolis kullanımının depolama süresi sonunda en düşük pH değerini verdiği görülmüştür.

Khare vd. (2017), %0.05 tarçın yağı-kitosan (%1) kaplamanın farklı yöntemler ile uygulandığı piliç fileto etinde pH değerlerinin kontrol grubunda sürekli arttığını, işlem görmüş gruplarda ise dokuzuncu güne kadar artış oranının düşük olduğunu bildirmiştir. Depolama süresince kontrol grubunun pH değeri 6.15-6.60 aralığında iken, işlem görmüş gruplarda en düşük pH artışı daldırma yöntemi ile muamele gerçekleştirilen grupta 6.08-6.17 aralığında saptanmıştır. pH artışına aerobik depolanan tavuk etinde proteolitik bozulma yapan bakterilerin çoğalmasına bağlı olarak bazik bileşiklerin ve serbest amino asitlerin üretiminin neden olduğu ileri sürülmüştür. İşlem gören numunelerin pH değerlerinin ise kaplama çözeltisinin asidik yapısı ve kaplama maddesinin bozulma yapan bakterileri inhibe edici etkisi nedeniyle kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu belirtilmiştir.

4.2.3 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) miktarı

Farklı kitosan çözeltilerine daldırılmış ve daldırılmamış tavuk göğüs etlerinin soğuk depolama sürecinde belirlenen TBARM değerlerindeki değişime ait sonuçlar mg MDA/kg et olarak çizelge 4.7 ve şekil 4.6'da verilmiştir. Depolama başlangıcında TBARM değeri oldukça düşük ve 0.05-0.07 mg MDA/kg aralığında belirlenirken, depolama sırasında K örneklerde 0. günden, kaplamalı örneklerde ise 6. günden itibaren artış görülmüştür. En yüksek TBARM değerleri depolama sonunda 0.31 mg MDA/kg ile K, 0.25 mg MDA/kg ile C, 0.21 mg MDA/kg ile CR ve 0.11 mg MDA/kg ile CT örneklerinde saptanmıştır. Göğüs etinin TBARM değerindeki değişime uygulama ve depolama süresinin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Depolama başlangıcından 6. güne kadar tüm grupların TBARM değerleri arasında fark görülmemiş ($p>0.05$), 6. günde kontrol grubunun TBARM değeri işlem görmüş gruplara kıyasla anlamlı ($p<0.05$) ölçüde artmıştır. 9. günde tüm gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuş ($p<0.05$), TBARM değerleri en düşükten en yükseğe CT, CR, C ve K olarak belirlenmiştir. Depolamanın son gününde TBARM değerleri K, C, CT ve CR grupları için sırasıyla 0.31, 0.25, 0.11, 0.21 mg MDA/kg et olarak belirlenmiş ve CT grubunun TBARM değeri diğer gruplardan anlamlı ölçüde düşük ($p<0.05$) bulunmuştur. Kitosan ve kitosan-biberiye yağı içeren grupların TBARM değerleri arasında fark görülemezken, her iki grubun TBARM değeri kontrol grubuna kıyasla önemli derecede düşük bulunmuştur.



Şekil 4.6 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TBARM değişimi

Kitosan ve kitosan-biberiye UY kaplamalı örneklerde başlangıçtan 9. güne kadar TBARM değerinin korunduğu; 9, 12 ve 15. günde ise anlamlı düzeyde artış ($p<0.05$) yaşandığı görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda TBARM değerindeki artışı önlemede kitosan ve kitosan-biberiye UY uygulamasının benzer düzeyde etkili olduğu söylenebilir. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak artan TBARM değerini en etkili ölçüde kontrol altına alan kitosan-kekik UY içeren örneklerin başlangıçtan 12. güne kadar TBARM değerindeki artış önemsiz ($p>0.05$) bulunmuş, 12. ve 15. gündeki artışın ise anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TBARM değerindeki (mg MDA/kg et) değişime uygulama x süre interaksiyonunun etkisi¹

Grup	Süre (gün)					
	0	3	6	9	12	15
K	0.06±0.006 ^{Aa}	0.08±0.006 ^{Aa}	0.13±0.015 ^{Ba}	0.19±0.015 ^{Ca}	0.23±0.026 ^{Ca}	0.31±0.040 ^{Da}
C	0.07±0.015 ^{Aa}	0.07±0.015 ^{Aa}	0.07±0.006 ^{Ab}	0.14±0.020 ^{Bb}	0.19±0.029 ^{Cb}	0.25±0.025 ^{Db}
CT	0.05±0.012 ^{Aa}	0.06±0.00 ^{Aa}	0.06±0.006 ^{Ab}	0.06±0.006 ^{Ac}	0.09±0.010 ^{Bc}	0.11±0.020 ^{Cc}
CR	0.06±0.00 ^{Aa}	0.06±0.006 ^{Aa}	0.06±0.010 ^{Ab}	0.11±0.021 ^{Bd}	0.15±0.015 ^{Cb}	0.21±0.025 ^{Db}

¹Sonuçlar üç tekerrür ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

^{A-D}: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

^{a-d}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

Lipit oksidasyonu et ve et ürünlerinin kalitesini olumsuz etkileyerek kimyasal bozulmaya neden olmaktadır. Lipit oksidasyonunun ikincil ürünü malondialdehittir ve oksidasyonun önemli bir göstergesidir. Etteki malondialdehit miktarını belirlemek için TBARM analizi kullanılır ve bu değer lipit oksidasyonunun düzeyi hakkında bilgi verir. Literatürde et ürünlerinde TBARM sınırı 1 mg MDA/kg olarak bildirilmektedir ve bu değer üstünde ette oksidasyon belirtisi olan acılık meydana gelerek duyusal kalite kaybı görülmektedir (Khorshidi vd. 2020).

Mikrobiyal bozulmanın yanı sıra kimyasal bozulma özellikle lipit oksidasyonu et ve et ürünlerinin raf ömrünü kısıtlayan diğer bir önemli faktördür. Kanatt vd. (2013), tavuk köfte ve tavuk şiş kebab ürünlerinde lipit peroksidasyonuna kitosan kaplamanın etkisini 0-3 °C'de depolama süresince araştırmıştır. Başlangıç TBARM değerleri arasında herhangi bir fark görülmezken depolama süresince kaplanmamış örneklerde TBARM değerinin hızla arttığı, kitosan kaplanmış örneklerde ise TBARM artış hızının yavaşlatıldığı ve bu sonuçlar doğrultusunda kitosan kaplamanın lipit oksidasyonunu engellediği bildirilmiştir. Antioksidan etki mekanizmasının kitosanın birincil amino grubuna bağlı olabileceği belirtilerek, oksidasyon sırasında yağların bozunmasıyla ortaya çıkan uçucu bir aldehit olan malondialdehit ile kitosanın amino grubunun kararlı bir bileşik oluşturması sonucu gerçekleştiği bildirilmiştir. Kitosan molekülünde serbest radikalleri bağlayan elektronlar bulunduğu ve ortamdaki radikalleri tükettiği bildirilmiştir (Xia vd. 2011).

Khare vd. (2017), %0.05 tarçın yağı-kitosan (%1) kaplama uygulanan piliç filetonun TBARM değeri ile kontrol grubunun TBARM değeri arasındaki farkı depolama başlangıcında anlamlı bulmuştur. 9 günlük depolama sürecinde kontrol grubunun TBARM değerleri 0.03-0.12 mg MDA/kg aralığında değişirken, işlem görmüş gruplarda bu aralık 0.02-0.08 mg MDA/kg olarak belirlenmiştir. Kitosanın gıdalarda kalitede bozulmaya neden olan zincir reaksiyonları başlatan demir iyonları gibi geçiş iyonlarını şelatlayarak et ve et ürünlerinde oksidatif acılaşmayı önleyebildiği bildirilmiştir. Alasnier vd. (2000), tavuk göğüs etinde birinci gün TBARM değerini 0.03 mg MDA/kg et olarak, depolamanın son günü olan 14. günde ise 0.1 mg MDA/kg et olarak bildirmiş, depolama

süresince TBARM artışının doğrusal olarak gerçekleştiğini belirtmiştir. Her iki çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızdaki bulgularla eşleşmektedir.

