

Gökhan KAVAS

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi
Bölümü, 35100, İzmir / Türkiye
sorumlu yazar: gokhan.kavas@ege.edu.tr

Çörek Otu ve Tarçın Uçucu Yağ İlaveli Yumurta Beyazı Protein Tozu Esaslı Filmlerin Çökelek Peyniri Muhafazasında Kullanımı

Use of Egg White Protein Powder Based Films Fortified With
Black cumin and Cinnamon Essential Oils In The Storage of
Çökelek Cheese

Alınış (Received): 18.04.2017

Kabul tarihi (Accepted): 09.05.2017

Anahtar Sözcükler:

Peynir; tarçın, çörek otu, uçucu yağ

ÖZET

Araştırmada, yumurta beyazı protein tozuna (YBPT), % 3 (w/v) sorbitol ilavesi ile yenilebilir film üretilmiştir. Hazırlanan bu film 4 partiye ayrılmış, 1. partiye tarçın uçucu yağının (TEO), 2. partiye çörek otu uçucu yağının (ÇOEO) farklı konsantrasyonları [%0.5 (v/v); %1 (v/v)] ilave edilerek, YBPT_{TEO(0.5)}; YBPT_{TEO(1)} ile YBPT_{ÇOEO(0.5)}; YBPT_{ÇOEO(1)} esaslı filmler hazırlanmıştır. Peynir örneklerinin 3. partisi yalnızca YBPT ile kaplanmış, 4. parti film ile kaplanmamıştır (Kontrol). Peynir örneklerinin tümü *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* ile 10⁷ cfu⁻⁹ düzeyinde yapay olarak kontamine edilmiş, maya-küf sayımı ise peynir üretiminden sonra belirlenmiştir. Örnekler +4±1 °C' de 30 gün depolanmış ve 1.; 7.; 15. ve 30. günlerinde bazı fiziko-kimyasal parametreler ve antimikrobiyal etkiler değerlendirilmiştir. Araştırmada uçucu yağ konsantrasyonu artışı ile, film kalınlığının artışı, su buharı geçirgenliği, iç-dış sertlik, ağırlık kaybının azalışı, yağ bariyer özelliğinin iyileşmesi, antimikrobiyal etkinin depolama süresi boyunca artışı arasında önemli bir ilişki tespit edilmiştir (p<0.05). Fiziko-kimyasal ve antibakteriyel özellikler açısından TEO tüm konsantrasyonlarda, ÇOEO' na göre daha etkili bulunmuştur (p<0.05). Ancak, ÇOEO' nun *E.coli* O157:H7 üzerindeki etkisi, TEO' na göre daha yüksek belirlenmiştir. Uçucu yağların tüm konsantrasyonlarına en duyarlı mikroorganizma *L. monocytogenes*, en dirençli ise *E.coli* O157:H7 olarak tespit edilmiştir. YWPP, mikroorganizmalar üzerinde bakteriyostatik etkili olduğu belirlenmiştir.

Key Words:

Cheese; cinnamon, black cumin, essential oils

ABSTRACT

In this study, edible film was produced by adding 3% sorbitol (w/v) to egg white protein powder (EWPP). The 1st group of çökelek cheese samples was coated with film fortified with cinnamon essential oil (CEO) and the 2nd group with black cumin essential oil (BCEO) at various concentrations [%0.5 (v/v); %1 (v/v)]. The films were labeled as EWPP_{CEO(0.5)}, EWPP_{CEO(1)}, EWPP_{BCEO(0.5)}, EWPP_{BCEO(1)} to indicate the type and concentration of additive. The 3rd batch of the cheese samples was coated exclusively with non-fortified EWPP and the 4th batch was left uncoated (Control). All the cheese samples were contaminated with *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* (10⁷cfu⁻⁹) under controlled conditions. Counts of these organisms and yeast-mould were determined after the cheese production. All the samples were stored at +4±1°C. Their physicochemical and microbiological properties were examined on the 1st, 7th, 15th and 30th days of the storage. It was found that the relationships between the increase in the essential oil concentrations and the increase in film thickness, water vapor permeability, inner and outer hardness, decrease in the weight loss, improvement in fat barrier property, and microbial counts during storage were significant (p<0.05). Physicochemical and antibacterial properties were more significant in CEO at all concentrations compared to BCEO (p<0.05). However the effect antimicrobial of BCOE on *E. coli* O157: H7 was determined to be higher than CEO. *E. coli* O157:H7 was the most resistant microorganism to the essential oils while *L. monocytogenes* was the most sensitive. EWPP showed a bacteriostatic effect on the microorganisms.