Khorshidi vd. (2020), tavuk butlarını yeşil kakule (*Elettaria Cardamomum*) uçucu yağı ve ekstraktı içeren kitosan (%2 v/v) ile muamele ederek vakum ambalaj ile 4 °C'de depoladığı çalışmasında 16. günde en düşük TBARM değerinin 0.49 mg MDA/kg ile kitosan-%1 UY içeren grupta gerçekleştiğini bildirmiştir. Mehdizadeh ve Langroodi (2019), kitosan ve *Zataria multiflora* uçucu yağı ile muamele edilen tavuk göğüs filetolarının başlangıç TBARM değerinin 0.16 mg MDA/kg olduğunu belirtmiştir. 16 gün depolama sonunda kontrol grubu, kitosan, kitosan-%1 UY ile işlem görmüş örneklerin TBARM değerlerinin sırasıyla 2.21, 1.07 ve 0.76 mg MDA/kg olduğunu bildirmiştir. Her iki çalışmada da kitosan ve uçucu yağların birlikte kullanımının kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yarattığı görülebilmektedir.

4.2.4 Mikrobiyal değişim

4.2.4.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı

Farklı çözeltilere daldırılmış ve daldırılmamış piliç göğüs etlerinin buzdolabı sıcaklığında depolama süresince toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayılarındaki değişime ilişkin sonuçlar çizelge 4.8 ve şekil 4.7’de verilmiştir. Göğüs etinin TAMB sayısındaki değişime uygulama ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama başlangıcında TAMB sayısı kontrol, kitosan, kitosan-kekik, kitosan-biberiye gruplarında sırasıyla 4.72, 3.36, 3.46 ve 4.08 log kob/g olarak belirlenmiş, TAMB sayısı en yüksek K grubu, en düşük ise C ve CT grubunda görülmüştür. Uygulamanın etkisi 0. günden itibaren görülmüş ve K örneklerde kaplamalı örneklerden önemli düzeyde ($p<0.05$) daha yüksek TAMB sayıları belirlenmiştir. Sürenin 3. günden itibaren K örneklerde önemli ($p<0.01$) düzeyde artış olarak gözlenirken, CT örneklerinde 15. güne kadar TAMB sayıları arasındaki değişim önemsiz ($p>0.05$) iken, 15. gündeki değişim önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. CR kaplamalı örneklerde, 3 ve 6. günlerde diğer gruplardan daha düşük TAMB sayıları belirlenirken, 12. ve 15. günlerde CT grubu en düşük TAMB sayılarına sahip olmuştur ($p<0.05$). Depolamanın 9. gününde işlem görmüş gruplar arasında fark

görülmemekle birlikte ($p>0.05$), 12 ve 15. günlerde en düşük TAMB sayısına sahip CR ile diğer gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama sonunda en yüksekten en düşüğe TAMB sayıları K örneklerinde 9.56 log kob/g, C ve CR örneklerinde 6.28-6.00 log kob/g, CT örneklerinde 4.74 log kob/g olarak saptanmıştır. CT kaplamalı örneklerde, başlangıç sayısına göre yaklaşık 1.3 log kob/g artış gerçekleşerek tüm gruplar içerisindeki en düşük TAMB sayısına ulaşılmıştır. Kontrol grubu harici işlem görmüş tüm gruplarda depolama süresince TAMB sayısı bozulma standart limit değerinin altında kalmıştır. C grubunun TAMB sayısındaki artış 12. günde anlamlı bulunmuş ($p<0.05$), 12 ve 15. günler arasında önemli bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). CR içeren grupta ise depolamanın 3. gününde keskin bir düşüş yaşanmış, 9. güne kadar TAMB gelişimi kontrol altında tutulmuş ancak 9, 12 ve 15. günlerde meydana gelen artış anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

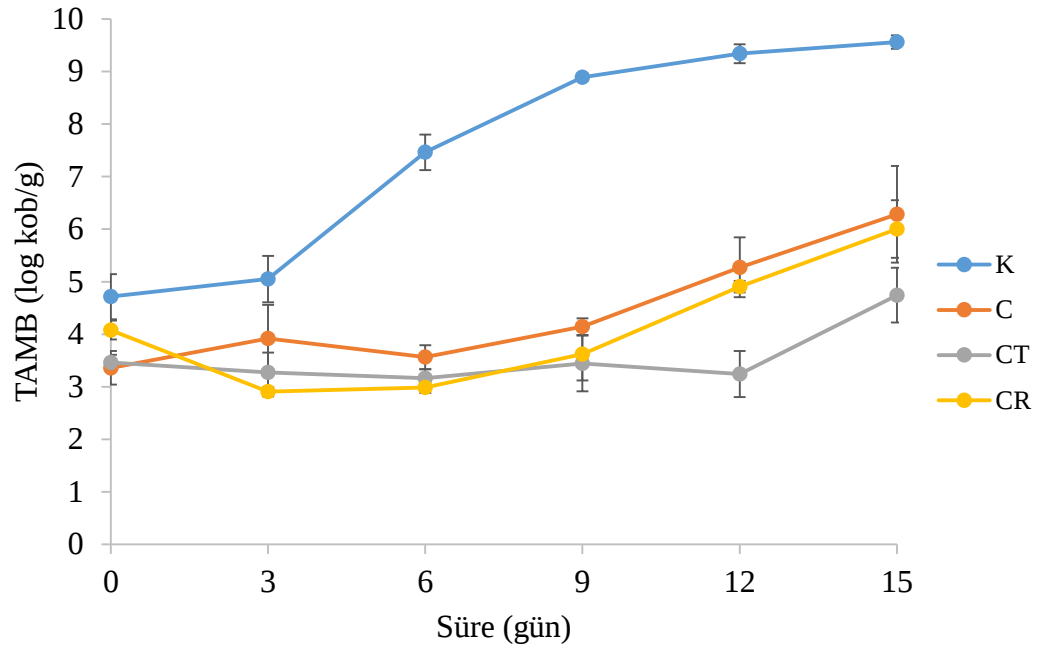
Çizelge 4.8 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TAMB sayısındaki (log kob/g) değişime uygulama x süre interaksiyonunun etkisi¹

Grup	Süre (gün)					
	0	3	6	9	12	15
K	4.72±0.43 ^{Aa}	5.05±0.44 ^{Aa}	7.46±0.34 ^{Ba}	8.89±0.07 ^{Ca}	9.34±0.18 ^{CDa}	9.56±0.13 ^{Da}
C	3.36±0.32 ^{Ac}	3.92±0.64 ^{Ab}	3.56±0.23 ^{Ab}	4.14±0.16 ^{Ab}	5.27±0.57 ^{Bb}	6.28±0.92 ^{Bb}
CT	3.46±0.15 ^{Ac}	3.27±0.38 ^{Ab}	3.17±0.17 ^{Abc}	3.45±0.53 ^{Ab}	3.24±0.44 ^{Ac}	4.74±0.52 ^{Bc}
CR	4.08±0.18 ^{Ab}	2.91±0.09 ^{Bc}	2.98±0.10 ^{Bc}	3.62±0.50 ^{Ab}	4.91±0.11 ^{Cb}	6.00±0.55 ^{Db}

¹Sonuçlar üç tekerrür ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

^{A-D}: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.7 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TAMB sayısındaki değişim

Chaleshtori ve Chaleshtori (2017), oregano ve limon uçucu yağları içeren kitosan (%2) ile kaplanan broiler göğüs etinin 4 °C’de depolanması sürecinde kontrol grubuna kıyasla kitosan kaplama uygulanan gruplarda toplam canlı sayısının 6. güne kadar azaldığını, 9. günde ise toplam canlı sayısında artış görüldüğünü bildirmiştir. 9. günde en düşük toplam canlı sayısı kitosan ile kaplanan grupta (4.43 log kob/g) ve %2 oregano uçucu yağı-kitosan ile kaplanan grupta (4.49 log kob/g) bildirilmiştir. Karimnezhad vd. (2019), başlangıç toplam bakteri sayısının kontrol grubunda 4.22 log kob/g olduğunu, kitosan ve kitosan-oregano (%1 ve %2) UY kaplama uygulanan tavuk filetolarında ise sırasıyla 4.10, 3.98 ve 3.91 log kob/g olduğunu bildirmiştir. %1 ve %2 oregano-kitosan uygulanan gruptaki depolama süresine bağlı olarak meydana gelen mikrobiyal artış oranının kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde düşük olduğunu, en etkili grubun ise %2 oregano-kitosan olduğunu belirtmiştir. 12 günlük depolama süresi sonunda kontrol, kitosan, %1 oregano-kitosan ve %2 oregano-kitosan numunelerinde toplam bakteri sayıları sırasıyla 8.32, 7.34, 6.18 ve 5.23 log kob/g olarak bildirilmiştir.