GİRİŞ

Çökelek peyniri, inek, koyun ya da keçiden elde edilen yağlı/yağsız sütün asitliğinin artırılması ile yoğurt veya ayrandan üretilmektedir (Durlu-Özkaya ve Gun, 2014). Bileşimi kullanılan hammaddeye göre değişiklik göstermektedir. Süte uygulanan ısıl işlem nedeni ile kazein ve serum proteinlerini birlikte bulunduran çökelek peynirinde protein, kalsiyum ve su içeriği yüksek, yağ düzeyi düşüktür (Aloğlu ve ark. 2012; Kavaz ve ark. 2012). Türkiye’ de farklı bölgelerde “Eksimik”, “Kes”, “Akçakatik”, “Kesmik” ya da “Urda”, “Minci-Minzi” ve “Çökelek” gibi isimler ile anılır (Aloğlu ve ark. 2012; Dervişoğlu ve ark. 2009). Yumurta beyazı (YB) proteinini (YBP), antimikrobiyal ve antiviral özelliklere sahiptir. Bu özellikler, YBP bileşiminde yer alan, lizozim (Radziejewska ve ark. 2008), ovomusin (Omana ve ark. 2010), ovomukoid (Oliveira ve ark. 2009), ovoinhibitörler (Matsushima, 1958), fisin-papain, biyoaktif peptitler (Zhang ve ark. 2011) ve bakteri gelişimini sınırlayan alkali bir pH ile (yaklaşık 7-8.5 pH arasında) ilişkilidir (Banwart, 1983). Protein esaslı filmler, zayıf, kırılmalı ve kurutma aşamasında çatlama yapabilir (McHugh ve Krochta, 1994). Bu problemler bazı plastikleştiricilerin ilave edilmesi ile giderilmektedir (Dutta ve ark. 2009). Bunlardan sorbitol (S) diğerlerine göre daha az nem çekmesi ve %100 oranında çözünmesi ile öne çıkmaktadır (Krochta ve De Mulder-Johnston, 1997). Bu filmler, düşük bağıl nemde mükemmel gaz ve lipid bariyer özellikleri (Popović ve ark. 2012), jelatinizasyon, termal stabilite, köpük oluşumu, gibi avantajlar yanında (Lee ve Krochta, 2002), düşük su buharı bariyer özelliğine sahiptir (Brody, 2005). Yumurta beyazı protein esaslı filmler, diğer protein esaslı filmlere benzer özellikler göstermesine karşın (Yuno-Ohta ve ark. 1996), süt serum proteinini ve soya protein esaslı filmlere göre daha yüksek su buharı geçirgenliğine sahiptirler (Sothornvit, 2005). Yenilebilir filmler, antimikrobiyal maddeler için taşıyıcı matriks olarak kullanılmaktadırlar. Bu amaçla antimikrobiyal özelliği son yıllarda öne çıkan bitkisel uçucu yağlar (EO) fazlaca kullanılmaktadır (Zivanovic ve ark. 2005). *Lauraceae* familyasından olan tarçın (*Cinnamomum zeylanicum* L.) kabuğundan elde edilen uçucu yağ (TEO) gıdaların muhafazasında kullanılmaktadır (Fei ve ark. 2011). TEO’ nün bileşiminde, sinamil aldehid, sinamil asetat, karyofilen, linalol, eugenol, benzaldehid, 4-terpineol ve bazı düşük değerdeki bileşenler yer almaktadır (Parthasarathy ve ark. 2008). TEO gıda kaynaklı patojenler üzerinde antimikrobiyal (Pesavento ve ark. 2015; Tyagi ve Malik, 2011), antifungal (Velluti ve ark. 2003), bakteri kaynaklı ağız hastalıklarında terapötik (Zainal-Abidin ve ark. 2013), antidiyabetik, antioksidan (Jayaprakasha, ve ark. 2007) ve antitümör (El-Baroty ve ark. 2010) etkilidir. *Ranunculaceae*

familyasından olan çörek otu (*Nigella sativa* L.) tohum yağındaki uçucu yağda (ÇOEO), yüksek oranda oksitlenmiş monoterpenlerden timokinon, monoterpen hidrokarbonlardan p-simen ile karvakrol, t-anetol, 4-terpineol, longifolin, γ-terpinen, α-pinen, β-pinen ile α-thuen yer almaktadır (Benkaci-Ali ve ark.2007; Bulca, 2014). Antikanserojen, antienflamatuar, antidiyabetik, antülser ve antimikrobiyal etkilidir (Ainane ve ark. 2014; Bourgou ve ark. 2012; Lutterodt ve ark. 2010). Araştırmada, Sorbitol+YBPT esaslı filme TEO ile ÇOEO farklı konsantrasyonlarda [%0.5 (v/v); %1 (v/v)] ilave edilerek hazırlanan filmler ile çökelek peyniri kaplanarak raf ömrünün artırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Yumurta beyazı protein tozu (YBPT) ve D-Sorbitol

Kaplama materyalinin hazırlanmasında pastörize Alfamol® marka yumurta beyazı protein tozu (YBPT) (pH 7.00; toplam mikroorganizma <100 cfu/g; koliform <10 cfu/g; *S. aureus* ile Salmonella (-) ve nem oranı % 7.10) Kimbiotek Kimyevi Maddeler San.Tic. A.Ş. (İstanbul-Türkiye), D-sorbitol (S1876) ise Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Uçucu yağlar

Çörek otu (*Nigella sativa* L.) uçucu yağının (ÇOEO) elde edildiği çörek otu Sultanhisar (Aydın-Türkiye), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum* L.) kabuğu uçucu yağının (TEO) elde edildiği tarçın Ödemiş’den (İzmir-Türkiye) temin edilmiştir. Bitki materyalinin miktarına bağlı olarak, ÇOEO ve TEO, 3 saat boyunca hidrodestilasyon yöntemi ile Clevenger tipi cihaz kullanılarak elde edilmiştir (Bounatirou et al. 2007). ÇOEO bileşimi; p-simen %21.63, timokinon %18.52, karvakrol %15.21, timol %6.11, dihidrotimokinon %5.47, 4-terpineol %3.87, β-pinen %2.10, α-pinen %1.25, sabinen %0.73 ve limonen %0.21 TEO bileşimi ise; sinamil aldehid %54.21, eugenol %16.02, sinamil asetat %11.09, α-pinen %4.82, α-kopaen %4.37, α-muuroolen %3.48 ve T-kadinol %1.52 olarak belirlenmiştir. Uçucu yağların aktif bileşenleri Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) firmasından temin edilmiştir. Uçucu yağların aktif maddeleri, Thermon-600T ile donatılmış bir Shimadzu GC-9A Model gaz kromatografisi ile belirlenmiştir.

Uçucu yağların ve uçucu bileşiklerin Gaz Kromatografisi ile analizi.

GC analizleri, Thermon-600 T (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film kalınlığı) ile donatılmış bir Shimadzu GC-9A gaz kromatografisi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı 15-200 ° C’de 15 dakikaya programlanmıştır. Diğer çalışma şartları: taşıyıcı gaz azot 10.0 ml / dakika akış hızında; enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 ° C ve 300 ° C, bölme oranı 1:20; kolon basıncı 56.8 hPa olarak belirlenmiştir (Bagamboula ve ark. 2004).

Çökelek peyniri

Peynir örnekleri inek sütünden üretilmiştir. Süt hacminin ½'si kadar su ilave edildikten sonra, oda sıcaklığında 24-48 saat bekletilen süttten yayıkılarak yağ ayrılmıştır. Geriye kalan kısım 95°C'ye kadar ısıtılarak pıhtılaştırılmış, soğutulmuş (4-6 saat) ve cendere bezinde 2-3 saat süzölmüştür. Süzölen pıhtı üzerine ağırlık uygulanarak (25 kg ağırlık/5 kg pıhtı) bir gece oda sıcaklığında süzmeye devam edilmiştir. Oluşan çökelek peynirinin bileşimi; pH 4.87; kurumadde %37.4; yağ %3.8, titrasyon asitliği (LA%) %0.378 ve protein %23.52 olarak belirlenmiştir. Çökelek peyniri 6 partiye ayrılmıştır. İlk parti, YBPT esaslı filme ÇOEO' nun, ikinci parti, TEO' nun 2 farklı konsantrasyonda ilave edilmesi ile hazırlanan filmler, 3. parti YBPT esaslı film ile kaplanmıştır. 4. Parti ise yapay kontaminasyondan sonra film ile kaplanmamıştır (Kontrol),

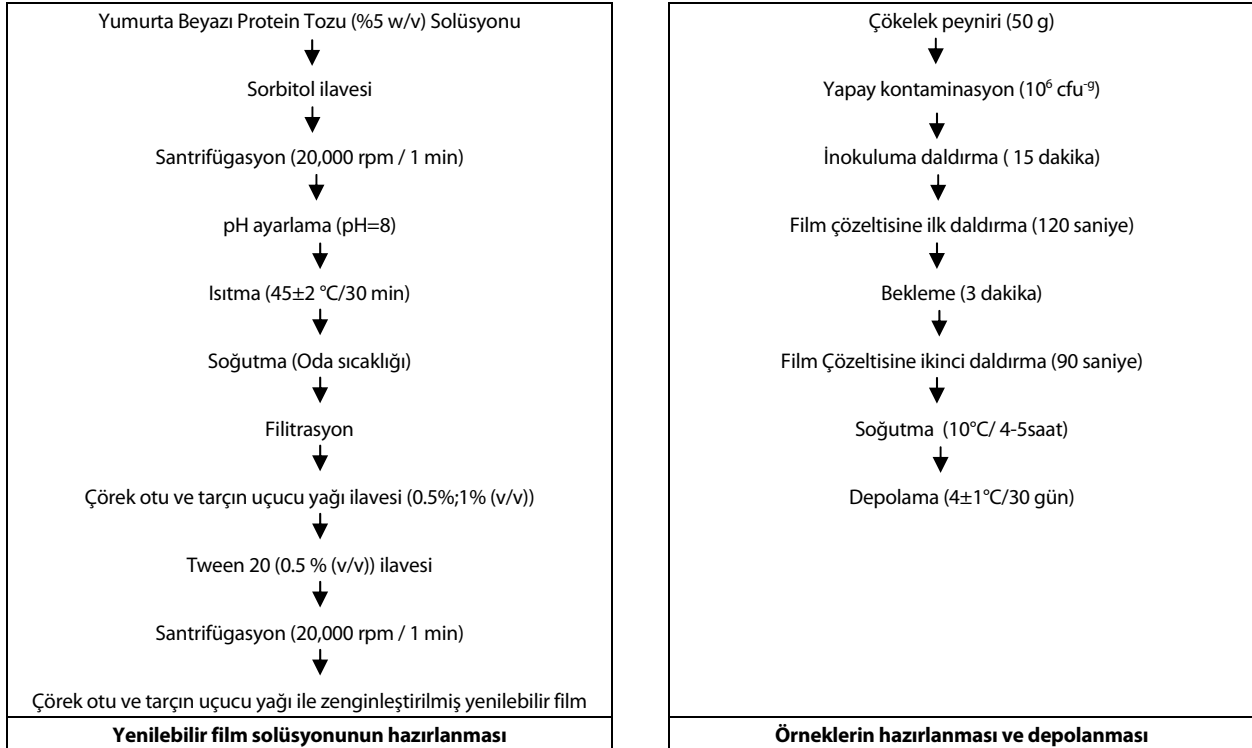
Yenilebilir film solüsyonunun hazırlanması

Yenilebilir film kaplamalar, Pintado ve ark. (2010) ve McHugh ve Krochta (1994)'e göre bazı modifikasyonlarla

hazırlanmıştır. Buna göre %5 w/v' lik YBPT hazırlanmış, içerisinde % 3 w/w sorbitol ilavesinden sonra 20,000 rpm/ 1 dakika (3-16 K Type-Model, Sigma, Germany) homojenize edilmiştir. Karışımın pH' sı 8'e ayarlanmış, mekaniksel özelliği iyileştirmek ve protein denmatürasyonunu engellemek amacı ile su banyosunda 45±2 °C' de 30 dakika bekletilmiştir. Film solüsyonu oda sıcaklığına soğutulmuştur. Soğutulan çözelti filtrelenerek beş eşit parçaya bölünmüştür. İlk iki kısma farklı konsantrasyonlarda [%0.5 (v/v) YBPT_{ÇOEO(0.5)}; %1 (v/v) YBPT_{ÇOEO(1)}] ÇOEO ilave edilmiştir. İkinci 2 kısma ise farklı konsantrasyonlarda [%0.5 (v/v) YBPT_{TEO(0.5)}; %1 (v/v) YBPT_{TEO(1)}], TEO ilave edilmiş, 5. kısım yalnızca YBPT esaslı film olarak kalmıştır. Tüm örnekler yapay kontaminasyon uygulanmıştır. ÇOEO ve TEO ilave edildikten sonra, çözeltide yağın homojen dağılımını sağlamak için Tween 20 (%0.5 (v/v)) ilave edilmiş (Zivanovic ve ark. 2005) ve çözelti 20,000 rpm/1 dakika boyunca bir daha santrifüjlenmiştir (Torlak ve Nizamoğlu, 2011). (Çizelge 1).

Çizelge 1. Yenilebilir film solüsyonu ile örneklerin hazırlanması ve saklanması

Table 1. Preparation of edible films solution and preparation and storage of samples



Örneklerin hazırlanması ve depolanması

Peynir örneklerinin yapay kontaminasyonu için kullanılan *E. coli* O157: H7 (ATCC 43895) ve *L. monocytogenes* (ATCC 19118) suşları, Hemakim Corporation'dan (Türkiye) elde edilmiştir. Maya-küf

sayımı peynir üretiminden hemen sonra gerçekleştirilmiştir. Yapay kontaminasyon için *E. coli* O157:H7 ile *L. monocytogenes*, 10⁷ cfu⁻⁹ (7 Log cfu⁻⁹) düzeyinde kullanılmış ve peynir örnekleri 50 g parçalara bölünerek *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*

inokulasyonlarına ayrı ayrı batırılmıştır. Peynir örnekleri bakteri bulaşması için 15 dakika boyunca patojen bakteri gelişiminin olduğu sıvı besi yerinde bekletilmiştir. Patojen bakteriler ile bulaşmış peynir örnekleri, farklı konsantrasyonlarda ÇOEO ve TEO içeren film solüsyonlarına daldırılarak film ile kaplanmıştır. Buna göre, peynir örnekleri ilk olarak 120 saniye boyunca film solüsyonlarına daldırılıp çıkartılmış, 3 dakika beklenmiş ve tekrar film solüsyonunda 90 saniye tutulup çıkarılmıştır. Daldırma işleminden sonra, YBPT, YBPT_{ÇOEO} ve YBPT_{TEO} esaslı filmler ile kaplanan peynir örnekleri 10°C'de 4-5 saat kurumaya bırakılmıştır. Film ile kaplanmayan kontrol örnekleri yapay kontaminasyondan sonra 4 ± 1 ° C'de saklanmıştır. Örnekler 4 ± 1 ° C'de 30 gün süreyle depolanmış ve *E. coli* O157: H7, *L. monocytogenes* ile maya-küf sayıları, 1., 7., 15. ve 30. günlerde Log₁₀ cfu⁹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 1).