Eldaly vd. (2018), kitosan (%1, %1.5 ve %2) ile kaplanmış tavuk göğüs filetoları ve kaplamasız numunelerin başlangıç toplam bakteri sayısını sırasıyla 5.54, 5.19 ve 4.95 log

ve 6.29 log kob/g olduğunu, üçüncü günde kaplanmamış numunelerin TAMB sayısının 6.87 log kob/g'ya yükseldiğini, buna karşın kaplanmış numunelerin 4.81-5.42 log kob/g aralığında seyrettiğini, 6. günde kaplamasız numunenin bozulduğunu bildirmiştir. 12 günlük depolama sonucunda ise kitosan kaplı numunelerde TAMB sayısının 5.99-6.97 log kob/g aralığında olduğu belirlenmiştir. TAMB sayılarındaki düşüşün nedeninin kitosanın bozulma yapan mikroorganizmalar üzerindeki inhibitör etkisi olabileceği ve kitosan konsantrasyonunun artışıyla bu inhibitör etkinin arttığı belirtilmiştir.

Taheri vd. (2018), %2 kitosan-%1 kimyon UY uygulanan hindi göğüs etinde başlangıç toplam bakteri sayısını kontrol grubu için 4.77, kitosan-kimyon UY grubu için 3.90 log kob/g olarak tespit etmiş, kontrol grubunun 6. günde 6.54 log kob/g, 9. günde ise 8.76 log kob/g toplam bakteri sayısına ulaştığını belirtmiştir. Kitosan-kimyon ile muamele edilen grubun ise depolamanın 15. gününde bile bozulma için standart limit olan 7 log kob/g'ın altında kaldığı bildirilmiştir. Kanatt vd. (2013) tavuk köfte ve tavuk şiş ürünlerine kitosan kaplama uygulamış ve 0-3 °C'de depolamıştır. Başlangıç toplam canlı sayısı sırasıyla 4.6 ve 4.9 log kob/g iken kitosan ile muamele sonucunda sırasıyla 3.2 ve 3.3 log kob/g'a düşmüş, 14 günlük depolama sonucunda ise TAMB sayısının tavuk köfte 6.6 log kob/g, tavuk kebapta ise 7.2 log kob/g olduğu bildirilmiştir.

4.2.4.2 Toplam aerob psikrotrofik bakteri sayısı

Piliç göğüs etlerinin soğukta depolama süresince TAPB sayılarındaki değişime ait sonuçlar çizelge 4.9'da ve şekil 4.8'de verilmiştir. Başlangıç gününde TAPB sayısı kontrol, kitosan, kitosan-kekik UY, kitosan-biberiye UY gruplarında sırasıyla 4.72, 3.01, 3.14 ve 2.69 log kob/g olarak belirlenmiş ve depolama süresi uzadıkça CT grubu hariç diğer gruplarda artış göstermiştir. Depolama sonunda TAPB sayıları sırasıyla 9.47, 6.47, 4.65 ve 6.00 log kob/g olarak belirlenmiştir. Piliç göğüs etlerinde TAPB sayısındaki değişime uygulamanın ve sürenin birlikte etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. TAPB sayısı depolama boyunca en düşük CT kaplamalı örneklerde belirlenmiş ve 15. günde diğer gruplar ile arasında önemli fark oluşmuştur ($p<0.05$). Kitosan ve kitosan UY kaplama, TAPB sayılarındaki artışı önemli düzeyde baskılamıştır ve 0. gün dahil, her bir analiz döneminde K ile diğer gruplar arasında önemli farklar

($p<0.05$) oluşmuştur. Depolamanın 6. ve 9. günlerinde CT ve CR grupları arasındaki fark önemli olmazken ($p>0.05$), 12. ve 15. günlerde CR kaplamalı örneklerin TAPB sayılarındaki artış CT kaplamalı örneklerden daha yüksek olmuştur ($p<0.01$). C, CT ve CR kaplanan gruplarda depolama süresince TAPB sayısı 7 log kob/ g'ın altında izlenmiştir.

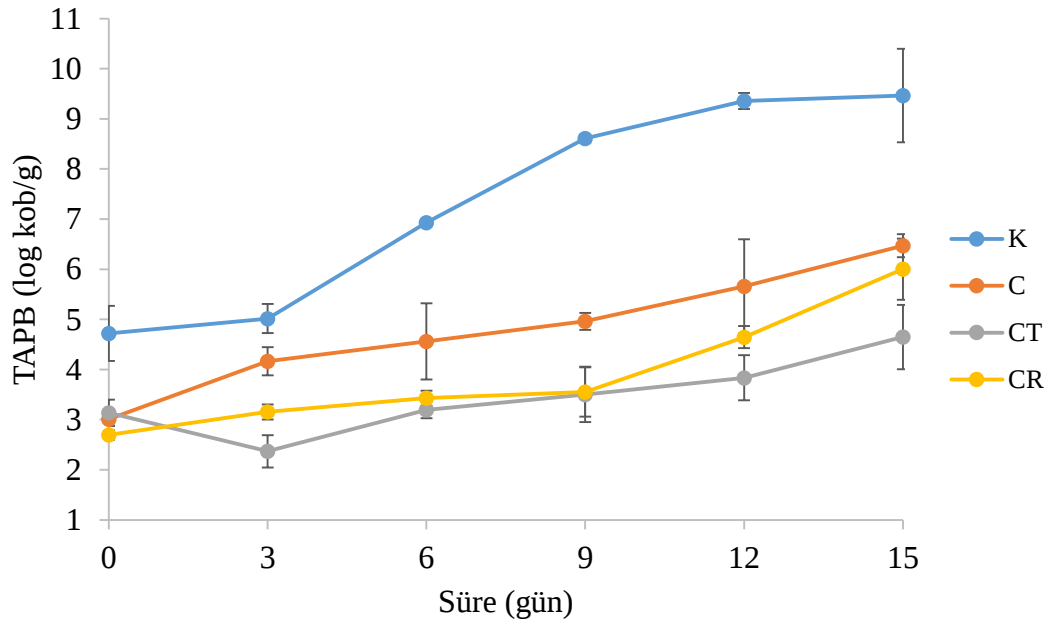
Çizelge 4.9 Tavuk göğüs etinde depolama sırasında TAPB sayısındaki (log kob/g) değişime uygulama x süre etkisi¹

Grup	Süre (gün)					
	0	3	6	9	12	15
K	4.72±0.55 ^{Aa}	5.02±0.29 ^{Aa}	6.93±0.05 ^{Ba}	8.61±0.08 ^{Ca}	9.36±0.16 ^{Da}	9.47±0.93 ^{Da}
C	3.01±0.13 ^{Ab}	4.16±0.28 ^{Bb}	4.56±0.76 ^{Bb}	4.96±0.17 ^{Bb}	5.66±0.94 ^{Cb}	6.47±0.23 ^{Cb}
CT	3.14±0.26 ^{Ab}	2.37±0.32 ^{Bc}	3.19±0.16 ^{Ac}	3.50±0.55 ^{Ac}	3.83±0.45 ^{Ad}	4.65±0.64 ^{Cd}
CR	2.69±0.09 ^{Ab}	3.15±0.15 ^{ABd}	3.43±0.15 ^{ABc}	3.55±0.49 ^{Bc}	4.65±0.22 ^{Cc}	6.00±0.61 ^{Dc}

¹Sonuçlar üç tekerrür ortalaması±standart sapma olarak verilmiştir.