Fiziksel - kimyasal analizler

Çökelek peyniri örneklerinin depolama sürecinde % ağırlık kayıpları gravimetrik olarak belirlenmiştir. pH değerleri SS-3 Zeromatic pH metre (Beckman Instruments Inc., California, USA) marka pH metre ile, asitlik değeri (°SH), yağ oranı (%) AOAC, 2000' e göre yapılmıştır. İç/dış sertlik 3 ± 1 °C'de penetrometre (CT3 4500 Made in USA Textur analyser Brookfield) ile belirlenmiştir (Alagöz, 1992). Film kalınlıkları 0.001 hassasiyette mikrometre (Digimatic Micrometer/ Japonya) ile ölçülmüştür. Filmlerin su buharı geçirgenlikleri ASTM E96-80 (1983) yöntemi kullanılarak 25°C de gravimetrik olarak tespit edilmiş Ağırlık-zaman doğrularının eğimleri bulunup aşağıdaki formülde yerine konularak filmlerin su buharı geçirgenliği (SBG) hesaplanmıştır.

$$\text{Eğim (C)} = \frac{\text{SBG} \times \text{A} \times \Delta p}{x} \quad \text{SBG} = C \frac{x}{\text{A} \times \Delta p}$$

A: Yüzey alanı (m²)

SBG: su buharı geçirgenliği (g mm m⁻² h⁻¹ kPa⁻¹)

Δp: Gazların kısmi basınç farkı (kPa)

x: film kalınlığı (mm)

Mikrobiyolojik analizler

E. coli O157: H7, 35-37 ° C'de 24-48 saat boyunca seçici olarak modifiye edilmiş EC Broth'ta zenginleştirilmiştir. *E. coli* O157:H7'in sayımında Cefixime-Tellurite Supplement içeren Sorbitol MacConkey Agar kullanılmış ve 24-48 saat boyunca 35-37 ° C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, sorbitol negatif koloniler sayılmıştır. *L. monocytogenes*, 30 ° C'de 24 saat süreyle Listeria selective Enrichment Broth'ta zenginleştirilmiştir. *L. monocytogenes*' in sayımı için Palcam Listeria Selective Agar (Baz) inoküle edilmiş ve 37 ° C'de 48 saat inkübe edilmiştir (Food ve Drug Administration, 2001). Maya ve küf sayımı için maya-ekstre-glikoz kloramfenikol agar (YGC) (Merck 1.16000) kullanılmış ve 25 ° C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (IDF Standard, 1990).

İstatistiksel değerlendirme

Araştırmada beş farklı peynir örneği üç paralel ve iki tekerrürlü olarak incelenmiştir. Bu amaçla SPSS version 15 istatistik analiz paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi (ANOVA) sonucunda önemli çıkan veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre p<0.05 düzeyinde test edilmiştir

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Araştırmada TEO ilavesi ile elde edilen film kalınlıkları, ÇOEO ilavesine göre her iki konsantrasyon düzeyinde daha yüksek belirlenmiştir. (Çizelge 2). Uçucu yağ konsantrasyonu artışı/çeşidi ile film kalınlığı artışı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur (p<0.05). Araştırma sonuçları literatürler ile uyumlu bulunmuştur (Taqi ve ark. 2011). Araştırmada farklı konsantrasyonlarda TEO ve ÇOEO ilavesi ile elde edilen film ile kaplı örneklerin su buharı geçirgenlikleri, YBPT esaslı filme göre daha düşük tespit edilmiştir. TEO ilaveli film ile kaplı örneklerin su buharı geçirgenlikleri, ÇOEO ilaveli örneklerden daha düşük bulunmuştur. Uçucu yağ konsantrasyonu artışı/çeşidi ile su buharı geçirgenliğinin azalışı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur (p<0.05). Bu sonuçlar, YBPT' ye farklı bitkisel bileşenlerin ilavesi ile gıdaların muhafazasında kullanılabileceğini bildiren çalışmalar (Sothornvit, 2005) ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 2. YBPT, YBPT_{TEO(0.5)}}, YBPT_{TEO(1)}}, YBPT_{ÇOEO(0.5)}} ile YBPT_{ÇOEO(1)}} esaslı filmlerin kalınlıkları ve su buharı geçirgenlikleri (n=3).

Table 2. Film thicknesses and water vapor permeability of YBPT, YBPT_{TEO(0.5)}}, YBPT_{TEO(1)}}, YBPT_{ÇOEO(0.5)}} and YBPT_{ÇOEO(1)}} based films (n=3).

Örnek	Kalınlık /mm ±6	Su buharı geçirgenliği (g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹)
YBPT	0.166 ±0.001	6.87 g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹
YBPT _{TEO(0.5)}}	0.171 ±0.005	6.83 g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹
YBPT _{TEO(1)}}	0.173 ±0.006	6.81 g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹
YBPT _{ÇOEO(0.5)}}	0.170 ±0.008	6.85 g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹
YBPT _{ÇOEO(1)}}	0.169 ±0.002	6.84 g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹

Uçucu yağ ilavesi ile hazırlanan film ile kaplı örneklerde iç/dış sertlik ve ağırlık kaybı, YBPT ile kaplı örneklerden daha düşük belirlenmiştir ($p<0.05$). Sertlik depolama boyunca en yüksek kontrol (K) grubunda belirlenmiştir. Bu farklılık, film ile kaplanmış ve kaplanmamış (K) peynirler arasındaki iç/dış sertlik ve ağırlık kaybı değerleri açısından önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Uçucu yağ konsantrasyonu/çeşidi ile, iç/dış sertlik ve ağırlık kaybı değerleri arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ($p<0.05$). İç/dış sertlik, TEO ve ÇOEO filmlerde en düşük %1 (v/v)' de tespit edilmiş, tüm konsantrasyonlarda TEO filmlerine ait iç/dış sertlik değerleri, ÇOEO 'ya göre daha düşük saptanmıştır. Artan konsantrasyonlarda uçucu yağ ilavesi ile, YBPT esaslı filmin su bariyer özelliğinin artışı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Literatürlerde protein bazlı filmler düşük su bariyer özellikleri ile karakterize edilmesine karşın (Brody, 2005; Hanani ve ark. 2013), araştırmada uçucu yağ konsantrasyonu artışı ile su bariyer özelliğinin iyileştiği belirlenmiştir. Çalışmalarda, film ile kaplamanın su buharı geçişini engelleyerek ağırlık kayıplarını azalttığı bildirilmektedir (Krochta ve De Mulder-Johnson, 1997; Sarioglu ve Oner, 2006). Ayrıca yenilebilir filmlerde gaz geçişi, filmin bütünlüğüne, krital ve amorf zonlar arasındaki orana, polimer zincirinin hareketliliğine ve hidrofilik-hidrofobik kısımların oranı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Garcia ve ark. 2000). Bu nedenle araştırma sonuçlarının, YBPT' na farklı bitkisel bileşenlerin ilavesi ile gıdaların muhafazasında kullanılabileceğini bildiren çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür (Sothornvit, 2005).

Depolama süresince tüm örneklerde titrasyon asitliğinde ($^{\circ}\text{SH}$) artış (pH değerinde azalma) tespit edilmiştir. Uçucu yağ ilavesi ile hazırlanmış film ile kaplı örneklerde asitlik artışı, YBPT ile kaplı örneklerden daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama boyunca TEO kaplı örneklerdeki asitlik artışı, ÇOEO kaplı örneklerde göre tüm konsantrasyonlarda daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). YBPT ile kaplanmış örneklerde asitlik artışı depolama boyunca düşük kalmıştır. Bu sonuç, YBPT esaslı film ile çökelek peynirlerinin kaplanması ve asitlik artışı arasındaki önemli ilişkiyi ortaya koymuştur ($p<0.05$). Asitlik artışı patojen mikroorganizma gelişimine paralel olarak en yüksek K örneğinde belirlenmiştir. Asitlik artışı ile uçucu yağ konsantrasyonu/çeşidi arasında önemli bir ilişki tespit edilmiştir ($p<0.05$).

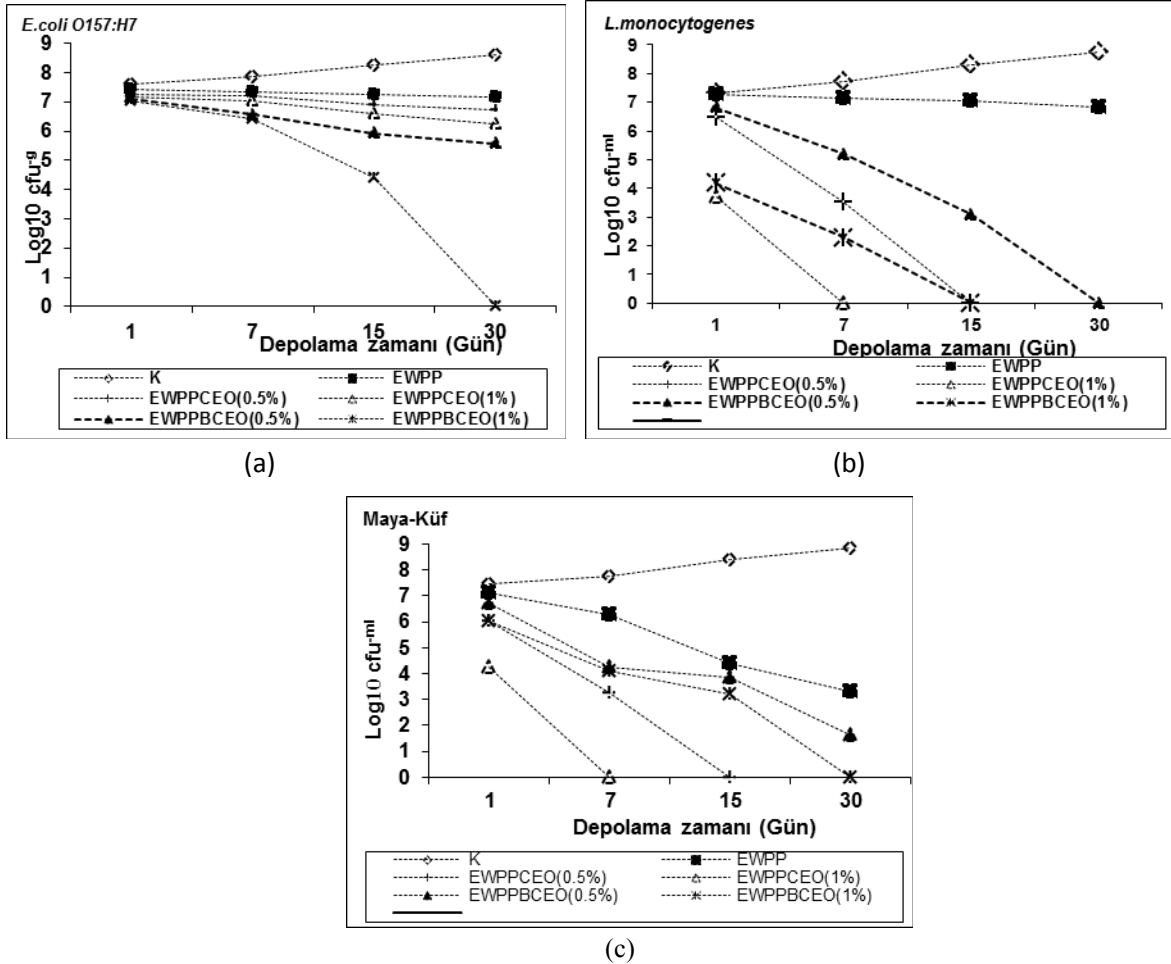
YBPT esaslı filme farklı düzeyde uçucu yağ ilavesi ile, peynir örneklerinde depolama boyunca yağda bir artış belirlenmiştir. Tüm konsantrasyonlarda TEO ile kaplı örneklerdeki yağ değeri ortalamaları, ÇOEO kaplı

ve diğer örneklerde göre daha yüksek belirlenmiştir. TEO ve ÇOEO ilavesi ile, yağ düzeyi artışı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, üründeki asitlik artışına bağlı olarak uçucu yağın hidrofobitesinin, dolayısıyla peynirin lipid fazında çözünme eğiliminin artışı (Holley ve Patel, 2005) ile ilişkilendirilmiştir.