^{A-D}: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

^{a-d}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.8 Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde depolama süresince TAPB sayısındaki değişim

C grubunda 3, 6 ve 9. gün TAPB sayıları arasında önemsiz değişim olurken 12. ve 15. gündeki artışlar ile aralarındaki fark önemli düzeyde olmuştur ($p<0.05$). Kitosan kaplama K örneklerden sonra 15. günde en yüksek TPAB sayısına (6.47 log kob/g) sahip olmuştur. CT grubunda 3. günde anlamlı bir düşüş olduğu ($p<0.05$), 6. günde ise yine başlangıç seviyesine gelindiği ve 15. güne kadar TAPB sayıları arasındaki farkın önemsiz olduğu ($p>0.05$), 15. günde ise anlamlı artış görüldüğü belirlenmiştir. CR grubunda 9. güne kadar periyotlar arası TAPB sayıları arasındaki fark önemsiz ($p>0.01$), 12 ve 15. günlerde meydana gelen artış ise önemli düzeylerde olmuştur ($p<0.01$).

Chaleshtori ve Chaleshtori (2017), oregano ve limon uçucu yağları içeren kitosan (%2) film ile kaplanan broiler göğüs etinin 4°C’de depolanması sürecinde psikrotrofik bakteri gelişimini incelemiş ve depolamanın 2. gününde işlem görmüş tüm gruplarda TAPB sayısının kontrol grubuna kıyasla azaldığını bildirmiştir. 6. günde TAPB sayısının tüm gruplarda arttığını, 9. günde en düşük psikrotrofik bakteri sayısının kitosan kaplama grubunda 4.17 log kob/g olarak görüldüğünü bildirmiştir. İşlem görmüş tüm gruplarda TAPB değeri 5-6 log kob /g aralığında kaydedilmiştir.

Karimnezhad vd. (2019), başlangıç toplam psikrofil sayısını kontrol, kitosan, %1 oregano-kitosan ve %2 oregano-kitosan film kaplanan tavuk fileto grupları için sırasıyla 4.59, 4.45, 4.33, 4.20 log kob /g olarak tespit etmiştir. Soğukta depolamanın 12. gününde ise aynı sıralamayla 8.65, 8.32, 5.68, 5.12 log kob /g olarak bildirmiştir. Depolama süresince işlem görmüş örneklerin mikrobiyal gelişiminin kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu, kontrol grubunun 9. günde, kitosan ile kaplanan grubun ise 9. günden sonra bozulduğu görülmüştür.

Mehdizadeh ve Langroodi (2019), kitosan ve *Zataria multiflora* uçucu yağı içeren propolis ekstresi ile muamele edilen tavuk göğüs filetolarının başlangıç TAPB değerlerinin 3.21- 4.26 log kob /g aralığında olduğunu; 4 °C’de 16 gün depolama sonunda kitosan ile işlem görmüş numunenin 6.01 log kob /g değerine, %1 uçucu yağ içeren numunenin ise 5.81 log kob /g değerine ulaştığını bildirmiştir.

Taheri vd. (2018) tarafından hindi göğüs etinin 4°C’de depolama sürecinde kontrol grubunun toplam psikrotrof bakteri sayısının 0. günde 3.55 log kob/g olduğu, 6. günde ise 7.57 log kob/g değerine yükseldiği bildirilmiştir. %2 kitosan-%1 kimyon UY ile muamele edilen grubun ise başlangıç değeri 3.19 log kob/g iken, depolamanın son günü olan 15. günde bu değerin ancak 5.78 log kob/g’a yükseldiği ve bozulma limitinin altında kalarak uygulamanın koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir.



5. SONUÇ

Kitosan, kekik ve biberiye yağı ile zenginleştirilen kitosan çözeltilerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve kitosan-kekik UY içeren çözeltisi *Salmonella* Enteritidis (S1-660), *Salmonella* Typhimurium (S1-663), *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* tip I, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi önemli patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Kitosan- kekik UY çözeltisinin antioksidan aktivitesinin de olduğu ortaya konulmuştur. Kitosan ve kitosan-biberiye uçucu yağı içeren çözeltilerde antibakteriyel aktivite görülmemiş ve antioksidan aktiviteleri düşük bulunmuştur.

Hiçbir işlem uygulanmayan ve 4 ± 1 °C’de depolanan piliç göğüs etleri 6 günde tüketilebilir özelliklerini yitirirken, kitosan, kitosan-kekik ve kitosan-biberiye çözeltileri ile kaplanan etler 15 gün raf ömrüne sahip olmuşlardır. Kontrol örneklerde 6. günde TAMB sayısı sınır değeri olan 7 log kob/g düzeyini aşarken, TAPB sayısı bu düzeye yaklaşmıştır. Kitosan, Kitosan-kekik yağı, kitosan-biberiye yağı kaplı örnekler 15 gün boyunca sınır değerine ulaşmamışlardır. Depolama sonunda TMAB ve TAPB sayılarını CT kaplama yaklaşık 5 log düzeyinde, CR kaplama 3.5 log düzeyinde ve C kaplama 3 log düzeyinde azaltmıştır. CT kaplama ile göğüs etinin TAMB sayısı başlangıçtan 15. güne kadar yaklaşık 1.5, TAPB sayısı yaklaşık 1.3 log düzeyinde artmıştır. CR ve C kaplamada bu düzeyler TAMB için sırasıyla yaklaşık 3.3 ve 3.5, TPAB için 1.9 ve 2.5 log düzeyinde olmuştur. K örneklerde ise artış 5 log düzeyinde olmuştur. Bu sonuçlara göre mikrobiyal gelişimi azaltmada en etkili kaplama kitosan-kekik yağı olmuştur.

Piliç göğüs etine kitosan ve kitosan-UY uygulaması başlangıç pH değerlerini kontrol grubuna kıyasla düşürmüştür. En düşük pH değerleri CT ve CR kaplamalı göğüs etlerinde belirlenmiştir. Bu düşük pH değerlerine kitosan çözeltilerinin sahip olduğu düşük pH’nın ve mikrobiyal çoğalmanın baskılanmasının etkisi olmuştur.

Piliç etlerinde lipit oksidasyonunu geciktirmede en etkili uygulama kitosan-kekik kaplama olmuş, bu uygulamayı CR ve C kaplanmış örnekler izlemiştir. CT kaplanmış örneklerde lipit oksidasyonu 15 gün boyunca çok az değişim gösterirken, kaplamasız

kontrol örneklerde 3. günden, C ve CR kaplamalı örneklerde ise 6. günden itibaren önemli artışlar gözlenmiştir.

Çalışma süresince piliç eti ve çözeltide gerçekleştirilen analizlerin sonucunda genel olarak en etkili grubun kitosan-kekik UY içeren grup olduğu görülmüştür. Depolama süresindeki artışa bağlı olarak piliç göğüs etinde görülen mikrobiyal ve kimyasal bozulmaları etkili düzeyde önlediği düşünülmektedir. Kitosan ve kitosan-biberiye UY gruplarının ise benzer düzeyde etkili olduğu ve kontrol grubuna kıyasla piliç göğüs etinde koruyuculuk sağladığı; ancak yapılan çözelti analizlerinde etkili antioksidan ve antimikrobiyal aktivite görülemediği belirlenmiştir.