Peynir örnekleri patojen mikroorganizmalar ile 10^7 cfu⁻⁹ düzeyinde yapay kontamine edilmiş, maya-küf sayısı üretimden hemen sonra 10^7 cfu⁻⁹ olarak belirlenmiştir YBPT esaslı film ve bu filme farklı konsantrasyonlarda TEO ve ÇOEO ilavesi ile hazırlanan film ile kaplanmış peynirlerde, 1. günden itibaren bakteriyostatik, ilerleyen günlerde ise bakterisid etki tespit edilmiştir. Bu etki her iki uçucu yağın artan konsantrasyonlarında belirgin hale gelmiştir. Ayrıca depolama boyunca TEO ve ÇOEO' nin tüm konsantrasyonlardaki antimikrobiyal etkisi, YBPT esaslı filme göre daha yüksek saptanmıştır. Depolama boyunca TEO' nin antifungal etkisi, ÇOEO' dan tüm düzeylerde daha yüksek saptanmıştır. TEO' nin tüm konsantrasyonlarındaki antifungal etkisi, 1. günden itibaren bakteriyostatik olmuş, %0.5(v/v)' de bakterisid etki 15. günde, %1(v/v)' de 7. günde tespit edilmiştir. ÇOEO' nun %0.5 (v/v) 'de antifungal etkisi depolama sonuna kadar bakteriyostatik olarak devam etmiş, bakterisid etki %1 (v/v)' de 30. günde belirlenmiştir. Araştırmada TEO' nun bu etkisi bileşiminde yüksek düzeyde bulunan sinamil aldehid (%54.21) ve eugenol (%16.02) düzeyi ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar, TEO'nun antifungal etkinliğinin belirlendiği diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (El-Baroty ve ark. 2010; Youssef ve ark. 2016). TEO'nun antimikrobiyal etkisi *L.monocytogenes* üzerinde, *E.coli* O157:H7'e göre daha yüksek olmuştur. TEO ve ÇOEO' nun % 0.5 (v/v)' de *L.monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal etkileri birbirinden farklı belirlenmiştir. % 0.5 (v/v)' de her iki uçucu yağda ait bakteriyostatik etki 1. günde başlamış, bakterisid etki TEO için 15., ÇOEO için de 30. günde tespit edilmiştir. TEO %1 (v/v) 'de *L.monocytogenes* üzerindeki bakterisid etkiyi 7. günde gösterirken, bu etki ÇOEO için 15. günde saptanmıştır. K örneğinde *L.monocytogenes* düzeyi depolama boyunca artmış, 15. ve 30. günlerinde $8 \log_{10}$ cfu⁻⁹ düzeyine ulaşmıştır. YBPT ile kaplı örneklerde ise *L.monocytogenes* düzeyi depolama sonuna kadar azalmış ve 30. günde $6.84 \log_{10}$ cfu⁻⁹ düzeyinde tespit edilmiştir. ÇOEO' nun, *E.coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal etkisi, TEO'ya göre daha yüksek belirlenmiştir. %0.5 (v/v) düzeyinde ilave edilen ÇOEO, depolama sonuna kadar bakteriyostatik etki göstermiş, bakterisid etki %1 (v/v)' de 30. günde belirlenmiştir. YBPT ve TEO' nun her iki konsantrasyonda *E.coli* O157:H7 üzerindeki etkisi

bakteriyostatik olmuştur. Bununla birlikte TEO ilaveli örneklerde, her iki konsantrasyonda *E.coli* O157:H7 sayısı, 15. günde $6 \log_{10} \text{cfu}^{-9}$ düzeyine azalmış, ÇOEO ilaveli örneklerde bu düzeye 7. günde ulaşılmıştır. *E.coli* O157:H7 düzeyi ÇOEO' nun %0.5 (v/v)' de 15. günde $5 \log_{10} \text{cfu}^{-9}$ düzeyine, %1 (v/v)' de ise 15. günde $4 \log_{10} \text{cfu}^{-9}$ seviyesine azalmıştır. K örneğinde ise *E.coli* O157:H7 depolama boyunca artış göstermiştir. K örneğinde 30. günde tespit edilen *E.coli* O157:H7 düzeyi $8,63 \log_{10} \text{cfu}^{-9}$ olarak belirlenmiştir. YBPT ile

kaplanmış peynirlerde gözlenen bakteriyostatik etki en yüksek sırasıyla, maya-küf, *L.monocytogenes* ve daha düşük *E.coli* O157:H7 üzerinde saptanmıştır. K örneğinde mikroorganizma düzeyleri artmış ve en yüksek artış maya-küf düzeyinde elde edilmiştir (Şekil 1). Farklı araştırmalarda sinamil aldehid ve eugenol bakımından zengin (Senhaji ve ark. 2007) ÇOEO' nun geniş bir yelpazede antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Ainane ve ark. 2004; Kazemi, 2014; Ultee ve ark. 2000).



Şekil 1. Depolama boyunca EWPP_{TEO}, EGPP_{ÇOEO}, EWPP ve Kontrol örneğinde *E.coli*O157:H7 (a), *L.monocytogenes* (b) ile maya-küf (c) düzeyleri.
Figure 1. *E.coli* O157:H7 (a), *L.monocytogenes* (b) and yeast-mold (c) levels determined in EWPP_{CEO}, EGPP_{BCEO}, EWPP and Control samples during storage.

Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğinde, hidrofobisite, uçucu yağın kimyasal yapısı, fonksiyonel polar grupların mevcudiyeti ve uçucu yağın aromatik karakteri önemlidir (El-Baroty ve ark. 2010). Araştırmada TEO' nun *E.coli* O157:H7 üzerindeki zayıf antimikrobiyal etkisi, *E.coli*O157:H7' nin düşük pH' da ($\text{pH}<3.6$) gelişim gösterebilmesi ve aside dayanıklı oluşu ile ilişkilendirilmiştir (Lake ve ark. 2002). Ceylan

ve ark. (2004) tarafından, TEO' nun antimikrobiyal etkisinin asidik koşullarda daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Araştırmada TEO' nun bakteriyostatik etkisinin asitlik artışına paralel olarak arttığı, ancak bu etkinin seçilen mikroorganizma türüne ve uçucu yağ konsantrasyonuna göre değişebileceği sonucuna varılmıştır. Araştırmada yenilebilir film kaplamalarda TEO düzeyinin yeterli olduğuna, ancak daha etkin bir

antimikrobiyal aktivite için 1% (v/v)' den daha yüksek bir konsantrasyonun uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, Smith-Palmer ve ark. (1998)'ün bildirdiği TEO konsantrasyonu (%0.5 ile %1 arasında) ile ilgili tespitten daha yüksek bulunmuş, ayrıca bu bu sonucun ÇOEO için de geçerli olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, uçucu yağların bakterisid etki süresinin uzaması, ÇOEO'da belirlenen antifungal etkinin zayıflığı, çökelek peynirinde yüksek düzeyde yer alan protein oranı (%23.52) ilişkilendirilmiştir. Burt (2004) tarafından, yüksek protein içeriğinin uçucu yağın etkinliğini azalttığı bildirilmiştir. Antimikrobiyal etki ile depolama süresinin uzaması ve uçucu yağ konsantrasyonu/çeşidi arasındaki ilişki önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu sonuç, antimikrobiyal maddenin yavaş bir şekilde film tabakasından gıdaya geçmesi, gıda yüzeyinde yüksek derişimde antimikrobiyal maddenin kalarak mikroorganizmalara karşı daha uzun süre etki göstermesi (Coma ve ark. 2002) ve pH azalışına bağlı olarak, uçucu yağın

hidrofob özelliğinin artması ile ilişkilendirilmiştir (Holley ve Patel, 2005).

SONUÇ

TEO'nun *L.monocytogenes* ve maya-küf, ÇOEO' nın da *E.coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal etkisi daha yüksek bulunmuştur. Genel olarak TEO ve ÇOEO'na en dirençli mikroorganizma *E.coli* O157:H7 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, *E.coli* O157:H7' nin bir bariyer görevi gören ve zarrın lipofilik bileşenlere geçirimsiz hale getiren bir dış fosfolipid zar içermesi (Marongiu ve ark. 2007) ve bunun uçucu yağlara karşı bakteriyi koruduğu ile ilişkilendirilmiştir (Nikaido, 2003). Ancak araştırmada her iki uçucu yağın seçilen mikroorganizmalar üzerinde depolamanın farklı zaman aralıklarında bakteriyostatik/bakterisidal etkili olduğu da tespit edilmiştir. Ayrıca, YBPT esaslı filmlerin özellikle farklı uçucu yağ ilavesi ile yenilebilir film sistemlerinde gıdaların muhafazasında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aloğlu, H.S., I. Turhan ve Z. Öner, 2012. Mıncı (Mıncı) Peynirinin Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gıda*, 37 (6): 349-354.
- Ainane, T., Z. Askaoui, M. Elkouali, M. Talbi, S. Lahsani, I. Warad and T. Ben Hadda, 2014. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Nigella sativa* seeds from Beni Mellal (Morocco): What is the most important part, Essential Oil or the rest of seeds?. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (6): 2017-2020.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists International, Association of Official Analytical Chemists (publisher), Washington, DC 20044, USA, 1018p.
- ASTM, 1983. "Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, Standard E96-80", Annual Book of American Standard Testing Methods, Philadelphia, PA., 761-770.
- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cimene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21: 33-42.
- Banwart, G.J. 1983. "Basic Food Microbiology". AVI Pub Comp., Inc. Westport, Connecticut.
- Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No:3255
- Benkaci-Ali, F., A. Baaliouamer, B.Y. Meklati and F. Chemat. 2007. Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigella sativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 148-153.
- Bounatirou, S., S. Smiti, M.G. Miguel, L. Faleiro, M.N.Rejeb, M. Neffati, M.M. Costa, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso and L.G. Pedro, L.G. 2007. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, 105: 146-15.
- Bourgou, S., A. Pichette, B. Marzouk and J. Legault. 2012. Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anticancer and Antibacterial, activities of extracts from *Nigella sativa* (black cumin) plant parts. *Journal of Food Biochemistry* 36: 539-546.
- Brody, A.L. 2005. Edible packaging. *Food Technology*, 59: 65-66.
- Bosnić, T., D. Softić and J. Grujić-Vasić. 2006. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils and Major Constituents of Essential Oils. *Acta Medica Academica*, 35:19-22.
- Bulca, S. 2014. Çörek Otu'nun Bileşenleri Ve Bu Yağın Ve Diğer Bazı Uçucu Yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(2) : 29 – 36.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223- 253.
- Ceylan, E., D.Y.C. Fung and Sabah, J.R., 2004. Antimicrobial Activity and Synergistic Effect of Cinnamon with Sodium Benzoate or Potassium Sorbate in Controlling *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice. *FMS102, Journal of Food Science*. 69(4).
- Coma, V., A. Martial-Gros, S. Garreau, A. Copinet, F. Salin and A. Deschamps. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67: 1162-1169
- Dervisoglu, M., Z. Tarakci, O. Aydemir, H. Temiz ve F. Yazici. 2009. A survey on selected chemical, biochemical and sensory properties of Kes cheese, a traditional Turkish cheese. *International Journal of Food Properties*, 12: 358-367
- Dutta, PK, S. Tripathi and G.K. Mehrotra. 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4): 1173-1182.
- El-Baroty, G.S., H.H. Abd El-Baky, R.S. Farag and M.A. Saleh. 2010. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African Journal of Biochemistry Research*, 4(6): 167-174.
- Fei L, Y.X. Ding and Y. Ye Ding. 2011. Antibacterial effect of cinnamon oil combined with thyme or clove oil. *Agricultural Sciences in China*, 10(9): 1482-1487.
- Food And Drug Administration, 2001. In: "Bacteriological Analytical Manual Online", .www.fda.gov.
- García, M.A., Martino, M.N., Zaritzky, N.Z., 2000. Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *Starch*, 52: 118- 124

- Hanani, Z.A.N., E. Beatty, Y.H. Roos, M.A. Morris and J.P. Kerry. 2013. Development and Characterization of Biodegradable Composite Films Based on Gelatin Derived from Beef, Pork and Fish Sources. *Foods*, 2: 1-17.
- Holley, R.A. and D. Patel. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22: 273- 292.
- IDF Standard 94 B., 1990. Milk and milk products - enumeration of yeast and moulds — colony count technique at 258C, Brussels, Belgium.
- Jayaprakash, G.K., P.S. Negi, B.S. Jena and L.J.M. Rao. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of Cinnamomum zeylanicum fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3): 330-6.
- Kavaz, A., A. Arslaner ve D. Bakirci. 2012. Comparison of quality characteristics of Çökelek and Lor cheeses. *African Journal of Biotechnology*, 11(26): 6871-6877.
- Kazemi, M. 2014. Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of Nigella sativa L. Essential Oil. *TEOP* 17 (5): 1002 – 1011.
- Krochta J.M. and De Mulder-Johnston, C., 1997. Edible protein films and coatings. In: *Food Proteins and Their Applications* (S.Damodaran and A.Paraf, eds), 529-549. Marcel Dekker, New York, NY.
- Kütükcöner E. ve Tarakcı Z. 1998. Van ve Yöresinde Üretilen Cacığın (Otlı Çökelek) Bazı Özelliklerinin Araştırılması. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ, Türkiye, 175-185.
- Lake, R., Hudson, A., Cressey, P., 2002. Risk Profile: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in red meat and meat products, Institute of Environmental Science & Research Limited Christchurch Science Centre, New Zealand.
- Lee, K.T. 2010. Quality and safety aspects of meat products as affected by various physical manipulations of packaging materials. *Meat Science*, 86: 138-150
- Lutterodt, H., M. Luther, M. Slavin, J.J. Yin, J. Parry, J.M.Gao and L.L.Yu. 2010. Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of coldpressed black cumin seed oils. *LWT-Food Science Technology*, 43: 1409-1413.
- Marongiu, B., A. Piras, S. Porcedda, E. Tuveri, E. Sanjust, M. Meli, F. Sollai, P. Zucca and A. Rescigno. 2007. Supercritical CO₂ extract of Cinnamomum zeylanicum: chemical characterization and antityrosinase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24): 100-122.
- Matsushima, K., 1958. An undescribed trypsin inhibitor in egg white. *Science*, 127 (3307): 1178-1179
- McHugh, T.H. and J.M. Krochta. 1994. Milk protein based edible films and coatings. *Food Technologie*, 48(1): 97-103.
- Nikaido, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 593-656.
- Oliveira, F. C., J.S.R. Coimbra, L.H.M. Silva, E.E.G. Rojas and M.C.H.Silva, 2009. Ovomucoid partitioning in aqueous two-phase system., *Biochemical Engineering Journal*, 47: 55-60.
- Ozkaya, F.D. and Gun, I. 2014. Aroma Compounds of Some Traditional Turkish Cheeses and Their Importance for Turkish Cuisine. *Food and Nutrition Sciences*. 5: 425-434
- Parthasarathy, N., M.A. Selwyn and M. Udayakumar. 2008. Tropical dry evergreen forests of peninsular India: Ecology and conservation significance. *Tropical Conservation Science*, 1(2): 89-110.
- Pesavento, G., C. Calonico, A.R. Bilia, M. Barnabei, F. Calesini, R. Addona and A.L. Nostro. 2015. Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes in beef meatballs. *Food Controlo*, 54: 188-199.
- Pintado Cristina, M.B.S., A.S.S. Ferreira Maria and I. Sousa. 2010. Control of pathogenic and spoilage microorganisms from cheese surface by whey protein films containing malic acid, nisin and natamycin. *Food Controlo*, 21(3): 240-246.
- Popović, S., D. Pericin, Z. Vastag, V. Lazić and Lj. Popović. 2012. Pumpkin oil cake protein isolate films as potential gas barrier coating. *Journal of Food Engineering*, 110 (3): 374-379
- Radziejewska, R. C., G. Leśniewski and I. Kijowski. 2008. Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58: 5-10.
- Sarıoğlu T., Oner Z., 2006. Usage possibilities of an edible film for coating of kashar cheese and its effects on cheese quality. *Food Journal*, 31(1), 3-10.
- Senhaji, O., M. Faïd and K. Ichraq. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by essential oil from Cinnamomum zeylanicum. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 11(2): 234-236.
- Smith-Palmer, A., J. Stewart and L. Fyfe. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26 (2): 118-122.
- Sothornvit, R. 2005. Edible Film Formation And Properties From Different Protein Sources and Orange Coating Application. *Acta Hort.* (ISHS) 682: 1731-1738.
- Taqi, A., K.A. Aksar, K. Nagy, L. Mutihac and I. Stamatin. 2011. Effect of different concentrations of olive oil and oleic acid on the mechanical properties of albumen (egg white) edible films. *African Journal of Biotechnology*, 10(60): 12963-12972.
- Tyagi, A. K. And A. Malik. 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126: 228-235.
- Ultee, A., R.A. Slump, G. Steging and E.J. Smid., 2000. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*. 63: 620-624.
- Velluti, A., V. Sanchis, A.J. Ramos, J. Egido and S. Mariñ. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth rate and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *International Journal of Food Microbiology*, 89: 145-154.
- Youssef, M.M., Q. Pham, P.N. Achar and M.Y. Sreenivasa. 2016. Antifungal activity of essential oils on *Aspergillus parasiticus* isolated from peanuts. *Journal Of Plant Protection Research*, 56 (2): 13-142.
- Yuno-Ohta, N., H. Toryu, T. Higasa, H. Maeda, M. Okada and H. Ohta. 1996. Gelation properties of ovalbumin as affected by fatty acid salts. *Journal of Food Science*, 61: 906-910.
- Zainal-Abidin, Z., S. Mohd-Said, F. Adibah Abdul Majid, M. W. Aida Wan Mustapha and I. Jantan. 2013. Anti-Bacterial Activity of Cinnamon Oil on Oral Pathogens. *The Open Conference Proceedings Journal*, 4, (Suppl-2, M4) 12-16
- Zhang, T., J. Zheng, H. Ye, Y. Yu, P. Zhao and J. Liu. 2011. Purification technology and antimicrobial activity analysis of antimicrobial peptides from ovalbumin. *Chemical Research in Chinese Universities*, 27: 361-365.
- Zivanovic, Z., S. Chi and A.F. Draughon. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, 70 (1): 45-51.