Soğuk depolamada kısa bir raf ömrüne sahip piliç etinin uçucu yağlar ile zenginleştirilmiş kitosan çözeltiler ile kaplanması kalite özelliklerini önemli düzeyde korumuştur. Sıvı kaplamaların ete penetrasyonu arttıkça depolama süresince antioksidatif ve antimikrobiyal etkinin korunduğu görülmüştür. Bundan sonraki çalışmalarda, piliç eti ile uyumlu uçucu yağların kitosan ile zenginleştirilerek bu tip gıdaların raf ömrünün artırılmasında doğal alternatifler alabilecekleri düşünülmektedir. Farklı konsantrasyon, farklı kemotipe sahip kekik uçucu yağları kullanılarak yapılacak çalışmalar ve diğer koruyucu uygulamaların (vakum, MAA ambalaj gibi) birlikte kullanımı ile oluşturulacak engeller teknolojisini içerecek çalışmalar kekik-kitosan çözeltisinin doğal koruyucu niteliğini daha etkili hale getirecektir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zabermawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abd El-Hakim, Y. M., Al-Sagheer, A. A. 2020. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2726-2744.
- Adelakun, O. E., Oyelade, O. J., Olanipekun, B. F. 2016. Use of essential oils in food preservation, In: *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Preedy, V. R.(ed), Academic Press, 71-84, USA.
- Alasnier, C., Meynier, A., Viau, M., Gandemer, G. 2000. Hydrolytic and oxidative changes in the lipids of chicken breast and thigh muscles during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 65(1), 9-14.
- Alexandre, E. M. C., Silva, C. L. M., Brandão, T. R. S. 2013. Processing and preservation of meat, poultry and seafood, In: *Advances in food science and nutrition*, Volume 2. Visakh, P. M., Iturriaga, L. B., Ribotta, P., Thomas, S. (eds.), Scrivener Publishing LLC, 69-103, USA.
- Al-Nehlawi, A., Saldo, J., Vega, L.F., Guri, S. 2013. Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks. *Meat Science*, 94, 1–8.
- Alvarado, C. Z., Thompson, L. D. 2011. Poultry Meat: Carcass Composition and Characteristics, In: *Encyclopedia of Animal Science*, Second Edition. Ullrey, D. E., Baer, C. K., Pond, W. G. (eds), CRC Press, 895-898, USA.
- Amaral, A. B., Silva, M. V. D., Lannes, S. C. D. S. 2018. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Science and Technology*, 38, 1-15.
- Amerah, A. M., Ouwehand, A. C. 2016. Use of essential oils in poultry production, In: *Essential oils in food preservation, Flavor and Safety*. Preedy, V. R.(ed), Academic Press, 101-110, USA.
- Anonim. 2021. Web sitesi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretimi-Aralik-2020-37214>, Erişim tarihi: 18.02.2021.
- Anonymous. 2010. *Official Methods of Analysis* (17th edition). Association of Official Analytical Chemists Washington, DC, USA.
- Anonymous. 2014. Web sitesi: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/backgr_sources.html, Erişim Tarihi: 09.04.2021.

- Anonymous. 2020. FAO. Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets – November 2020. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb1993en>, Erişim Tarihi: 09.04.2021.
- Anonymous. 2021a. Web sitesi: <http://www.fao.org/poultry-production-products/products-processing/en/>, Erişim Tarihi: 09.04.2021.
- Anonymous. 2021b. Web sitesi: <http://www.fao.org/poultry-production-products/production/poultry-species/en/>, Erişim Tarihi: 19.04.2021.
- Anraku, M., Gebicki, J. M., Iohara, D., Tomida, H., Uekama, K., Maruyama, T., Hirayama, F., Otagiri, M. 2018. Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies. Carbohydrate polymers, 199, 141-149.
- Arslan, B., Soyer, A. 2018. Effects of chitosan as a surface fungus inhibitor on microbiological, physicochemical, oxidative and sensory characteristics of dry fermented sausages. Meat science, 145, 107-113.
- Assanti, E., Karabagias, V. K., Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontominas, M. G. 2021. Shelf life evaluation of fresh chicken burgers based on the combination of chitosan dip and vacuum packaging under refrigerated storage. Journal of Food Science and Technology, 58(3), 870-883.
- Aşık, E., Candoğan, K. 2014. Effects of chitosan coatings incorporated with garlic oil on quality characteristics of shrimp. Journal of food quality, 37(4), 237-246.
- Bajpai V.K., Shukla S., Sharma A. 2013. Essential Oils as Antimicrobial Agents, In: Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes. Ramawat K., Mérillon J.M. (eds), Springer, 3975-3988, Berlin, Heidelberg.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology, 46(2), 446-475.
- Bakshi, P. S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., Kumar, N. S. 2020. Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. International journal of biological macromolecules, 150, 1072-1083.
- Balamatsia, C.C., Patsias, A., Kontominas, M.G., Savvaidis, I.N. 2007. Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere-packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. Food Chemistry, 104, 1622–1628.
- Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernández-López, J., Viuda-Martos, M. 2016. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four Thymus species. Journal of food science and technology, 53(8), 3374-3379.

- Barbosa, L. N., Probst, I. S., Andrade, B. F. M. T., Alves, F. C. B., Albano, M., Rall, V. L. M. and Júnior, A. F. 2015. Essential oils from herbs against foodborne pathogens in chicken sausage. *Journal of oleo science*, 64(1), 117-124.
- Barroeta, A. C. 2007. Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin E and PUFA. *World's poultry science journal*, 63(2), 277-284.
- Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., Tajik, H. 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative food science & emerging technologies*, 29, 280-287.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70-76.
- Bibek, R. 2004. Normal Microbiological Quality of Foods and its Significance, In: *Fundamental food microbiology* Third edition. CRC Press, 43-52, USA.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
- Bordoni, A., Danesi, F. 2017. Poultry meat nutritive value and human health, In: *Poultry Quality Evaluation*. Petracci, M., Berri, C. (eds), Woodhead Publishing, 279-290.
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Golet, I., Gruia, A.T., Horhat, F.G. 2014. Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*, 7(3), 56-60.
- Buchbauer, G., Wallner, I.M. 2016. Essential Oils: Properties, Composition and Health Effects, In: *Encyclopedia of Food and Health*. Caballero, B., Finglas, P. M., Toldrá, F. (eds), Academic Press, 558-562, UK.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Capita, R., Alonso-Calleja, C., García-Arias, M.T., Moreno, B., García-Fernández, M.D.C. 2002. Methods to detect the occurrence of various indicator bacteria on the surface of retail poultry in Spain. *Journal of Food Science*, 67, 765–771.
- Capita, R., Álvarez-Fernández, E., Fernández-Buelta, E., Manteca, J., Alonso-Calleja, C. 2013. Decontamination treatments can increase the prevalence of resistance to antibiotics of *Escherichia coli* naturally present on poultry. *Food Microbiology*, 34, 112–117.
- Carvalho, R., Shimokomaki, M., Estévez, M. 2017. Poultry meat color and oxidation, In: *Poultry quality evaluation*. Petracci, M., Berri, C. (eds), Woodhead Publishing, 133-157

- Cemeroğlu, B. 2007. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri, In: Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 34, 144-145, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Soyer, A. 2005. Gıdaların Soğutulması ve Dondurulması, In: Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler. Cemeroğlu, B. (ed), Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları no:29, 138-145, Ankara.
- Chaiba, A., Rhazi, F.F., Chahlaoui, A., Soulaymani, R.B., Zerhouni, M. 2007. Microbiological quality of poultry meat on the Meknès market (Morocco). Internet Journal Food Safety, 9, 67–71.
- Chaleshtori, F.S., Chaleshtori, R.S. 2017. Antimicrobial activity of chitosan incorporated with lemon and oregano essential oils on broiler breast meat during refrigerated storage. Nutrition and Food Science, 47(3), 306-317.
- Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S., Khomeiri, M. 2012. An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. International Journal of Biological Macromolecules, 50(3), 540-544.
- Chi, S. 2004. Development and characterization of antimicrobial food coatings based on chitosan and essential oils. MSc. Thesis, University of Tennessee, 71, USA.
- Chivandi, E., Dangarembizi, R., Nyakudya, T. T., Erlwanger, K. H. 2016. Use of essential oils as a preservative of meat, In: Essential oils in food preservation, flavor and safety. Preedy, V. R.(ed), Academic Press, 85-91, USA.
- Chmiel, M., Roszko, M., Adamczak, L., Florowski, T., Pietrzak, D. 2019. Influence of storage and packaging method on chicken breast meat chemical composition and fat oxidation. Poultry Science, 98, 2679–2690.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. Food microbiology, 24(6), 607-617.
- Corry, J. E. L. 2007. Spoilage organisms of red meat and poultry, In: Microbiological Analysis of Red Meat, Poultry and Eggs. Mead, G. C. (ed), CRP Press, 101-122, USA.
- Del Rio, E.; Panizo-Morán, M.; Prieto, M.; Alonso-Calleja, C.; Capita, R. 2007. Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora and sensory characteristics of poultry. International Journal of Food Microbiology, 115, 268–280.
- Demirok Soncu, E. D., Özdemir, N., Arslan, B., Küçükkaya, S., Soyer, A. 2020. Contribution of surface application of chitosan–thyme and chitosan–rosemary essential oils to the volatile composition, microbial profile, and physicochemical

- and sensory quality of dry-fermented sausages during storage. *Meat science*, 166, 108127.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429.
- dos Santos, N. S. T., Aguiar, A. J. A. A., de Oliveira, C. E. V., de Sales, C. V., e Silva, S. D. M., da Silva, R. S., Stamford, T. C. M., de Souza, E. L. 2012. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food microbiology*, 32(2), 345-353.
- Doulgeraki, A.I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G.-J.E. 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 130–141.
- Duan, C., Meng, X., Meng, J., Khan, M. I. H., Dai, L., Khan, A., An, X., Zhang, J., Huq, T., Ni, Y. 2019. Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: a review on chemistry and antimicrobial properties. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 4(1), 11-21.
- Eldaly, E.A., Mahmoud, A. F. A., Abobakr, H. M. 2018. Preservative effect of chitosan coating on shelf life and sensory properties of chicken fillets during chilled storage. *Journal of Nutrition and Food Security*, 3(3), 139-148.
- Elsabee, M. Z., Abdou, E. S. 2013. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1819-1841.
- Elsabee, M. Z., Morsi, R. E., Fathy, M. 2016. Chitosan-oregano essential oil blends use as antimicrobial packaging material, In: *Antimicrobial Food Packaging*. Barros-Velázquez, J. (ed), Academic Press, 539-551, USA.
- Erge, A., Eren, Ö. 2021. Effect of gelatin/chitosan coating on chicken patty quality during frozen storage: a response surface methodology application. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(2), 165-171.
- Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., Ksouri, R. 2020. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268.
- Fратиanni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R. and Nazzaro, F. 2010. Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *Journal of food science*, 75(8), M528-M535.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S.A. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Science*, 76(1), 172–181.

- Gitrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I. N. 2010a. Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food microbiology*, 27(1), 132-136.
- Gitrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I. N. 2010b. Combined chitosan-thyme treatments with modified atmosphere packaging on a ready-to-cook poultry product. *Journal of food protection*, 73(4), 663-669.
- Gonzalez-Aguilar, G.A., Villegas-Ochoa, M.A., Martínez-Téllez, M.A., Gardea, A.A., Ayala-Zavala J.F. 2007. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *J Food Sci*, 72: 197-202.
- Goy, R. C., Britto, D. D., Assis, O. B. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), 241-247.
- Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Rossi, C., Paparella, A. 2018. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 61-71.
- Grassmann, J., Elstner, E.F. 2003. Essential Oils: Properties and Uses, In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition). Caballero, B. (ed), Academic Press, 2177-2184. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00425-9>
- Hać-Szymańczuk, E., Cegiełka, A. N., Lipińska, E., Piwowarek, K. 2017. Application of rosemary for the prolongation of microbial and oxidative stability in mechanically deboned poultry meat from chickens. *Italian Journal of food Science*, 29 (2), 329-342.
- Hamed, I., Özogul, F., Regenstein, J. M. 2016. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in food science & technology*, 48, 40-50.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
- Hernández, M. D., Sotomayor, J. A., Hernández, Á., Jordán, M. J. 2016. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oils, In: *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Preedy, V. R. (ed), Academic Press, 677-688, USA.
- Hosseinnejad, M., Jafari, S. M. 2016. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. *International journal of biological macromolecules*, 85, 467-475.
- Höll, L., Behr, J., Vogel, R.F. 2016. Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*, 60, 84-91.

- Hromiš, N. M., Lazić, V. L., Popović, S. Z., Šuput, D. Z., Bulut, S. N. 2017. Antioxidative activity of chitosan and chitosan based biopolymer film. *Food and Feed Research*, 44(2), 91–100.
- Hugo, C. J., Hugo, A. 2015. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 12-23.
- Hyltdgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1–24. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012.
- Issabeagloo, E., Kermanizadeh, P., Taghizadieh, M., Forughi, R. 2012. Antimicrobial effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against *Staphylococcus* spp. *African Journal of Microbiology Research*, 6(23), 5039-5042.
- James, S., James, C. 2008. Raw material selection: meat and poultry, In: *Chilled Foods* (Third Edition). Brown, M. (ed), 61-82, Woodhead Publishing, USA.
- Jayasena, D. D., Jo, C. 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34(2), 96-108.
- Joseph, S. M., Krishnamoorthy, S., Paranthaman, R., Moses, J. A., Anandharamakrishnan, C. 2021. A review on source-specific chemistry, functionality, and applications of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100036.
- Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., Yao, W. 2019. Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2467-2480.
- Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. R., Mahomoodally, M. F. 2020. Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 101, Pages 89-105.
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., Sharma, A. 2013. Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. *LWT-Food science and technology*, 53(1), 321-326.
- Karimnezhad, F., Razavilar, V., Anvar, A. A., Eskandari, S. 2017. Study the antimicrobial effects of chitosan-based edible film containing the *Trachyspermum ammi* essential oil on shelf-life of chicken meat. *Microbiology Research*, 8(2), 7226, 84-87.
- Karimnezhad, F., Razavilar, V., Anvar, A., Dashtgol, S., Zavareh, A. P. 2019. Combined effect of chitosan-based edible film containing oregano essential oil on the shelf-life extension of fresh chicken meat. *Journal of Nutrition and Food Security*, 4(4), 236-242.

- Kataria J., Morey A. 2020. Antimicrobial interventions in poultry processing to improve shelf life and safety of poultry meat: a review with special attention to *Salmonella* spp. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 7(2), 52-59.
- Khare, A. K., Abraham, R. J., Rao, V. A., Babu, R. N., Ruban, W. 2017. Effect of Chitosan and Cinnamon oil edible coating on shelf life of chicken fillets under refrigeration conditions. *Indian Journal of Animal Research*, 51(3), 603-610.
- Khorshidi, S., Mehdizadeh, T., Ghorbani, M. 2021. The effect of chitosan coatings enriched with the extracts and essential oils of *Elettaria Cardamomum* on the shelf-life of chicken drumsticks vacuum-packaged at 4 °C. *Journal of Food Science and Technology*, 58(8), 2924–2935. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04794-8>.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., Park, H. J. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International journal of food microbiology*, 144(1), 51-63.
- Kou, S., Peters, L., Mucalo, M. 2020. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 169, 85-94.
- Li, J., Zhuang, S. 2020. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: current state and perspectives. *European Polymer Journal*, 138, 109984.
- Lim, S. H., Hudson, S. M. 2004. Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydrate research*, 339(2), 313-319.
- Liu, D. C., Tsau, R. T., Lin, Y. C., Jan, S. S., Tan, F.J. 2009. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 117, 106–113.
- López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., Ornelas-Paz, J. D. J., Cira-Chávez, L. A., Silva-Beltrán, N. P. 2015. Antibacterial and antioxidant properties of edible chitosan coatings incorporated with essential oils. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(4), 251-264.
- Malinowska-Pańczyk, E., Staroszczyk, H., Gottfried, K., Kołodziejska, I., Wojtasz-Pająk, A. 2015. Antimicrobial properties of chitosan solutions, chitosan films and gelatin-chitosan films. *Polimery*, 60(11-12), 735-741.
- Manalo, M. R., Gabriel, A. 2020. Changes in the physicochemical and microbiological properties of pork and chicken meats at ambient storage condition. *Meat Technology*, 61(1), 44–53.

- Mandal, S., DebMandal, M. 2016. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) oils. In: Essential oils in food preservation, flavor and safety. Preedy, V. R.(ed), Academic Press, 825-834, USA.
- Manigandan, V., Karthik, R., Ramachandran, S., Rajagopal, S. 2018. Chitosan applications in food industry, In: Biopolymers for food design. Grumezescu, A. M., Holban, A. M. (eds), Academic Press, 469-491.
- Manju, S., Jose, L., Gopal, T.S., Ravishankar, C., Lalitha, K. 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearls spot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chemistry, 102, 27–35.
- Másson, M. 2021. Chitin and chitosan, In: Handbook of Hydrocolloids (Third Edition). Phillips, O. G., Williams, P. A. (eds), Woodhead Publishing, 1039-1072.
- Mead, G. C. 2004. Shelf-life and spoilage of poultry meat, In: Poultry meat processing and quality. Mead, G. C. (ed), Woodhead Publishing, 283-303, UK.
- Mehdizadeh, T., Langroodi, A. M. 2019. Chitosan coatings incorporated with propolis extract and Zataria multiflora Boiss oil for active packaging of chicken breast meat. International journal of biological macromolecules, 141, 401-409.
- Miguel, M. G. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. Molecules, 15(12), 9252-9287.
- Mohammed, H. H. H., He, L., Nawaz, A., Jin, G., Huang, X., Ma, M., Abdegadir, W. S., Elgasim, E. A., Khalifa, I. 2021. Effect of frozen and refrozen storage of beef and chicken meats on inoculated microorganisms and meat quality. Meat Science, 175.
- Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., Hadian, M. 2012. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. LWT-Food Science and Technology, 46(2), 477-484.
- Mulder, R. W. A. W. 2004. Managing the safety and quality of poultry meat, In: Poultry meat processing and quality. Mead, G. C. (ed), Woodhead Publishing, 332-344, UK.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals, 6(12), 1451-1474.
- Neacsu, M., Van, I., Popa, R., Popa, D., Vidu, L., Dronca, D. 2016. Research On The Assessment Of Biochemical Parameters Of Poultry Meat Under A Constant Level Of Energy And Protein. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 49(1), 217-221.

- Ngo, D. H., Kim, S. K. 2014. Antioxidant effects of chitin, chitosan, and their derivatives. *Advances in food and nutrition research*, 73, 15-31.
- Ni, Z. J., Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J. G., Hu, F., Wei, Z. J. 2021. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 78-89.
- Özkan, H. 2016. Kitosan çözeltilerine daldırmanın kokteyl sosislerin soğukta depolanması sırasında mikrobiyolojik kalitesine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 70, Ankara.
- Park, P., Je, J., Kim, S. 2004. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*, 55(1), 17-22.
- Pateiro, M., Munekata, P. E., Sant'Ana, A. S., Domínguez, R., Rodríguez-Lázaro, D., Lorenzo, J. M. 2021. Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108966.
- Paul, S. K. 2020. Edible films and coatings for fruits and vegetables, In: *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*. Hashmi, S., Choudhury, I. A. (eds), Elsevier, 363-376. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.11509-7>.
- Peng, Y., Yuan, J., Liu, F., Ye, J. 2005. Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39 (3-4), 431-437.
- Perdones, Á., Escriche, I., Chiralt, A., Vargas, M. 2016. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. *Food Chemistry*, 197(A), 979-986.
- Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N. 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International journal of food microbiology*, 156(3), 264-271.
- Piegate, A., Żywicka, A., Niemczyk, A., Goszczyńska, A. 2020. Antibacterial activity of N, O-acetylated chitosan derivative. *Polymers*, 13(1), 107.
- Raafat, D., Sahl, H. G. 2009. Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *Microbial biotechnology*, 2(2), 186-201.
- Ribeiro, J. S., Santos, M. J. M. C., Silva, L. K. R., Pereira, L. C. L., Santos, I. A., da Silva Lannes, S. C., da Silva, M. V. 2019. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Science*, 148, 181-188.
- Rimini, S., Petracci, M., Smith, P. D. 2014. The use of thyme and orange essential oils

blend to improve quality traits of marinated chicken meat. *Poultry Science*, 93(8), 2096-2102.

Rios, J. L. 2016. Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. In: *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Preedy, V. R.(ed), Academic Press, 3-10, USA.

Rouger, A., Tresse, O., Zagorec, M. 2017. Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. *Microorganisms*, 5(3), 50.

Ruíz-Cruz, S., Valenzuela-López, C. C., Chaparro-Hernández, S., Ornelas-Paz, J. D. J., Del Toro-Sánchez, C. L., Márquez-Ríos, E., López-Mata, M. A., Ocaño-Higuera, V. M., Valdez-Hurtado, S. 2019. Effects of chitosan-tomato plant extract edible coatings on the quality and shelf life of chicken fillets during refrigerated storage. *Food Science and Technology*, 39(1), 103-111.

Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A., Fernández-López, J. 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30(2), 386-392.

Sharafati Chaleshtori, F., Taghizadeh, M., Rafieian-kopaei, M., Sharafati-chalesshtori, R. 2016. Effect of chitosan incorporated with cumin and eucalyptus essential oils as antimicrobial agents on fresh chicken meat. *Journal of food processing and preservation*, 40(3), 396-404.

Sharma, S., Barkauskaite, S., Jaiswal, A. K., Jaiswal, S. 2020. Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry*, 343, 128403.

Shekarforoush, S. S., Basiri, S., Ebrahimnejad, H., Hosseinzadeh, S. 2015. Effect of chitosan on spoilage bacteria, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in cured chicken meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 303-309.

Silva, F., Domingues, F. C., Nerín, C. 2018. Trends in microbial control techniques for poultry products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(4), 591-609.

Silva, L. C. R., Folli, G. S., Santos, L. P., Barros, I. H. A. S., Oliveira, B. G., Borghi, F. T., dos Santos, F. D., Filgueiras, P. R., Romão, W. 2020. Quantification of beef, pork, and chicken in ground meat using a portable NIR spectrometer. *Vibrational Spectroscopy*, 111.

Singh, N., Singh, I. S. 2018. *Food Nutrition, Science and Technology*. Singh, N., Singh, I. S. (eds), Woodhead Publishing India, 38,183-185,255,285, New Delhi.

Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

- Siripatrawan, U., Harte, B. R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F. 2004. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15(8), 627-634.
- Sotoudeh, B., Azizi, M. H., Mirmajidi Hashtjin, A., Pourahmad, R., Tavakolipour, H. 2020. Evaluation of Chitosan-Nisin Coating on Quality Characteristic of Fresh Chicken Fillet under Refrigerated Conditions. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22(1), 135-146.
- Stahl-Biskup, E., Venskutonis, R. P. 2012. Thyme, In: *Handbook of herbs and spices* (Second Edition). Peter, K. V. (ed), Woodhead Publishing, 499-525, UK.
- Stopforth J.D. 2017. Preservation Methods for Meat and Poultry, In: *Microbial Control and Food Preservation, Theory and Practice*. Juneja V. K., Dwivedi H. P., Sofos J. N. (eds), Springer, 225-254, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7556-3_11
- Sun, X., Narciso, J., Wang, Z., Ference, C., Bai, J., Zhou, K. 2014. Effects of chitosan-essential oil coatings on safety and quality of fresh blueberries. *Journal of food science*, 79(5), 955-960.
- Tachaboonyakiat, W. 2017. Antimicrobial applications of chitosan, In: *Chitosan Based Biomaterials Volume 2*. Jennings, J. A., Bumgardner, J. D., (eds), Woodhead Publishing, 245-274.
- Tağı, Ş. 2010. Mikrobiyolojik analiz yöntemleri. *Gıda Analizleri Kitabı*, Cemeroğlu, B. (Ed), 2. Baskı. Bizim Grup Basımevi, 443-524, Ankara.
- Taheri, T., Fazlara, A., Roomiani, L., Taheri, S. 2018. Effect of chitosan coating enriched with cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil on the quality of refrigerated turkey breast meat. *Italian Journal of Food Science*, 30(3), 628- 640.
- Takma, D.K., Korel, F. 2019. Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 210–217.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S. 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

- Valipour Kootenaie, F., Ariaii, P., Khademi Shurmasti, D., Nemati, M. 2017. Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α -tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. *Journal of food safety*, 37(1), e12295.
- Vasilatos, G. C., Savvaidis, I. N. 2013. Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life. *International journal of food microbiology*, 166(1), 54-58.
- Verma, A. K., Banerjee, R., Dwivedi, H. P., Janeka, V. K. 2014. Bacteriocins: Potential in Food Preservation. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*, Second Edition. Batt, C. A., Tortorello, M. L. (eds), Elsevier, 180-185.
- Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. D. O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., Madrona, G. S., Do Prado, I. N. 2016. Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *Plos one*, 11(8), 1-15, e0160535.
- Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A. 2009. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance journal*, 25(1), 13-19.
- Wang, W., Xue, C., Mao, X. 2020. Chitosan: Structural modification, biological activity and application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 4532-4546.
- Xia, W., Liu, P., Zhang, J., Chen, J. 2011. Biological activities of chitosan and chitoooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 170–179.
- Xiccato, G., Trocino, A., Petracci, M., Cavani, C. 2010. Advances in research on poultry and rabbit meat quality. *Italian Journal of Animal Science*, 8(2), 741–750.
- Xie, W., Xu, P., Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11(13), 1699-1701.
- Yaghoubi, M., Ayaseh, A., Alirezalu, K., Nemati, Z., Pateiro, M., Lorenzo, J. M. 2021. Effect of Chitosan Coating Incorporated with *Artemisia fragrans* Essential Oil on Fresh Chicken Meat during Refrigerated Storage. *Polymers*, 13(5), 716.
- Yen, M. T., Yang, J. H., Mau, J. L. 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrate polymers*, 74(4), 840-844.
- Yuan, G., Chen, X., Li, D. 2016a. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*, 89(1), 117-128.
- Yuan, G., Lv, H., Zhang, Y., Sun, H., Chen, X. 2016b. Combined Effect of Cinnamon Essential oil and Pomegranate Peel Extract on Antioxidant, Antibacterial and

Physical Properties of Chitosan Films. Food Science and Technology Research, 22 (2), 291-296.

Zhang, Q.Q., Han, Y.Q., Cao, J.X., Xu, X.L., Zhou, G.H., Zhang,W.Y. 2012. The spoilage of air-packaged broiler meat during storage at normal and fluctuating storage temperatures. Poultry Science, 91, 208–214.

Zhou, G. H., Xu, X. L., Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat–A review. Meat science, 86(1), 119-128.

Zivanovic, S., Davis, R. H., Golden, D. A. 2015. Chitosan as an antimicrobial in food products, In: Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality. Taylor, M. (ed), Woodhead Publishing, 153-181, UK.

Zuzarte, M., Salgueiro, L. 2015. Essential oils chemistry, In: Bioactive essential oils and cancer. de Sousa D. P. (eds), Springer, 19-61.

EKLER

EK 1 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri

**EK 2 C, CT ve CR özeltilerini, Daldırma İşlemini ve Antimikrobiyal Aktiviteyi
Gösteren Fotoğraflar**



EK 1 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri

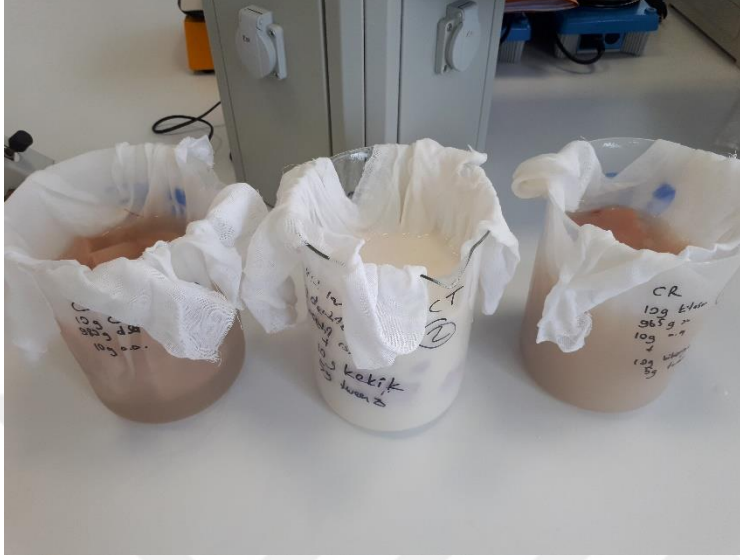
C, CT ve CR çözeltilerinin varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

	Gruplar arası
L^*	0,000
a^*	0,000
b^*	0,000
Opaklık	0,000
Toplam fenolik madde	0,000
DPPH	0,000
FRAP	0,000

Farklı çözeltilere daldırılan tavuk göğüs etinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

	Gün	Grup	Gün x Grup interaksiyonu
pH	0,110	0,000	0,000
TBARM	0,000	0,001	0,000
TMAB	0,002	0,000	0,000
TPAM	0,000	0,000	0,000

EK 2 C, CT ve CR Çözeltileri ve Daldırma İşlemini ve Antimikrobiyal Aktiviteyi Gösteren Fotoğraflar



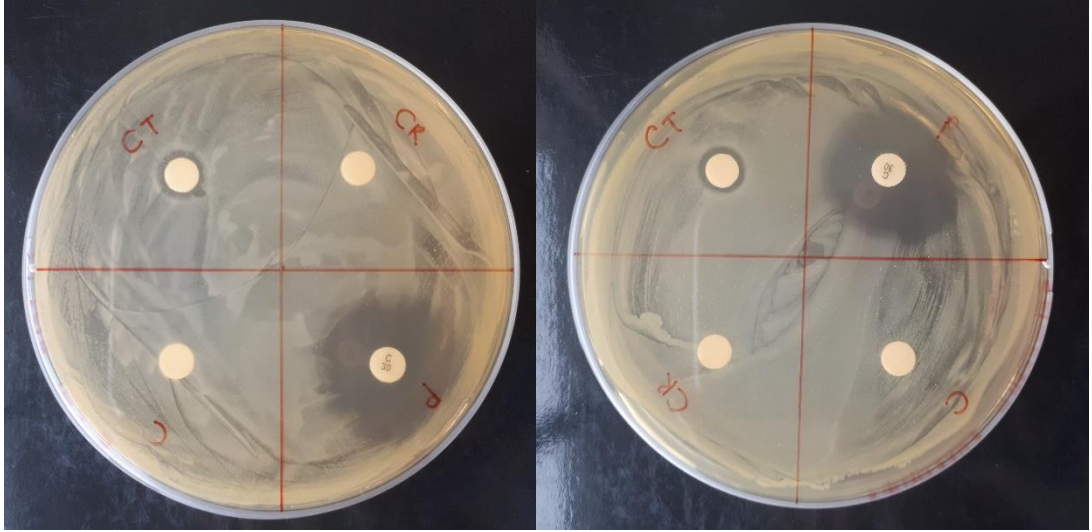
Farklı çözeltilere tavuk göğüs eti daldırma işlemi



Sırasıyla CT, C ve CR çözeltilerine daldırma işlemi uygulaması



C, CT ve CR çözeltileri



Sırasıyla *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) ve *E. coli* O157:H7 antimikrobiyal aktivite sonuçları